

IRENEUSZ PIOTR GRUDZIŃSKI

WPŁYW AZOTANÓW I AZOTYNÓW NA JELITO CIENKIE

EFFECT OF NITRATES AND NITRITES OF SMALL INTESTINE

Zakład Badania Żywności i Fizjologii Żywienia
 Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii
 01-163 Warszawa, ul. Kozielska 4
 Kierownik: prof. dr hab. n. przyr. A. Szymański

Omówiono efekty toksycznego oddziaływania azotanów i azotynów na funkcje absorpcyjne oraz wydzielnicze błony śluzowej jelita cienkiego. Przedyskutowano wpływ azotanów i azotynów na procesy dojrzewania i różnicowania komórek krypt jelitowej. Oceniono wybrane kierunki odpowiedzi immunologicznej jelita cienkiego w następstwie zatrucia azotanami oraz azotynami.

Przewód pokarmowy jest naturalną drogą penetracji nieorganicznych azotanów oraz azotynów do organizmu człowieka oraz zwierząt [8, 20]. Większość wyników badań nad transportem błonowym azotanów oraz azotynów jest zgodna w ocenie pokazując na szybkie wchłanianie tych związków w odcinku żołądkowo-jelitowym przewodu pokarmowego [4, 10, 36]. Badania dotychczasowe wskazują na wykorzystanie przez azotany oraz azotyny tych samych systemów transportu charakterystycznego dla jonów jodkowych, chlorkowych, nadchloranowych czy tiocyjanianowych [3, 35]. Potwierdzono również, że w oparciu o jonowe mechanizmy transportu, aniony azotanowe oraz azotynowe mogą być wchłaniane w żołądku, jelicie, tarczycy oraz gruczołach ślinowych [23, 41, 42]. Po wchłonięciu do krwi cała pula azotanów oraz azotynów dostaje się do wątroby, gdzie jest utleniania (azotyn) do azotanów i w tej postaci wydalana jest z organizmu [44]. Należy podkreślić, że w przypadku infekcji bakteryjnej pęcherza moczowego azotany oraz azotyny są wydalane z moczem w postaci azotynów [32, 34]. Jest to jedyny przypadek, kiedy jon azotynowy może być wydzielany z organizmu [31]. Wyniki badań dowodzą, że azotany oraz azotyny wchłonięte do organizmu ssaków mogą również recykulować w następstwie pasażu z krwi do gruczołów ślinowych [21, 22, 38]. Ze śliną związki te ponownie przedostają się do odcinka żołądkowo-jelitowego w przewodzie pokarmowym, gdzie następuje ich ponowne wchłanianie. Liczne badania zawartości azotanów oraz azotynów w płynach ustrojowych wskazują na znaczące poziomy tych związków w ślinie ludzi, u których jednocześnie stwierdzono wysokie poziomy nitrozoproliny w moczu [22, 29]. W ten sposób azotyny obok związków N-nitrozowych zostały sklasyfikowane jako czynniki zwiększające ryzyko raka żołądka oraz jelita grubego u ludzi [2, 27]. Badania ostatnich lat wskazały na możliwość wydzielania azotanów oraz azotynów do światła jelita cienkiego [37]. Droga ta będąca przeciwną drodze wchłaniania azotanów w przewodzie pokarmowym okazuje się być

dotychczasowym czynnikiem zwiększającym ryzyko kontaktu tych związków z błoną śluzową przewodu pokarmowego [37].

