

N-Asetil Sistein'in Sigara İçenlerde Glutatyon Düzeyleri Üzerine Etkileri

Çiğdem PAPILA¹, Muammer BİLİR², Tülin ÇAĞATAY¹, Tahsin ÜNAL², Selçuk KÖKSAL³

ÖZET

Amaç: N-asetil sistein'in kronik sigara içenlende glutatyon sentezini artırma yoluyla kanser önleyici mekanizmasını araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 20 kişilik 10 yıldan fazla sigara içen grubun glutatyon düzeyleri ölçüldü. Aynı gruba N-asetil sistein 600 mg. oral/gün 3 ay süreyle verildi ve glutatyon düzeyleri tekrar ölçüldü. Sonuçlar 20 kişilik sağlıklı grupla karşılaştırıldı.

Bulgular: Glutatyon düzeyleri, sigara içen grupta ilk ölçümde anlamlı derecede düşük bulundu. Üç ay süreyle N-asetil sistein kullanımından sonra glutatyon düzeylerinin anlamlı derecede yükseldiği gözlandı.

Sonuç: N-asetil sisteinin KOAH'lı hastalarda mukolitik bir ajan olarak kullanılmasının yanı sıra, uzun sürede kanser önleyici bir ajan olarak kullanabileceği kanaatine vardık.

Anahtar Sözcükler: N-asetil sistein, akciger tümörü, glutatyon.

SUMMARY

EFFECT OF N-ACETYL CYSTEIN ON GLUTATHION LEVELS

Purpose: We investigated whether N-acetyl cysteine may have a preventive role in lung cancer by increasing glutathion levels in chronic smokers.

Methods: We measured glutathion levels in 20 current smokers with a history of smoking for more than 10 years. The study group was administered oral N-acetyl cysteine (600 mg oral/day) for three months and glutathion levels were re-evaluated. The results were compared with those of 20 nonsmoker controls.

Results: Initially, significantly decreased glutathion levels were found in the smoker group. Following oral N-acetyl cysteine (600 mg oral/day) administration, the study group exhibited significantly increased glutathion levels.

Conclusion: We conclude that N-acetyl cysteine can be used as an anticarcinogenic agent as well as its use as a mucolytic agent in patients with chronic obstructive pulmonary disease.

Key Words: N-acetyl cysteine, lung cancer, glutathion.

GİRİŞ

N-asetil sistein (NAC), 1962'de mukolitik bir ajan olarak tanımlanmıştır (1). Sistein ve deriveleri mukusun viskozitesini azaltan ajanlar olarak tespit edilmiştir. NAC yapısında sülfidiril grupları içerir. Disülfid mukus ve balgamdaki glikoprotein makromoleküllerine bağlanır (1).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda NAC'in sistemik mukoregulatuar etkisinden ayrı bir etki mekanizması daha olduğu ileri sürülmüştür. Viral enfeksiyonların şiddet ve sıklığını, kronik bronşit ataklarının alevlenmesini azalttığı tespit edilmiştir (2,3). Ayrıca NAC'in antikarsinojenik ve antimutagenik aktiviteleri de mevcuttur. Glutatyon, xenobiotiklerin detoksifikasyonunda önemli rol

oynar. Glutatyon azalacak olursa enzimlerdeki sulfidiril grubunun oksidasyonu ve hücre ölümüne giden olaylar zinciri oluşur.

N-asetil sistein birçok hücre ve dokuda sisteme şeklinde deasetile olur. Bu şekilde glutatyon biosentezini destekler. Serbest radikal ve reaktif elektrofilleri detoksifiye etme yeteneğine sahiptir (5).

Çalışmamızda N-asetil sistein'in kronik sigara içenlende glutatyon sentezini artırma yoluyla kanser önleyici mekanizmasını araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, 10 yıldan daha uzun süredir sigara içmekte olan ve herhangi bir hastalığı

¹ Doç. Dr., Cerrahpasa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları A.D.

² Uzm. Dr., Cerrahpasa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları A.D.

