



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**ASİTRETİN VE METOTREKSAT VERİLMİŞ RATLARDA α -
LİPOİK ASİT KULLANIMININ OKSİDATİF STRES ENZİM
AKTİVİTELERİNİN ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Shadi SADİGH

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Emine DIRAMAN**

**SAMSUN
2021**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



**ASİTRETİN VE METOTREKSAT VERİLMİŞ RATLARDA α -
LİPOİK ASİTKULLANIMININ OKSİDATİF STRES ENZİM
AKTİVİTELERİNİN ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Shadi SADİGH

Danışman

Doç. Dr. Emine DIRAMAN

SAMSUN
2021

TEZ KABUL VE ONAYI

Shadi SADIGH tarafından, Doç. Dr. Emine DIRAMAN danışmanlığında hazırlanan “Asitretin ve Metotreksat Verilmiş Ratlarda α -Lipoik Asit Kullanımının Oksidatif Stres Enzim Aktivitelerinin Üzerine Etkisinin Araştırılması ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 17.2.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Zafer EREN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/>
			Kabul
			<input type="checkbox"/>
			Ret
Üye (Danışman)	Doç. Dr. Emine DIRAMAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Anabilim		<input type="checkbox"/>
			Kabul
			<input type="checkbox"/>
			Ret
Üye	Prof. Dr. Nurten KARA Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/>
			Kabul
			<input type="checkbox"/>
			Ret
Üye	Prof. Dr. Ayşegül ÇEBİ Giresun Üniversitesi Ebelik Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/>
			Kabul
			<input type="checkbox"/>
			Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Rukiye DEMİR Samsun Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/>
			Kabul
			<input type="checkbox"/>
			Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım yüksek lisans/doktora/sanatta yeterlik tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

İmza

16 /03/ 2021

Shadi SADİGH

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Asitretin Ve Metotreksat Verilmiş Ratlarda A-Lipoik Asit Kullanımının Oksidatif Stres Enzim Aktivitelerinin Üzerine Etkisinin Araştırılması

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 14.01.2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 18

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

İmza

14 /01 / 2021

Doç. Dr. Emine DIRAMAN

ÖZET

ASİTRETİN VE METOTREKSAT VERİLMİŞ RATLARDA α -LİPOİK ASİT KULLANIMININ OKSİDATİF STRES ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Shadi SADİGH

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Ana bilim Dalı

Doktora, şubat/2021

Danışman: Doç. Dr. Emine DIRAMAN

Bu çalışmada, asitretin (ACT) ve metotreksat (MTX) verilmiş ratlarda α -lipoik asit (ALA) kullanımının oksidatif stress enzim aktivitelerinin üzerine etkisi araştırılmıştır. ACT ve MTX verilmiş ratların karaciğer dokusunda, oksidatif stress enzimlerden olan glutatyon redüktaz (GSSG-R) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerine antioksidan olan ALA'nın koruyucu etkisine bakılmıştır.

Çalışmada, toplam 50 tane wistar albino erkek rat kullanılmıştır. Çalışma grupları, Kontrol grubu (K), ALA grubu, ACT+MTX grubu ve ACT+MTX+ALA olarak oluşturulmuştur. Ratlar enjeksiyon öncesi 24 saat aç bırakılmıştır. Enjeksiyon işlemleri her sabah aynı saatte gerçekleştirilmiştir. ACT, MTX ve ALA %0.9'luk NaCl'de çözülmüştür. ACT (20mg/kg/gün), MTX (20mg/kg/hafta), ALA (50mg/kg/gün) ve bunların kombinasyonları da vücut ağırlığı düzeyinde intraperitoneal enjeksiyon ile ratlara verilmiştir. Ratlar, servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. Kalp perfüzyonu işlemi yapıldıktan sonra incelenmek üzere karaciğeleri çıkarılmıştır. GSSG-R ve SOD enzimlerinin aktiviteleri, ratlardan alınan bu karaciğer doku örneklerinde, ölçülmüştür.

ALA, ACT+MTX ve ACT+MTX+ALA grupları K grubu ile karşılaştırıldığında GSSG-R enzim aktivitesinde giderek azalan bir inhibisyon gözlenmiştir. ALA grubunun 3., 5. ve 7. günleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SOD enzim aktivitesinde ise aktivasyon gözlenmiştir.

GSSG-R ve SOD enzim aktivitelerinin sonuçları değerlendirdiğinde ACT+MTX kombinasyonuna antioksidan olan ALA eklendiğinde enzim aktivitelerinde özellikle 7.günde yüksek miktarda artış gözlenmiştir. Böylece ALA'nın ACT+MTX kombin uygulamasında koruyucu etki gösterdiği ve hepatoksisiteyi de belirli düzeyde engelleyebileceği sonucuna varılmıştır. Bu farklılıklara dayanarak MTX ve ACT kaynaklı oksidatif stresin karaciğer hücre hasarına ALA takviyesiyle önemli ölçüde azaltılabileceği söylenebilir.

