

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

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

ÖZET

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

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

Bulgular: Glutasyon düzeyleri, sigara içen grupta ilk ölçümlerde anlamlı derecede düşük bulundu. Üç ay süreyle N-asetil sistein kullanımından sonra glutasyon düzeylerinin anlamlı derecede yükseldiği gözlemlendi.

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

Anahtar Sözcükler: N-asetil sistein, akciğer tümörü, glutasyon.

SUMMARY

EFFECT OF N-ACETYL CYSTEIN ON GLUTATHION LEVELS

Purpose: We investigated whether N-acetyl cystein 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 cystein (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 cystein (600 mg oral/day) administration, the study group exhibited significantly increased glutathion levels.

Conclusion: We conclude that N-acetyl cystein 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 cystein, 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 sülfidril grupları içerir. Disülfid mukus ve balgamdaki glikoprotein makromoleküllerine bağlanır (1).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda NAC'in sistemik mukoregulator 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 antikarsinogenik ve antimutagenik aktiviteleri de mevcuttur. Glutasyon, xenobiotiklerin detoksifikasyonunda önemli rol

oynar. Glutasyon azalacak olursa enzimlerdeki sülfidril grubunun oksidasyonu ve hücre ölümüne giden olaylar zinciri oluşur.

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

Çalışmamızda N-asetil sistein'in kronik sigara içenlerde glutasyon 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., Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları A.D.

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

² Biyokimya Uzmanı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

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

olmayan 20 gönüllü (14 erkek, 6 kadın) alındı. Bu kişilerin bilgilendirilmiş onayları alındıktan sonra, çalışma öncesinde glutasyon 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 glutasyon düzeylerine bakıldı ve elde edilen düzeyler karşılaştırıldı.

Teknik:

0.2 ml. antikoagulanlı kan örneğine 1.8 ml. soğuk distile su eklenerek hemolizat elde edilir. Hücre artıklarının uzaklaştırılabilmesi amacıyla hemolizat mikrosantrifüjde üç dakika santrifüjlenir. 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. proteinsizleştirme çözeltisi ile karıştırılır. Beş dakika beklenir.

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

BULGULAR

Sigara içen ve içmeyen gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmadı (ki kare 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 glutasyon 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 glutasyon 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 glutasyon düzeyleri 6.38 ± 1.26 µmol/GSH/gHb'ye yükselmiş ve aynı grubun çalışma öncesi düzeyleriyle ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmüştür (eşli t-testi; $t=12.03$, $p<0.001$) (Tablo III).

Tablo I: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş ve cinsiyet dağılımı

Kronik sigara içen grup			Sağlıklı grup		
No	Yaş	Cins	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	15	62	K
16	67	E	15	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 glutasyon düzeyleri

No	Kronik Sigara	Sağlıklı Grup
	İçiciler (10 yıldan fazla) (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 ($\mu\text{mol/GSH/gHb}$)	NAC verilisinden sonra ($\mu\text{mol/GSH/gHb}$)
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. İlgili çekici olan kronik sigara içicilerin hepsi malign hastalıkların kurbanı olmamaktadır. Bu olay karsinogenlerin metabolizması ve karsinogenlerin 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).

Karsinogen bileşikleri detoksifikasyon mekanizmasını inhibe ettikleri oranda kanda gelişmesini hızlandırır.

N-Asetil sistein, aminothioller 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 karsinogenler üzerine (benzopyrene, 2 aminofluorene ve alfatoksin B1 gibi) yüksek dozlarda inhibe edici etkiye sahiptir. NAC yapısındaki thiol grupları sayesinde promotagenlerin elektrofilik metabolitlere dönüşümünü oluşturur. NAC aynı zamanda intrasellüler glutatyonun prekürsörüdür (10,11).

Yapılan çalışmalarda karsinogen ve röntgen irradiasyonuna 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 izlemişlerdir. 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 önlendiğini 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 karsinogenezisin değişik basamaklarında değişik mutagen ve karsinogenlere 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, Zanicchi 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.