Mechanizmy oddziaływania azotanów na funkcje trawienne, wydzielnicze oraz absorpcyjne błony śluzowej jelita cienkiego są przedmiotem intensywnych badań [9, 20]. Ponieważ azotany oraz azotyny mogą podlegać wieloetapowej redukcji w przewodzie pokarmowym, należy liczyć się, że w następstwie azotanowych czy azotynowych zatrueń istnieje potencjalna możliwość oddziaływania hydroksylaminy oraz jonów amoniowych na śluzówkę jelitową [28]. Należy również nadmienić, że tworzenie związków N-nitrozowych w kwaśnym środowisku żołądka może być przyczyną dodatkowych zaburzeń w przewodzie pokarmowym [26]. Problem ten jest szczególnie istotny ze względu na możliwość oddziaływania nitrozoamin z kwasami nukleinowymi [30]. Główne kierunki toksycznego oddziaływania azotanów oraz azotynów na jelito cienkie zostały częściowo scharakteryzowane w ostatnich latach [9]. Jednym z nich jest naruszenie struktury fizykochemicznej błony śluzowej prowadzące do destabilizacji błon plazmatycznych enterocytów. Konsekwencją takiego oddziaływania jest zaburzenie procesów transportu w śluzówce jelitowej [10]. Stan taki został zidentyfikowany zarówno w ostrych jak i subchronicznych zatruciach azotanem potasowym oraz azotynem sodowym, a który w rezultacie prowadził do zaburzeń testowego cukru D(+)-ksylozy [10, 11].

Badania nad oddziaływaniem azotanu potasowego oraz azotynu sodowego na funkcje transportowe przewodu pokarmowego pokazały na możliwość inhibicji kompleksu ATP-azy Na/K zlokalizowanej w rąbku szczoteczkowym [10]. Użycie inhibitorów metabolicznych takich jak ouabaina czy azydek sodowy pokazało na potencjalny kierunek inhibicji ATP-azy Na/K oraz fosfatazy alkalicznej (AB) w rąbku szczoteczkowym błony śluzowej jelita cienkiego szczurów zatrutowanych azotanem potasowym oraz azotynem sodowym [10]. Należy podkreślić, że podobny inhibitorowy efekt azotanów oraz azotynów zanotowano dla transportu błonowego jonów chlorkowych [43, 44]. Dotychczasowe wyniki badań na szczurach z deficytem witaminy A wskazywały na nieprawidłowe przestrzenne umocowanie ATP-azy Na/K w błonie śluzowej jelita cienkiego [24]. A zatem wydaje się, że poazotynowy deficyt witamin A w organizmie może być jednym z czynników rzutujących na procesy aktywnego transportu jelitowego. Co więcej, możliwość reakcji azotanów oraz azotynów z grupami aminowymi białek oraz lipoprotein rąbka szczoteczkowego błony śluzowej sugeruje, że naruszenie fizycznej struktury rąbka szczoteczkowego będzie rzutowało na aktywność zlokalizowanych tam układów enzymatycznych [10]. Badania ostatnich lat wskazały na pośredni jak i bezpośredni mechanizm oddziaływania azotanów oraz azotynów w przewodzie pokarmowym co mogło prowadzić do zaburzeń funkcji trawiennej jelita cienkiego [34]. Azotyn sodowy oraz azotan potasowy powodowały obniżenie aktywności fosfatazy alkalicznej (AP) zlokalizowanej w błonie śluzowej jelita cienkiego szczurów [11].

Biorąc pod uwagę, że AP bierze udział w stabilizacji oraz regulowaniu wymiarów przestrzennych błon plazmatycznych wydaje się możliwym, że tą drogą azotany oraz azotyny mogą zaburzać funkcje błonowe w jelicie cienkim. Potwierdzają to badania nad perfuzją jelita cienkiego roztworami azotynu sodowego [9]. Badania te pokazały na możliwość azotynowej inhibicji poboru tlenu przez izolowaną śluzówkę jelita cienkiego co było związane z oddziaływaniem azotynu na funkcje energetyczne układu mitochondrialnego erytrocytów jelitowych [9]. Badania z użyciem azydku sodowego

będącego inhibitorem oksydazy cytochromowej C potwierdziły taki kierunek oddziaływania azotynu [9]. Wyniki badań na izolowanych mitochondriach błony śluzowej przewodu pokarmowego wykazały na brak korelacji pomiędzy poziomem hipoksji błony śluzowej jelita cienkiego wywołanej przez subchroniczne dawki azotynu z inhibitorym wpływem tego związku na układ cytochromowy mitochondriów [11]. Badania takie dowodzą, że lokalne niedotlenienie błony śluzowej w przewodzie pokarmowym w następstwie oddziaływania toksycznych dawek azotynów może być zależne od znacznego poziomu metheloglobiny, która jest indukowana w ostrych lub subchronicznych modelach zatruc [5]. Hipoteza taka znalazła swoje potwierdzenia poprzez badanie indukcji kwasu mlekowego w błonie śluzowej jelita cienkiego w warunkach ostrego oraz subchronicznego zatrucia azotanem potasowym oraz azotynem sodowym [10]. Interesującym jest to, że pozaazotynowe obniżenie aktywności kluczowych enzymów glikolizy oraz cyklu *Krebsa* w tym dehydrogenazy mleczanowej oraz bursztynianowej zlokalizowanej w błonie śluzowej żołądka oraz jelita cienkiego była powodem zaburzeń procesów transportu zredukowanych równoważników NADPH na poziom koenzymu Q, co mogło rzutować na procesy fosforylacji substratowej oraz energetykę błony śluzowej w przewodzie pokarmowym (Ryc. 1.).