Bu farklılıklara dayanarak, MTX ve ACT kaynaklı oksidatif stresin neden olduğu karaciğer hücre hasarının ALA takviyesi sonucu önemli ölçüde azaltılabileceği söylenebilir.

Anahtar Sözcükler: Karaciğer, Asitretin, Metotreksat, Alfa Lipoik Asit

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF THE USE OF α - LIPOIC ACID ON OXIDATIVE STRESS ENZYME ACTIVITIES IN THE ACITRETIN AND METHOTREXATE GIVEN RATS

Shadi SADIGH

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Department of Biology

Ph.D, February /2021

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emine DIRAMAN

In this study, in rats given acitretin (ACT) and methotrexate (MTX), the effect of using α -lipoic acid (ALA) on oxidative stress enzyme activities has been investigated. The protective effect of ALA, an antioxidant, on the activities of glutathione reductase (GSSG-R) and superoxide dismutase (SOD), which are oxidative stress enzymes, on the liver tissue of rats given ACT and MTX was examined.

A total of 50 wistar albino male rats were used in the study. Study groups were formed as Control group (C), ALA group, ACT + MTX group and ACT + MTX + ALA. Rats were fasted for 24 hours before injection. Injection procedures were carried out every morning at the same time. ACT, MTX and ALA were dissolved in 0.9% NaCl. ACT (20mg / kg / day), MTX (20mg / kg / week), ALA (50mg / kg / day) and their combinations were given to rats by intraperitoneal injection at body weight level. The activities of GSSG-R and SOD enzymes were measured in these liver tissue samples taken from rats.

When the ALA, ACT + MTX and ACT + MTX + ALA groups were compared with the K group, a gradually decreasing inhibition of GSSG-R enzyme activity was observed. When the 3rd, 5th and 7th days of the ALA group were compared with the control group, activation of the SOD enzyme activity was observed.

When the results of GSSG-R and SOD enzyme activities were evaluated, when the antioxidant ALA was added to the ACT + MTX combination, a high increase in enzyme activities was observed, especially on the 7th day. Thus, it was concluded that ALA exerts a protective effect in the ACT + MTX combination application and can prevent hepatotoxicity at a certain level. Based on these differences, it can be said that oxidative stress caused by MTX and ACT can be significantly reduced by ALA supplementation to liver cell damage.

Based on these differences, it can be said that liver cell damage caused by oxidative stress caused by MTX and ACT can be significantly reduced as a result of ALA supplementation.

Keywords: Liver, Acitretin, Methotrexate, Alpha lipoic acid

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca tüm çalışmalarımda bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Emine Dıraman'a, bilimsel katkı ve deneyimleri ile destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Zafer Eren'e, Dr. Öğretim Üyesi Banu Eren'e, tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yanımda olan bilimsel ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Dr. Fatma Gönül Solmaz'a, Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Sevil İplikçioğlu, Burcu BOZ, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü hocalarıma ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım. Tüm hayatım boyunca olduğu gibi Doktora döneminde de maddi manevi benden desteklerini esirgemeyen sevgili annem ve babama teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu Doktora Tez Çalışması, PYO.FEN.1904.18.01 No'lu Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Shadi SADİGH

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Asitretin	4
2.1.1. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması.....	4
2.1.2. Farmakokinetiği	6
2.1.3. Dozaj ve Uygulama	7
2.1.4. Yan Etkileri ve Yapılan Çalışmalar	7
2.2. Metotreksat	10
2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması.....	10
2.2.2. Farmakokinetiği	11
2.2.3. Dozaj ve Uygulama	13
2.2.4. Yan Etkileri ve Yapılan Çalışmalar	13
2.3. Serbest Radikaller	16
2.4. Antioksidan	19
2.4.1. Glutasyon Redüktaz (EC 1.6.4.2).....	20
2.4.2. Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1.)	21
2.5. Rat'ın Karaciğer Anatomisi	22
2.6. Alfa Lipoik Asit	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Deneylerde Kullanılan Ratların Elde Edilmesi	26
3.2. Ratlara Uygulanan Maddeler	26
3.3. Deneyde Kullanılan Cihazlar	27
3.4. Araştırma Gruplarının Oluşturulması	27
3.5. Rat Karaciğerinin Homojenizasyonu ve Sonikasyonu.....	29
3.6. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Tayini.....	31
3.7. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini.....	32
3.8. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Glutasyon Redüktaz Aktivite Değişimi	34