² Biyokimya Uzmanı, Cerrahpasa Tıp Fakültesi

³ Yrd. Doç. Dr., Cerrahpasa Tıp Fakültesi, Koruyucu Hekimlik ve Halk Sağlığı Bilim Dalı

olmayan 20 gönüllü (14 erkek, 6 kadın) ahndı. Bu kişilerin bilgilendirilmiş onayları alındıktan sonra, çalışma öncesi glutatyon düzeyleri ölçüldü ve kendilerine üç ay süreyle N-asetil sistein 600 mg/gün/oral verildi. Yirmi kişilik sigara içmeyen sağlıklı kişilerden (15 erkek ve 5 kadın) bir kontrol grubu oluşturularak, bu grupta da glutatyon düzeylerine bakıldı ve elde edilen düzeyler karşılaştırıldı.

Teknik:

0.2 ml. antikoagulanlı kan örnekine 1.8 ml. soğuk distile su eklenerek hemolizat elde edilir. Hücre artıklarının uzaklaştırılabilmesi amacıyla hemolizat mikrosantrifüjde üç dakika santrifürlenir. Test hemen çalışılmalıdır. Sonuçların g "hemoglobin" cinsinden ifade edilmesi için antikoagulanlı kan örneklerinde hemoglobin bakılması gereklidir.

Analizin yapılışı: 0.5 ml. hemolizat 0.75 ml. proteinsizleştirmeye çözeltisi ile karıştırılır. Beş dakika beklenir.

Santrifüj edildikten sonra 0.5 ml. üst sıvı ile 2 ml. 0.3 M Na₂HPO₄ karıştırılır (karışımın pH'sı 8 olmalıdır). Karışımın üzerine 0.25 ml. Ellman ayıracı eklenir, beş dakikalık inkübasyon süresinden hemen sonra hemolizat yerine distile su kullanılarak hazırlanan ayıraç körüğe karşı 412 nm'de absorbans okunur. Glutatyonun tekniğe göre normal kabul edilen değeri 5-8 μmol GSH/gHb'dır. İstatistiksel analizler Student t-testi ve çiftli t-testi kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Sigara içen ve içmeyen gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmadı (χ^2 testi, $\chi^2=0.2$, $p>0.05$) (Tablo I). İki grubun yaş ortalamaları da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermedi (sigara içmeyenlerde yaş ort. 59.2 ± 6.2 ; sigara içenlerde yaş ort. 59.6 ± 6.2 (Student t-testi; $t=0.23$, $p>0.05$).

Sigara içmeyen grupta glutatyon düzeyleri ortalaması 6.77 ± 1.06 μmol/GSH/gHb, sigara içen grupta N-asetil sistein verilmesinden önce 3.75 ± 1.06 μmol/GSH/gHb bulundu. Gruplar arasında glutatyon düzeyi ortalaması açısından ileri derecede anlamlı farklılık görüldü (Student t-testi; $t=10.61$, $p<0.001$) (Tablo II).

Sigara içici gruba üç ay süreyle N-asetil sistein verilmesinden sonra ölçülen glutatyon düzeyleri 6.38 ± 1.26 μmol/GSH/gHb'ye yükselmiş ve aynı grubun çalışma öncesi düzeyleriyle ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmüştür (esli t-testi; $t=12.03$, $p<0.001$) (Tablo III).

Tablo I: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ve cinsiyet dağılımı

No	Yaş	Cins	Kronik sigara içen grup		Sağlıklı grup	
			No	Yaş	Cins	
1	58	E	1	56	E	
2	62	E	2	63	E	
3	65	E	3	62	E	
4	55	E	4	58	K	
5	67	E	5	65	E	
6	59	K	6	63	E	
7	63	E	7	60	E	
8	60	K	8	62	E	
9	54	E	9	55	K	
10	60	E	10	58	E	
11	66	E	11	64	E	
12	68	K	12	69	E	
13	59	E	13	58	E	
14	63	K	14	65	E	
15	65	E	15	62	K	
16	67	E	16	62	K	
16	67	E	17	65	E	
17	47	K	17	53	E	
18	49	K	18	45	K	
19	53	E	19	47	K	
20	55	E	20	54	E	