Ryc. 1. Fragment błony śluzowej żołądka szczura w ostrym zatruciu azotynem sodowym (80 mg NaNO_2/kg m.c.). Znaczny spadek aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w powierzchniowej warstwie gruczołów (Reakcja *Nachlasa* dla dehydrogenazy bursztynianowej; powiększenie 200 x). Badania autora [10].

Fragment of gastric mucosa of a rat in acute poisoning with sodium nitrite (80 mg NaNO_2/kg bw). Considerable fall of succinate dehydrogenase activity in the superficial layer of glands (*Nachlas* reaction for succinate dehydrogenase; magn. 200 x). Author's research [10].

Azotany oraz azotyny mogą zaburzać procesy fosforylacji substratowej w błonie śluzowej jelita cienkiego oddziałując hamująco na dwa podstawowe enzymy cyklu pentozowego oraz glikolizy (dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa oraz dehydrogenaza 6-fosfoglukonianowa) [10]. Na podstawie wyników dotychczasowych badań stwierdzono, że większość azotynowych zaburzeń energetyki błony śluzowej może rzutować na procesy energetyki transportu jelitowego, stabilizację błony śluzowej oraz procesy regenerujące śluzówkę jelitową. Należy również dodać, że całkowite obniżenie śluzówki żołądkowej obserwowano w następstwie ostrego zatrucia szczurów azotynem sodowym w dawce zbliżonej do LD₅₀ (Ryc. 2). Co więcej, związek ten okazał się być stymulatorem procesów konglomeracji struktury kosmków w jelicie cienkim co prowadziło do naruszenia procesów aktywnego oraz biernego transportu w błonie śluzowej (Ryc. 3). Osłabienie procesów transportowych w jelicie cienkim wydaje się być konsekwencją wielu kompleksowych procesów związanych z oddziaływaniem azotanów oraz azotynów na błonę śluzową, która w opinii wielu autorów może tracić swoją homeostatyczną kontrolę w następstwie ostrych oraz subchronicznych dawek azotanów oraz azotynów. Nasilenie toksycznych efektów azotynów na błonę śluzową jelita cienkiego zostało zaobserwowane w stanach powysiłkowych [12, 13]. Przeprowadzone badania pokazały, że powysiłkowy stres szczurów (bieg do wyczerpania na bieżni) może być czynnikiem nasilającym toksyczną interakcję azotanów na błonę śluzową jelita cienkiego. W warunkach takich interakcji obserwowano patologiczne kosmki w jelicie cienkim szczurów, które w swojej charakterystyce odpowiadały tzw. kosmkom liściastym charakterystycznym dla syndromu złego wchłaniania (Ryc. 4).