4.2. Süperoksit Dismutaz Aktivite Değişimi	36
4.3. Glutasyon Redüktaz ve Süperoksit Dismutaz Aktivite Değişimlerinin Karşılaştırılması	38
5. TARTIşMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİş.....	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
O_2^\bullet	Süperoksit radikali
O_2^\bullet	Süperoksit anyonu
O_2^-	Süperoksit
O_2	Oksijen
O_3	Ozon
$\bullet\text{OH}$	Hidroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HNO^2	Nitroz asit
$\text{HOO}\bullet$	Hidroperoksil
HOCl	Hipoklorik Asit
L	Litre
$\text{LOO}\bullet$	Lipit peroksil
LOOH	Lipit peroksit
$\text{NO}\bullet$	Nitrik oksit
NO_2^+	Nitronyum katyonu
N_2O_4	Diazot tetraoksit
$\text{NOO}\bullet$	Peroksinitrik
NO^+	Nitrozil katyonu
$\text{RO}\bullet$	Alkoksil
$\text{ROO}-$	Peroksil
ROONO	Alkilperoksi nitrit
$\text{ROOH}\bullet$	Hidroperoksil Radikali
Rmp	Dakikadaki devir sayısı
$^\circ\text{C}$	Santigrat derece
Dk	Dakika
Sn	Saniye
M	Molar
mM	Milimetre
mg	Milligram
mL	Mililitre
μl	Mikrolitre
μmol	Mikromol
nm	Nanometre
cm	Santimetre
gr	Gram
ACT	Asitretin
ALA	Alfa lipoik asit
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit dismutaz
Cu/Zn- SOD	Bakır-çinko süperoksit dismutaz
Mn-SOD	Manganez-süperoksit dismutaz

EC-SOD	Ekstraselüler süperoksit dismutaz
Ni-SOD	Nikel süperoksit dismutaz
GPx	Peroksidaz
LA	Lipoik asit
DHLA	Dihidrolipoikasit
RNT	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RAR	Retinoik asit reseptörü
RXR	Retinoid X reseptörleri
RNA	Ribonükleik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAD ⁺	Okside Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Okside glutasyon
GSH	Redükte glutasyon
GSSG-R	Glutasyon redüktaz
İ.V	İntravenöz
İ.P	İntraperitoneal
MTX	Metotreksat
NaCl	Sodyum klorür
THF	Tetrahidrofolat
UV	Ultraviyole
UVA	Ultraviyole A
UVB	Ultraviyole B
FDA	Food and Drug Administration
TNF- α	İnterferon
K	Kontrol
HS	Hidroksisinnamik asit
PUVA	Psoralen ultraviyole A
NaOH	Sodyum hidroksit
dbUVB	Darband UVB
RDW	Kırmızı Kan Hücreleri Dağılım Genişliği
OTH	Ortalama trombosit hacmi
TLO	Trombosit/Lenfosit oranı
NLO	Nötrofil/Lenfosit oranı
kDa	Kilodalton
TTH	Toplam tepkime hacmi
SF	Seyreltme faktörü
TOEÖH	Tepkime ortamına eklenen örnek hacmi (ml)
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
Ng	Nanogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Etreinat'ın Kimyasal Yapısı.....	4
Şekil 2.2. ACT'nin Kimyasal Yapısı	4
Şekil 2.3. Vitamin A'nın Kimyasal Yapısı	5
Şekil 2.4. 13-cis- ACT'nin Kimyasal Yapısı	6
Şekil 2.5. MTX'in Kimyasal Yapısı	10
Şekil 2.6. Folik Asitin Kimyasal Yapısı.....	10
Şekil 2.7. Dihidrofolik Asitin Kimyasal Yapısı	10
Şekil 2.8. Serbest Radikalin Yapısı	16
Şekil 2.9. Serbest Radikalin Yapısı ile Reaktif Oksijen Türlerinin Hücre ve Dokular Üzerine Etkileri.....	18
Şekil 2.10. Antioksidan Grupları ve Özellikleri.....	20
Şekil 2.11. Rat Karaciğerinin Görünümü.....	23
Şekil 2.12. ALA ve DHLA Kimyasal Yapıları	24
Şekil 3.1. Deneylede Kullanılan Ratlar	26
Şekil 3.2. Ratlara i.p Enjeksiyon İşleminin Uygulanması.....	27
Şekil 3.3. Servikal Dislokasyon Yöntemi ile Öldürülmeden Önce	29
Şekil 3.4. Ratların, Karın ve Göğüs Kısımların Açılması	29
Şekil 3.5. Karaciğer Perfüzyonu İşlemi	30
Şekil 3.6. Sükroz İçerisindeki Karaciğer Dokuları	30
Şekil 4.1. ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi.....	34
Şekil 4.2. ACT+MTX verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi.....	35
Şekil 4.3. ACT+MTX+ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi	35
Şekil 4.4. ALA verilmiş ratlarda karaciğer SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi.....	36
Şekil 4.5. ACT+MTX verilmiş ratlarda karaciğer SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi.....	37
Şekil 4.6. ACT+MTX+ALA verilmiş ratlarda karaciğer SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi.....	37
Şekil 4.7. ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R ve SOD aktivitelerinin zamana bağlı olarak karşılaştırılmaları	39
Şekil 4.8. ACT+MTX verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R ve SOD aktivitelerinin zamana bağlı olarak karşılaştırılmaları	39
Şekil 4.9. ACT+MTX+ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R ve SOD aktivitelerinin zamana bağlı olarak karşılaştırılmaları	40

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Serbest Radikal Örnekleri.....	18
Tablo 3.1. Araştırma gruplarının oluşturulması.....	28
Tablo 3.2. GSSG-R aktivite ölçüm ortamı.....	31
Tablo 4.1. K, ALA, ACT+MTX ve ACT+MTX+ALA' nın karaciğer GSSG-R ve SOD değerlerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları.....	38