Tablo II: N-asetil sistein verilmeden önce iki grupta glutatyon düzeyleri

No	İçiciler (10 yıldan fazla)	Kronik Sigara		Sağlıklı Grup	
		(μmol/GSH/gHb)	(μmol/GSH/gHb)	(μmol/GSH/gHb)	(μmol/GSH/gHb)
1		4.0		7.8	
2		3.6		8.5	
3		3.2		6.5	
4		4.0		6.3	
5		5.2		6.8	
6		3.5		7.5	
7		4.6		6.0	
8		3.1		5.8	
9		2.7		7.0	
10		2.8		6.2	
11		3.0		5.9	
12		3.5		6.8	
13		4.0		7.2	
14		4.2		8.9	
15		4.0		6.5	
16		3.0		5.2	
17		3.5		4.9	
18		5.0		5.9	
19		4.2		7.5	
20		3.9		8.2	

Tablo III: Kronik sigara içicilerde (10 yıldan fazla) N-asetil sistein verilisinden önce ve sonra glutatyon düzeyleri

No	NAC öncesi ($\mu\text{mol}/\text{GSH/gHb}$)	NAC verilişinden sonra ($\mu\text{mol}/\text{GSH/gHb}$)
1	4.0	7.3
2	3.6	6.0
3	3.2	5.8
4	4.0	7.5
5	5.2	8.2
6	3.5	5.4
7	4.6	6.2
8	3.1	4.8
9	2.7	4.8
10	2.8	3.5
11	3.0	5.7
12	3.5	5.8
13	4.0	7.2
14	4.2	6.8
15	4.0	7.2
16	3.0	6.8
17	3.5	8.1
18	5.0	7.5
19	4.2	5.2
20	3.9	7.8

TARTIŞMA

Sigara ile akciğer kanseri arasında kesin bir ilişkinin olduğu bugün bilim dünyası tarafından kabul edilmiş bulunmaktadır. Sigara içenlerin kanında prekarsinogenlerin miktarı hızla artmaktadır. İlgi çekici olan kronik sigara içicilerin hepsi malign hastalıkların kurbanı olmamaktadır. Bu olay karsinojenlerin metabolizması ve karsinojenlerin çeşitli basamakları ile konak savunma faktörleri ve zıt faktörler arasındaki dengelerle yönetilmektedir (Metabolik aktivasyon, detoksifikasyon gibi formasyonlar ayrıca serbest oksijen radikallerinin uzaklaştırılması ve DNA hasarının onarılması vb.) (6).

Karsinojen bileşikleri detoksifikasyon mekanizmasını inhibe ettikleri oranda kanda gelişmesini hızlandırır.

N-Asetil sistein, aminothiol ve intrasellüler sistein prekürsörleri içerir ve antioksidan özelliklere sahip glutatyon sentezini aktive eder (7).

NAC aynı zamanda asetaminofen zehirlenmesinin etkili bir antidotudur. Kemoterapinin

meydana getirdiği hasarları da önlemektedir (8,9).

İçilen her sigarada 1016 oksidant molekülü vardır (aldehit, epoksit, peroksit ve serbest radikaller).

Sigara içicilerde artan oksidatif stresle ilişkili olarak intrasellüler antioksidanların ciddi bir kaybı söz konusudur. Oksidasyona maruz kalan K-Ras onkogen DNA hızla değişime uğrar (6). NAC, potent karsinojenler üzerine (benzopyzene, 2 aminofluorene ve alfatoxin B1 gibi) yüksek dozlarda inhibe edici etkiye sahiptir. NAC yapısındaki thiol grupları sayesinde promutagenlerin elektrofilik metabolitlere dönüşümünü oluşturur. NAC aynı zamanda intrasellüler glutatyonun prekürsördür (10,11).

Yapılan çalışmalarda karsinojen ve röntgen irradasyonuna maruz kalan deneysel kültürlerde hepatositlerde thiol benzeri NAC ve glutatyonu DNA hasarını düzelttiği tespit edilmiştir (6).