Badania ostatnich lat przyniosły nowe dane dotyczące oddziaływania azotanów oraz azotynów na funkcje przewodu pokarmowego. Okazuje się, że azotyn sodowy w dawkach podostrych (model 3-tygodniowego zatrucia myszy) jest czynnikiem modyfikującym funkcje immunologiczne przewodu pokarmowego [18]. Azotyn sodowy obniżał poziom limfocytów pomocniczych (CD4+) w węzłkach *Payer'a* [14]. Związek ten jednocześnie stymulował funkcje limfocyta supresorowego (CD8+) w węzłach krezkowych myszy [16]. Badania subpopulacji limfocytów w węzłach krezkowych pokazały na możliwość oddziaływania azotynów na inne komórki układu immunologicznego jak limfocyty B220+ [16]. Ocena wyników tych badań była powodem dla podjęcia pełnej analizy oddziaływania azotynu na przekaźniki układu immunologicznego, takie jak limfokiny oraz interferon gamma. Azotyn sodowy w dawkach subchronicznych obniżał poziom interleukin IL2 i IL5 w węzłach krezkowych [16]. Co więcej, związek ten wpływał na funkcje proliferacyjne limfocytów izolowanych z węzłów krezkowych [16]. Obecność azotynu sodowego wpłynęła na zwiększenie ekspresji receptora IL2R w odpowiedzi na działanie interleukiny IL2 w obecności IL1 [16]. Rzutowało to jednocześnie na obniżenie poziomu interferonu gamma w kulturach limfocytów izolowanych u mysz w subchronicznym modelu zatrucia azotynem sodowym [16]. Badania ostatnich lat przyniosły dowody wskazujące na możliwość oddziaływania azotynu sodowego na przeżywalność larw włośni krętych w fazie jelitowej eksperymentalnie indukowanej włośnicy u mysz [16]. Subchroniczne dawki azotynów rzutowały również na poziom dojrzałych postaci włośni (*Trichinella spiralis*) oznaczanych w mięśniowej fazie włośnicy [16].



Ryc. 2. Fragment błony śluzowej szczura w ostrym zatruciu azotynem sodowym (80 mg NaNO_2/kg mc). Brak ochronnej warstwy śluzu na powierzchni. Barwienie hematoksyliną i eozyną (H+E), powiększenie 100 x. Badania autora [10].

Fragment of gastric mucosa of a rat in acute poisoning with sodium nitrite (80 mg NaNO_2/kg bw). Absence of protective mucus layer on the surface. Staining with hematoxylin and eosin (H+E), magn. 100 x. Author's research [10].

Te same badania wykazały ponadto, że wstępna inkubacja larw włośni w obecności azotynu sodowego znacznie wpłynęła na przeżywalność larw w fazie jelitowej infekcji. Stan taki również zmieniał obraz populacji limfocytów izolowanych z węzłów krezkowych oraz interleukin IL-2, IL5 czy interferonu gamma oznaczanych w warunkach infekcji larwami, które miały kontakt z azotynem sodowym (inkubacje larw przez infekcją organizmu). Wczesne badania nad oddziaływaniem azotanów oraz azotynów na błonę śluzową jelita cienkiego wskazały na możliwość interakcji tych związków na



Ryc. 3. Fragment błony śluzowej jelita cienkiego szczura po subchronicznym zatruciu azotanem potasowym (80 mg KNO_3/kg m.c.) połączonym z wysiłkiem do 90 dnia. Widoczna atrofia kosmków z ich poszerzeniem oraz tworzeniem konglomeratów. Barwienie hematoksyliną i eozyną (H+E), powiększenie 63 x. Badania autora [13].

Fragment of small intestine mucosa of a rat after subchronic poisoning with potassium nitrate (100 mg KNO_3/kg bw) associated with exercise up to the 90th day. Atrophy of villi with their widening and formation of conglomerates. Staining with hematoxylin and eosin (H+E), magn. 63 x. Author's research [13].

kryptę jelita cienkiego [15]. Okazuje się, że azotyn sodowy oddziałuje na inne pozycje komórkowe krypty jelitowej w odróżnieniu od azotanu potasowego [18]. Badania nad stanami programowanej śmierci komórek w kryptcie (apoptoza) pokazały, że azotyn jest w stanie indukować programowaną śmierć komórek zlokalizowanych w pozycjach pomiędzy 4 a 8 w kryptcie, co świadczyłoby na możliwość oddziaływania tego związku na komórki podlegające intensywnym podziałom, a które w większości reprezentowały populację komórek macierzystych krypty jelita cienkiego [18]. Interesującym jest, że jednorazowa dawka azotynu sodowego oraz azotanu potasowego nie wpłynęła na



Ryc. 4. Fragment błony śluzowej jelita cienkiego szczura po subchronicznym zatruciu azotanem potasowym (100 mg KNO_3/kg m.c.) połączonym z wysiłkiem do 90 dnia. Charakterystyczne kosmki „liściaste” z typowymi zmianami atroficznymi. Barwienie hematoksyliną i eozyną (H+E), powiększenie 63 x. Badania autora [13].