1. GİRİŞ

Yapısal ve fonksiyonel benzerliği olan A vitamini ya da ilişkili bileşikler retinoidler olarak isimlendirilir. Retinoidler, farklı biyolojik fonksiyonları düzenlenmede rol alırlar. Hücresel büyüme, farklılaşma ve morfogenezi etkiledikleri gibi tümör oluşumunu ve malign hücre büyümesini de inhibe ederek immunomodülatör etki gösterirler. Vitamin A analogu monoaromatik bir retinoid olan asitretin (ACT); hücrenin çoğalmasını, farklılaşmasını düzenleyerek ciltteki kalın tabakanın incelmeye ve inflamasyonda azalma görülmesine neden olur (Lee ve Koo, 2005). Sedef hastalığı (Psoriasis), kutanöz T hücreli lenfoma, keratinizasyon bozuklukları, kanser ve bazı prekanseröz durumlarda, likenoid ve granülomatöz gibi hastalıkların tedavisinde dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Kuenzli vd., 2008; Dunn vd., 2011).

ACT kullanımı, psoriasis tedavisinde etkili olabildiği gibi yan etkileri de oluşabilmektedir. Yan etkileri arasında; hiperlipidemi (Pearce vd., 2006), keilit, cilt-burun-göz-ağızda kuruluk, tırnak bozuklukları ve saçlarda seyrelme (Katz vd., 1999), transaminaz yüksekliği (Vahlquist, 1992) olabildiği gibi hepatoksisite, pankreatit, teratojenite gibi yan etkilerinin de meydana gelmesine neden olabilmektedir (Vahlquist, 1992; Pilkington ve Brogden, 1992; Roenigk vd., 1998; Önder, 2014, Dogra ve Yadav, 2014). ACT, etretinatın en büyük metabolite ve farmakolojik olarak da en aktif bileşimidir. Ayrıca etretinat ile eşit etkinlikte olmasına rağmen etretinata göre daha hızlı eliminasyonu nedeniyle farmakokinetik avantaja sahiptir. Bu nedenle Mart 1998'den beri etretinat'ın yerini almış bulunmaktadır (Lee ve Koo, 2005).

Metotreksat (MTX), ilk olarak 1950'li yılında kanser tedavisinde kullanılmaya başlanan ve günümüzde de dermatolojide, romatolojide önemli yeri olan bir antimetabolittir (Lagarce vd., 2015; Adams ve Urban, 2015). Bu nedenle anti inflamatuvar ve immünomodülatör etkileri de olduğundan (Cronstein, 1996) çok sayıda hematolojik rahatsızlıkların, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Abolmaali vd., 2013). Folik asidin benzeri ve antagonistiği olan MTX, dehidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek pürin ve pirimidin sentezinde rol alan timidilatın yapısına katılan tetrahidrofolat (THF) eksikliğine neden olur (Olsen, 1991; Gibson ve Perry, 1992). Böylece, pürin ve timidin sentezinde kullanılan folatı inhibe ederek DNA/RNA sentezi ve hücre

çoğalmasının bozulmasına yol açan anti-metabolit etkili olup uterus, osteojenik sarkom ve akut lenfoblastik lösemi, akciğer, meme, mesane kanseri tedavilerinde kullanılan kemoterapötik bir ajandır (Widemann ve Adamson, 2006; Xian vd., 2008; Karch, 2013). Yapılan çalışmalar çok sayıda hastalığın tedavisinde kullanılan MTX'in; hepatotoksisite, nefrotoksisite (Yan ve Sohal, 1998), tumor nekroz faktör-alfa (TNF- α)'nın salınımını artırdığı, oksidan-antioksidan dengeyi değiştirdiği ve antioksidan maddelerin verilmesi ile hepatotoksisitenin önlenebileceği göstermiştir (Kurt vd., 2015).

Organizmada tüm metabolik işlemlerin gerçekleştirilmesi, enzimlerin ve substratların katıldığı reaksiyonların düzenli bir şekilde sürdürülmesi ile mümkündür. Bu reaksiyonlar sırasında, yararlı birçok ürünlerle beraber özellikle fazla miktarda meydana geldiklerinde organizma için zararlı etkiler yapabilecek moleküller de oluşmaktadır. Bunlardan en önemlileri serbest radikallerdir. Bu moleküller, atomik orbitalinde eşleştirilmemiş elektron bulundurlar. Bundan dolayı kararlı ve stabil hale gelebilmek için bu elektronu vererek ya da alarak diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona girerler (Lobo vd., 2010; Phaniendra vd., 2015). Süperoksit radikali ve hidroksil radikali gibi yüksek reaktiviteye sahip olan serbest radikaller fazla olduğu zamanlarda protein, lipit, karbonhidrat, DNA/RNA gibi bileşiklerini okside ederek hücre dengesinin bozulmasına neden olur ve oksidatif stres ortaya çıkar (Halliwell, 1994). Bu durumda, ya hücre hasarına ya da hücre ölümüne yol açar (Koçak vd., 2019). Serbest radikaller, organizmada hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile oluşabilmektedir (Alidoost vd., 2006). Bunlar, nitrojen kaynaklı reaktif nitrojen türleri (RNT) ve oksijen kaynaklı reaktif oksijen türleri (ROT) şeklinde bulunurlar (Armağan, 2014). Organizma da bu serbest radikallere karşı birçok antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Böylece serbest oksijen radikal düzeylerinin artması organizma için risk oluştururken antioksidanlar bu riskleri ortadan kaldırmaktadır (Göktürk, 1999). Antioksidanlar, kimyasal yapıları nedeniyle; zincir yapıyı bozan, serbest radikal temizleyici ve metal bağlayıcılar olarak etki ederler (Alidoost vd., 2006).