Akciğer ve baş-boyun tümörlü hastalarda ikinci primer tümörün gelişmesi önemli bir risk teşkil etmektedir. EORTC çalışma grubu akciğer ve baş-boyun tümörlü, küratif tedavi sonrası izlenen hastalarda NAC 600 mg/gün ve retinol palmitat vermişler, bir gruba hiç bir ilaç vermemişler, iki yıl süreyle 2600 hastayı izlemiştir. Olguların %8'inde dispepsi saptanmıştır. NAC verilen grupta sekonder tümörlerin oluşmadığı gözlenmiştir.

Flora ve ark., ürethan ile oluşturulan deneysel akciğer tümörünün 400 mg/gün NAC'in altı ay boyu verilmesi ile önlediğini tespit etmişlerdir (12).

Balansky ve ark., kronik sigara içicilerde yaptıkları çalışmada, NAC'in pulmoner alveolar makrofajlarda sitogenetik hasarı ve terminal bronşlarda sigara içimi ile meydana gelen histolojik hasarı düzeltmede çok önemli bir kanser önleyici ajan olduğunu açıklamışlardır (13,14).

Sonuç olarak 1984 yılında ilk olarak kemopreventif bir ajan olduğu açıklanan N-asetil sistein'in karşınogenezisinin değişik basamaklarında değişik mutagen ve karsinojenlere karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. Minör yan etkileri (dispepsi gibi) olmasına rağmen sigara içenlerde akciğer tümörüne karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Webb WR: Clinical evaluation of a new mucolytic agent acetyl cysteine. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1962; 44: 330-343.
2. Boman G, Backer U, Larsson S, Melander B, Wahlander L: Oral acetylcysteine reduces exacerbation rate in chronic bronchitis: report of a trial organized by the Swedish Society for Pulmonary Diseases. *Eur. J. Respir. Dis.* 1983; 64: 405-415.
3. Todisco T, Palmieri GC, Pezza A, et al.: Protective effect of N-acetyl cysteine on immune system of elderly patients in acute respiratory viral infections. *Eur. Resp. J.* 1993; 6: 5595.
4. De Flora S, Izzotti A, D'Angostini F, et al.: Chemopreventive properties of N-acetylcysteine and other thiols. In: Wattenberg L, Lipkin W, Boone CW, et al. eds. *Cancer Chemoprevention*. Boca Raton, Fla: CRC Press, 1992; 183-194.
5. De Flora S, Bennicelli C, Camoirano A, Serra D, Romano M, Rossi GA, et al.: In vivo effects of N-acetylcysteine on glutathione metabolism and on the biotransformation of carcinogenic and/or mutagenic compounds. *Carcinogenesis* 1985; 6: 1735-1745.
6. Chan JY, Stout DL, Becker FF: Protective role of thiols in carcinogen-induced DNA damage in rat liver. *Carcinogenesis* 1986; 7: 1621-1624.
7. van Zandwijk N: N-acetylcysteine for lung cancer prevention. *Chest* 1995; 107: 1437-1441.
8. Flanagan RJ: The role of acetylcysteine in clinical toxicology. *Med. Toxicol.* 1987; 2: 93-104.
9. Morgan LR, Donley PJ, Harrison EF, Hunter HL: The control of ifosfamide-induced hematuria with N-acetylcysteine in patients with advanced carcinoma of the lung. *Semin. Oncol.* 1982; 9: 71-74.
10. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Cesarone CF: Antioxidant activity and other mechanisms of thiols involved in chemoprevention of mutation and cancer. *Am. J. Med.* 1991; 91: 122S-130S.
11. Moldéus P, Cotgreave IA, Berggren M: Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration* 1986; 50: 31-42.
12. De Flora S, Astengo M, Serra D, Bennicelli C: Inhibition of urethan-induced lung tumors in mice by dietary N-acetylcysteine. *Cancer Lett.* 1986; 32: 235-241.
13. Balansky RB, D'Agostini F, Zanacchi P, De Flora S: Protection by N-acetylcysteine of the histopathological and cytogenetical damage produced by exposure of rats to cigarette smoke. *Cancer Lett.* 1992; 64: 123-131.
14. MacNee W, Bridgeman MM, Marsden M, Drost E, Lannan S, Selby C, et al.: The effects of N-acetylcysteine and glutathione on smoke-induced changes in lung phagocytes and epithelial cells. *Am. J. Med.* 1991; 91: 60S-66S.