Fragment of small intestine mucosa of a rat after subchronic poisoning with potassium nitrate (100 mg KNO_3/kg bw) associated with exercise up to the 90th day. Characteristic „foliaceous” appearance of a villus typical of atrophic changes. Staining with hematoxylin and eosin (H+E), magn. 63 x. Author's research [13].

przeżywalność populacji krypt jelitowych pomimo obserwowanego procesu apoptozy komórkowej, jaką obserwowano w krypcie. Należy wspomnieć, że oznaczono wysoką korelację liniową ($r = 0,97$, $p < 0,05$) pomiędzy indeksem apoptycznym a obliczoną przeżywalnością komórek w krypcie w następstwie subchronicznego zatrucia myszy azotanem potasowym oraz azotynem sodowym [18].

Dla większości obserwowanych efektów azotanowych oraz azotynowych w warunkach jednorazowych ostrych czy przedłużonych zatruc istnieje możliwość dwójakiego rodzaju oddziaływania tych związków na błonę śluzową jelita cienkiego. Pierwsze są związane z depozycją niewielkiej puli związku w błonie śluzowej oraz oddziaływaniem w przewodzie pokarmowym poprzez tak zwaną materialną kumulację substancji [11]. Zjawisko to było wielokrotnie podkreślane dla toksycznego wpływu azotynu sodowego. Biorąc pod uwagę szerokie spektrum efektów azotanów a przede wszystkim azotynów w modelach przewlekłych zatruc, zaproponowano definicje tak zwanej funkcjonalnej kumulacji azotynów, która w głównej mierze dotyczyła możliwości kumulacji efektów tych związków w błonie śluzowej jelita cienkiego [11]. Wpływ azotynów na błonę śluzową przewodu pokarmowego może być związany z endogennie tworzonym azotynem [37]. Badania na ochotnikach, u których oznaczano poziomy azotynów w treści żołądkowo-dwunastniczej wskazują na możliwość tworzenia endogennego azotynu w procesach nityfikacji, co jest zasadniczo związane z odczynem (pH) treści żołądkowo-jelitowej [21]. Okazuje się bowiem, że środowisko obojętne oraz alkaliczne sprzyja tworzeniu endogennych azotanów oraz azotynów, co jest dodatkowym powodem zwiększenia puli endogennie tworzonych N-nitrozwiązków w procesach z udziałem drugo- oraz trzeciorzędowych amin [7, 17, 40].

Nieorganiczne azotany oraz azotyny są od wielu lat stosowane jako dodatki do żywności oraz chemiczne nawozy w rolnictwie [6]. Zarówno naturalne oraz sztuczne źródła kontaminacji azotanami oraz azotynami prowadzą do znaczącego zwiększenia poziomów tych związków w wodzie, warzywach, owocach, niektórych produktach spożywczych, w tym mleku oraz serach [1, 6]. Ponieważ narażenie organizmu człowieka na azotany oraz azotyny zwiększa stopień ryzyka zaburzeń szeregu funkcji błony śluzowej jelita cienkiego, w tym indukcji raka żołądka czy jelita grubego [2, 6, 7, 19, 25, 33, 39], wielkość narażenia powinna być najniższa, jaka praktycznie jest możliwa do osiągnięcia. Spełnienie tego warunku powinno być realizowane poprzez świadome obniżanie zawartości tych związków w wodzie pitnej oraz żywności.

I.P. Grudziński

EFFECT OF NITRATES AND NITRITES ON SMALL INTESTINE

Summary

Toxic effects of nitrates and nitrites on absorptive and secretive functions of intestinal mucosa were described. The effect of nitrates and nitrites on maturation, differentiation and programmed cell death (apoptosis) in intestinal crypts was also discussed. Selected immunological functions of small intestine in nitrate- or nitrite-treated organism were evaluated.