Mitokondriyal enzimlerde bir kofaktör olarak görev yapan alfa lipoik asit (ALA), doğal olarak meydana gelen bir antioksidan olup enerji metabolizmasında kritik rol oynar (Cadenas, 2001; Packer vd., 2001). ALA'nın serbest radikalleri ve hücre içi reaktif oksijen türlerini uzaklaştırarak hücreyi oksidatif strese karşı koruma

görev aldığı (Armağan, 2014); inflamasyon, hücrenel yaşlanma, kalp damar hastalıkları ve kanser gibi oksidatif stresle ilişkili diğer bozuklukları da kapsayan pek çok patolojik durumu iyileştirebileceği (Uslu, 2019) belirtilmiştir. Bunların yanında C ve E vitaminlerinin rejenerasyonu, moleküler hasarları onarma, lipit peroksidasyonu oluşumuna karşı koruma, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzim aktivitelerinin artmasını sağlama, asetilkolin üretimini arttırmak gibi görevleri de bulunabilmektedir (Tetikçok vd., 2015). Ayrıca lipoik asitin kendi antioksidan etkilerinin yanısıra hidroksil, süperoksit ve peroksil (ROO-) radikallerini bağlayan, glutatyon gibi diğer antioksidanları yenileyici ve hücre içi düzeylerini artırıcı etkileri de vardır (Picon vd., 2012; Bharat vd., 2002).

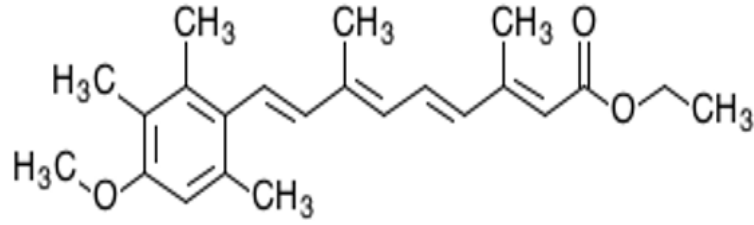
Bu çalışmada, *in vivo* koşullarda ACT ve MTX verilmiş ratlarda ALA kullanımının oksidatif stress enzim aktivitelerinin üzerine etkisi araştırılmıştır. ACT ve MTX verilmiş ratların karaciğer dokusunda, oksidatif stress enzimlerden olan SOD ve GSSG-R aktivitelerine antioksidan olan ALA'nın koruyucu etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, bu alanda daha sonra yapılabilecek olan çalışmalar için literatüre önemli bir kaynak sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

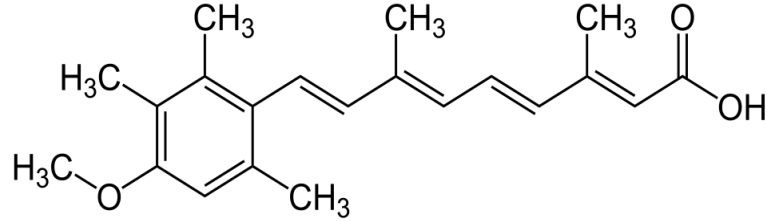
2.1. Asitretin

2.1.1. Kimyasal yapısı ve etki mekanizması

Sentetik retinoidlerden biri olan ACT, etretinatın hidrolizi sonucu oluşan karboksilik asit metabolitidir (Peek ve Digiovanna, 1993). Kimyasal formülü $C_{21}H_{26}O_3$, moleküler ağırlığı 326.42934 g/mol'dür (Kuenzli vd., 2008), (Şekil 2.1; Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Etretinat'ın Kimyasal Yapısı (Carretero vd., 2013).

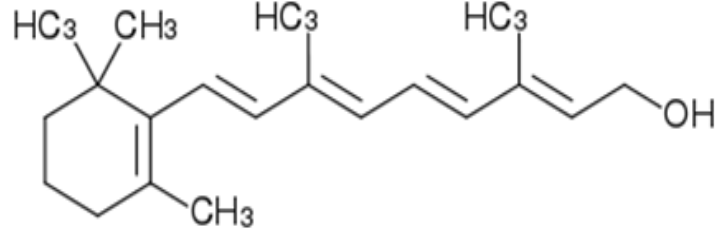


Şekil 2.2. ACT'nin Kimyasal Yapısı (Bhuiyan ve Chowdhury, 2016).