PIŚMIENNICTWO

1. Archer M.C.: Hazards of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds in human nutrition. *Nutritional Toxicol.*, 1982, 1, 327.
2. Beresford S.A.: Is nitrate in the drinking water associated with the risk of stomach cancer in the urban UK? *Int. J. Epidemiol.*, 1985, 14, 57.
3. Edwards D.A.W., Flether K., Rowlands E.N.: Antagonism between perchlorate, iodide, thiocyanate and nitrate for secretion in human saliva. *The Lancet*, 1954, 266, 498.

4. Friedman M.A., Greene E., Epstein S.: Rapid gastric absorption of sodium nitrite in mice. J. Pharm. Sci., 1972, 61, 1492.
5. Fritsch P., Canal M.T., Blanquat G.: Experience en pair-feeding chez des rats traités au nitrate potassium ou au nitrite sodium. Ann. Nutr. Metab. 1983, 27, 38.
6. Grudziński I.: Niektóre aspekty higieniczno-żywnościowe azotanów i azotynów. Lek. Wojsk., 1990, 66, 88.
7. Grudziński I.: Nitrozoaminy i nitrozoamidy – kancerogeny w żywności. Lek. Wojsk., 1990, 66, 225.
8. Grudziński I.: Wybrane aspekty wpływu azotanów i azotynów na organizm żywy. Lek. Wojsk., 1991, 66, 750.
9. Grudziński I.: Studies on the mechanism of the toxic action of sodium nitrite on intestinal absorption in rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1991, 21, 475.
10. Grudziński I., Szymański A.: The effect of acute poisoning with potassium nitrate and sodium nitrite on the processes of intestinal absorption of D-xylose in rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1991, 21, 453.
11. Grudziński I., Szymański A.: The effect of subchronic poisoning with potassium nitrate and sodium nitrite on the processes of intestinal absorption of D-xylose in rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1991, 21, 447.
12. Grudziński I., Szymański A., Chemiczewski K.: The effect of exercise associated with acute poisoning with potassium nitrate and sodium nitrite on the processes of intestinal absorption of D-xylose in rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1991, 21, 468.
13. Grudziński I., Szymański A., Chemiczewski K.: The effect of exercise associated with subchronic poisoning with potassium nitrate and sodium nitrite on the processes of intestinal absorption of D-xylose in rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1991, 21, 462.
14. Grudziński I., Bany J., Tomasik J.: Effect of acute and subchronic poisoning with sodium nitrite on T-subsets in mesenteric lymph nodes and Peyer's patches in mice. Pol. J. Immunol., 1992, 17, 168.
15. Grudziński I., Jednoróg S., Szymański A., Krasieńska A., Frnakiewicz-Józko A.: Przeżywalność krypty jelitowej gamma napromieniowanych myszy w subchronicznym zatruciu azotanem potasowym, azotynem sodowym i N-nitrozodietylaminą. Materiały X Krajowego Zjazdu PTBR, Warszawa, 1995, str. 68.
16. Grudziński I., Law F.C.P.: Nitrite mediated T lymphocyte responses in the intestinal immune system of mice infected with *Trichinella spiralis* nematode. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1997, 33, 1.
17. Grudziński I., Law F.C.P.: The effects of an acute dose of sodium nitrite and N-nitrosodiethylamine induced prooxidation in the liver of mice. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1997, (praca w druku).
18. Grudziński I., Law F.C.P.: The induction of cell in the intestinal crypt of mice following oral administration of nitrate and nitrite. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1997, (Praca w druku).
19. Grudziński I.: Influence of dietary nitrite overload on intestinal tumorigenesis in mice. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1997, (praca przesłana do druku).
20. Hartman P.E.: Nitrates and nitrites: ingestion, pharmacodynamics, and toxicology. Chem. Mutagens, 1982, 7, 211.
21. Ishiwata H., Boriboon P., Nakamura Y., Harada M., Tanimura A., Ishidate M.: Studies on *in vivo* formation of nitroso compounds (II). Changes of nitrite and nitrate concentrations in human saliva after ingestion of vegetables or sodium nitrite. J. Food. Hyg. Soc. Jpn., 1975, 16, 19.