Geçmişten bugüne kadar geçen süreç dikkate alındığında üç nesil sentetik retinoid mevcuttur. Birinci nesil retinoidler arasında; tretinoin (tümü-trans RA), izotretinoin (13-cis-retinoik asit) ve alitretinoin (9-cis RA) bulunur. İkinci nesil retinoidler de etretinat ve ACT içerir. Üçüncü nesil retinoidler arasında da adapalen, tazaroten ve beksaroten bulunur. 1972'den beri ise etretinat ve ACT geliştirilmiştir. Etretinin retinoik asit metaboliti olan ACT, nispeten suda çözünür ve az miktarda da yağ dokusunda birikebilir (Zito ve Mazzoni, 2020).

ACT, retinoidler olarak bilinen bir ilaç grubuna aittir. Retinoidler, A vitamini ile benzer aktiviteye sahip, doğal ve sentetik bileşikler içerir. A vitamini, bağışıklık sistemini düzenlemeye yardımcı olmasının yanında hücre büyümesini,

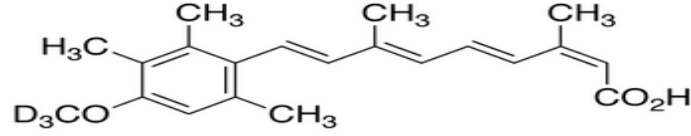
farklılaşmasını, çoğalmasını etkiler ve embriyonik gelişimde rol oynar (Ighani vd., 2019), (Şekil 2.3). ACT; grover, darier, lupus eritematozusta, pityriasis rubra pilaris (PRP), liken planus ve lameller iktiyozis gibi hastalıklar için de kullanım alanına sahip olabildiği gibi organ nakli olan hastalarda ve melanom dışı cilt kanserleri için kemoprevensiyon önlemi olarak da kullanılmaktadır (Kaushik ve Lebwohl, 2019).



Şekil 2.3. Vitamin A'nın Kimyasal Yapısı (Oruch ve Pryme, 2012)

Retinoitler, hücrelerde moleküler düzeydeki etkisini çekirdek reseptörleri olan retinoik asit reseptörleri (RAR) ve retinoid X reseptörleri(RXR)'e bağlanarak yapar. RAR ve RXR aileleri alfa, beta ve gama olmak üzere üç reseptör alt tipi içerir. Bunlar ise farklı genler tarafından kodlanır. RAR, bir heterodimer oluşturan RXR ile bağlanabilir. RXR, kendisi ile bağlanıp bir homodimer oluşturabilirler. Ayrıca tiroid hormon reseptörü, vitamin D3 reseptörü ve periferik peroksidazla aktifleştirilen reseptör (PPAR) gibi diğer çekirdek reseptörlerle de bağlanabilir (Chen vd., 2018).

ACT, antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkilere sahiptir. Epitelde, keratinosit farklılaşmasını normalleştirir. Ayrıca interlökin-6 (IL-6), göç engelleyici faktörle ilgili protein-8 (MRP-8) ve interferon-gama gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu da engeller (Zito ve Mazzoni, 2020). Etreinat, 1988'de yerini; daha az yan etkili, vücuttaki dokulardan daha hızlı atılan ve daha kısa ömürlü türevi olan ACT'ye bırakmıştır. ACT, ilk olarak karaciğer tarafından metabolize edilir ve 13-cis-ACT ve etretinat metabolitleri ortaya çıkar (Şekil 2.4). Vücutta sabit bir ACT ve 13-cis-ACT konsantrasyonlarına ulaşılabilme için yaklaşık her gün alınması ve bu sürecin 3 hafta boyunca uygulaması gerekmektedir (Carretero vd., 2013).



Şekil 2.4. 13-cis-ACT'nin Kimyasal Yapısı (Carretero vd., 2013)

ACT metabolizması ve onun metaboliti olan 13-cis-ACT ile üretilen konjugatlar; %16 ile %53 böbrek tarafından da elimine edilirler. %34 ile %54 safra içine salgılanırlar ve son olarak dışkı ile ortadan kaldırılabılırler. Hamilelikten sonra az miktarda ACT, anne sütüne geçiş sağlayabilir (30-40 ng /mL) (Rollman ve Pihl, 1990) ve bu orandan bebeğin maternal dozun sadece %1.5 kadar alacağı tahmin edilmektedir. İlacın etkileri izlendiğinde, seminal sıvıda çok düşük konsantrasyonlarda olduğu gözlenmiştir (Carretero vd., 2013).

2.1.2. Farmakokinetiği

ACT, dokuda birikimi olmadan plazma proteinlerine bağlanıp vücutta hızlı ve yaygın bir şekilde dağılır. Esas olarak karaciğerde metaboliti olan 13-cis-ACT, metabolizması sonucunda idrar ve dışkıyla atılır (Nguyen ve Wolverton, 2007). ACT'nin absorbe edilmesi, vücut içindeki etki yerine erişebilme hızı; yağlı gıdaların tüketimi ile artar (Mcnamara vd., 1988). Larsen vd (2000), insan hepatosit kültürlerinde yaptıkları çalışmada, alkolün dolaylı olarak ACT'nin hepatik enzimler için bir katalizör görevi yaptığını ve ACT'nin etretine dönüşümünü arttırdığını kanıtlamışlardır. Ayrıca FDA, ACT için en az 3 yıllık bir terapötik kontraseptif periyodu önermektedir. Bunun nedeni ise daha önceki güvenlik tecrübeleri ele alınarak klinik çalışmalarda gözlenen ACT ve etretinatın farmakokinetiği ile elde ettiği sonuçlardır. Veriler, bu ajanın farklılaşma ve proliferasyonun normalleşmesi ile inflamatuvar cevap ve nötrofil fonksiyonunda modifikasyon gibi etkilerinin olduğunu desteklemektedir. Etretinat ve ACT'nin etkileri eşit olmasına rağmen etretinata göre daha hızlı eliminasyon göstermesi ACT'nin farmakokinetik olarak daha avantajlı bir duruma getirir (Kuenzli vd., 2008).

Etretinatın yarı ömrü 100 gün, ACT'nin ise 2 gündür. ACT, etretinatın karboksilik asid metabolitidir (Pang vd., 2008). Yağ dokularında, karaciğer, böbrek, beyin ve testislerde etretinat birikmesi, ACT'ye karşı 50 kat daha fazla olduğu için, hasta ACT almayı bıraktıktan sonra bile retinoid aktivitesi uzun bir süre devam edebilir. Hedef hücreye etkisini gösterdiğinde, kullanılmayan ACT ve etretinat sitokrom P450 kompleksinin enzimatik etkisiyle polar metabolitlere dönüştürülür.

(Close, 2010). ACT, FDA tarafından psoriasis için onaylanmış ve monoterapi olarak etkili olan tek sistemik retinoiddir (Zito ve Mazzoni, 2020).

2.1.3. Dozaj ve uygulama

ACT'nin absorpsiyon ve metabolizma hızı kişiden kişiye farklılıklar göstermesi nedeniyle doz kişinin vücut ağırlığına göre hesaplanmalıdır. Yetişkinlerde başlangıç dozu, 2 ile 4 hafta boyunca 25 mg ya da 50 mg olmalıdır. Başlangıç tedavi süresinin ardından hastalıktaki ilgili kayda değer bir yanıt görülmeli ve yan etkiler belirgin olmalıdır. Başlangıç tedavi süresinin ardından yapılan değerlendirme de en az yan etkinin tespit edilmesi ve istenen terapötik yanıtı elde etmek için doz titrasyonu gerekli olabilir (Zito ve Mazzoni, 2020).

Optimal terapötik sonuçlar elde etmek için 6-8 haftalık bir süreçte 25 ile 50 mg arasında günlük doz uygulanabilir. Bazı vakalarda, dozun maksimum 75 mg/gün'e artırılması gerekebilir ama 50-75 mg/ gün gibi dozlarda ise, yan etki riski artmakta ve hastanın toleransı azaldığı için tedaviye devam edilememektedir. Bu nedenle uygulanacak dozun, etki, yan etki ve tedaviye uyumu optimize edecek şekilde hastaya göre ayarlanmalı ve klinik değerlendirme tedavinin 12. haftasından sonra yapılmalıdır (Menter vd., 2009).

Yapılan araştırmalar da darier hastalığı için 0.6 mg/kg/gün ACT tolere edebilir, fakat 10–25 mg/gün dozla başlayıp, daha sonra doz arttırılabilmektedir ve aynı zamanda izomorfik reaksiyonlar gösterebileceği için doz miktarı dikkatli bir şekilde artırılmalıdır (Şimşek vd., 2010). Lezyonları yeterli miktarda gerileyen psoriyazis hastalarında tedavi bırakılabilir. ACT, psoriyazis tedavisinde 0.5-1.0 mg/kg/gün dozunda tek başına kullanıldığında orta derecede etkinlik gösterir. Bununla birlikte, monoterapi çoğu kez lezyonların tamamının ortadan kaldırmasını sağlamaz, ACT'nin sinerjistik klinik etki ve yan etki riskini azaltma amacı ile topikal, fototerapi ya da sistemik ajanlarla bir arada kullanılmaktadır. ACT, fototerapimile birlikte kullandığında etkilisinin daha fazla olduğu bulunmuştur (Spuls vd., 2003).

2.1.4. Yan Etkileri ve Yapılan Çalışmalar

ACT'nin tedavi edici etkilerinin yanı sıra bazı dokular üzerinde toksik etkileri de tespit edilmiştir. Ayrıca antiproliferatif bir etkisi olabildiği gibi sağlıklı dokularda proliferasyona neden olduğu da gözlenmiştir. Doz aşımı semptomları, akut hipervitaminozis ile aynı olup baş ağrısı, vertigo, bulantı veya kusma, sersemlik,

sinirlilik ve kaşıntı tesbit edilmiştir. Akut doz aşımı durumunda ise ACT derhal kesilmelidir. Fakat preparatın düşük akut toksisitesinden dolayı spesifik bir tedavinin gerekli olmadığı belirlenmiştir. ACT'nin değişken emilimi sebebiyle ilaç alındıktan sonraki birkaç saat içinde gastrik lavaj uygulanması yararlı olabileceği de bildirilmiştir (Zito ve Mazzoni, 2020).