22. *Ishiwata H., Mizushiro H., Tanimura A., Murata T.*: Metabolic fate of the precursors of N-nitroso compounds (III). Urinary extraction of nitrate in man. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, 1978, 19, 318.
23. *La Touche Y.D., Willis D.L., Dawydiak D.I.*: Absorption and biokinetics of U in rats following an oral administration of uranium nitrate solution. *Health Phys.*, 1987, 53, 77.
24. *Leutsky K.M.*: Biological investigation of vitamin A. *J. Biochem. Ukr.*, 1972, 44, 771.
25. *Lijinsky W.*: Health problems associated with nitrites and nitrosamines. *Ambio*, 1976, 5, 67.
26. *Lijinsky W.*: Life-span and cancer: The induction time of tumors in diverse animal species reared with nitrosodiethylamine. *Carcinogenesis*, 1993, 14, 2373.
27. *Mirvish S.S.*: The etiology of gastric cancer. Intra-gastric nitrosamide formation and other theories. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1983, 71, 629.
28. *Neurath G.B., Dunger M., Pein F.G., Ambrosius D., Schreiber O.*: Primary and secondary amines in the human environment. *Food Cosmet. Toxicol.*, 1977, 15, 275.
29. *Oshima H., Bartsch H.*: Quantitative estimation of endogenous nitrosation in humans by monitoring N-nitrosoproline excreted in the urine. *Cancer Res.*, 1981, 41, 3658.
30. *Pegg A.E.*: Formation and metabolism of alkylated nucleosides: Possible role in carcinogenesis by nitroso compounds and alkylating agents. *Adv. Cancer Res.*, 1977, 25, 195.
31. *Radomski J.L., Palmiri C., Hearn W.C.*: Concentration of nitrate in normal human urine and the effect of nitrate ingestion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1978, 45, 63.
32. *Radomski J.L., Greewald D., Hearn W.L., Block N.L., Woods F.M.*: Nitrosamine formation in bladder infections and its role in the etiology of bladder cancer. *J. Urol.*, 1978, 120, 48.
33. *Ridder W.E., Oehme F.W.*: Nitrates as an environmental, animal and human hazard. *Clin. Toxicol.*, 1974, 7, 145.
34. *Roediger W.E., Radcliffe B.C.*: Role of nitrite and nitrate as a redox couple in the rat colon. *Dig. Dis. Sci.*, 1988, 31, 535.
35. *Ruddell W.S.J., Blendis L.M., Walters C.L.*: Nitrite and thiocyanate in the fasting and secreting stomach and in saliva. *Gut* 1977, 18, 73.
36. *Schultz D.S., Deen W.M., Karel S.F., Wagner D.A., Tannenbaum S.R.*: Pharmacokinetics of nitrate in humans: Role of gastrointestinal absorption and metabolism. *Carcinogenesis* 1985, 6, 847.
37. *Tannenbaum S.R., Fett D., Young V.R., Land P.C., Bruce W.R.*: Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine. *Science* 1978, 200, 1487.
38. *Tannenbaum S.R., Weisman M., Fett D.*: The effect of nitrate intake on nitrite formation in human saliva. *Food Cosmet. Toxicol.*, 1987, 14, 549.
39. *Tannenbaum S.R., Moran D., Rand W., Cuello C., Herrera P.*: Gastric cancer in Columbia. IV Nitrite and other ions in gastric contents of residents from high risk region. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1979, 62, 9.
40. *Walters C.L., Carr F.P.A., Dyke C.S., Saxby M.J., Smith D.L.R.*: Nitrite sources and nitrosamine formation in vitro and in vivo. *Food Cosmet. Toxicol.*, 1979, 17, 473.
41. *Witter J.P., Gatley S.J., Balish E.*: Distribution of nitrogen 13 from labelled nitrate ($^{13}\text{NO}_3^-$) in humans and rats. *Science* 1979, 204, 411.
42. *Witter J.P., Balish E.*: Distribution and metabolism of ingested $^{13}\text{NO}_2^-$ and $^{13}\text{NO}_3^-$ in germfree and conventional rats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, 38, 861.
43. *Wurmli R., Wolfran S., Scharrer E.*: Inhibition of chloride absorption from the sheep rumen by nitrite. *J. Vet. Med.*, 1987, 34, 476.
44. *Wurmli R., Wolfran S., Scharrer E.*: Influence of nitrate and nitrite on electrolyte transport by the rat small and large intestine. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1987, 88, 127.