Retinoidlerin kullanımı ile birlikte keilit, saç kaybı, piyojenik granülom, transaminazlarda yükselme ve hiperlipidemi gibi yan etkiler görülebilmektedir. Bu yan etkiler bazı durumlar da ilacın kullanımının kesilmesini gerektirebilmektedir. Doz alımının düşürülmesi ile bu yan etkiler hafifletilebilir ya da ortaya çıkması engellenebilmektedir. Oral retinoidler, tümör baskılayıcı özelliğe sahip olabilmektedir ve fototerapi kombinasyonunda da deri kanserleri üzerinde engelleyici etkilere neden olmaktadır. Bu durumda ilaca karşı güvenirliliği artırmaktadır. Ancak bu kombinasyon, maliyette yükselmeye neden olabilmektedir (Cengiz ve Albayrak, 2014).

Günümüzde, retinoidlerin ve ikinci nesil bir retinoid olan ACT'nin yetişkin beyin işlevselliği ve homeostazındaki önemli rolü olduğu genomik ve genomik olmayan mekanizmalar ile kanıtlanmıştır. Guilherme vd., (2019)'in yaptıkları çalışmalarında; alzheimer hastalığı modeli olan insan ve ratlar üzerinde ACT'nin interlökin (IL)-6'yı arttırdığını gözlemlenmiştir. Bu sonuçların ise özellikle rat modelinde öğrenme ve hafıza bozukluklarının hafifletilmesine sebep olabilirliliği açıklanmıştır. Gisoni vd., (2019)'nin çalışmasında da palmoplantar sedef hastalığı tedavisinde düşük doz ACT ve MTX'in 12 hafta süresince kullanılması karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar ise; MTX'in daha etkili olduğunu ve bu ilaçların tedavide tam yanıt alınması için kullanılan süresinin 12 haftadan fazla olması tespit edilmiştir. Kullanılan ilaçların yan etkileri meydana geldiği zaman da daha düşük doz kullanılabilmesi önerilmiştir.

ACT, ile yapılan başka bir çalışmada periferik sinirlerin üzerinde tedaviden 1 ay sonra %23, duysal sinirlerin üzerinde ise 3 ay sonra %69 oranında etki bıraktığı belirlenmiştir (Chroni vd., 2001). Başka bir çalışmada, ACT tedavisi kısa süreli olarak uygulanmıştır. Tedavi sonrasında 2 hastada ACT kaynaklı periferik duysal nöropati durumunun olduğu görülmüştür. Tedavinin kesilmesinden yaklaşık 2-2,5 yıl sonrasında ise yapılan kontroller ile mevcut elektrofizyolojik bulgularda normalleşme olduğunu belirlenmiştir (Tsambaos vd., 2003).

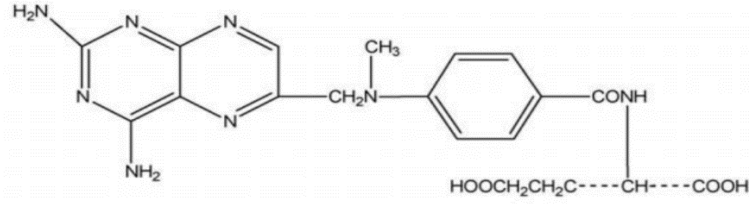
Grimmer vd., (2006), yaptıkları çalışmalarda da etretinat ve ACT kullanımının amiloidozlu hastalar üzerinde ki tedavi de başarılı sonuçlara ulaşıldığı bildirilmiştir (Grimmer vd., 2006). Choi vd., (2008), dirençli liken amiloidozu olan bir hastaya, 2 yıl boyunca 25 mg/gün etretinat verdikten sonra tedavisini sonlandırmışlardır. 7 yıl sonra hastanın şikayetlerinin nüks etmesi üzerine hastaya 10 mg/gün ACT başlatılmıştır ve 10 yıl boyunca tedavisini aynı oranda devam etmiştir. Hastanın şikayetleri tedavi sürecinde gerilemiş ancak tedavisi kesildiğinde birkaç hafta içinde semptomlarında yükselme olmuştur. Başka bir liken amiloidoz hastasında ise 25 mg/gün ACT tedavisi başladıktan sonra lezyonları ve kaşıntısı 2 ay içinde tamamen geçmiştir. İki yıl boyunca tedavisine devam edilen hastanın ACT kesildikten kısa süre içinde şikayetleri tekrar başlamıştır. Cengiz ve Albayrak (2014) yaptıkları çalışmada, liken amiloidoz hastalığının tanısı konduktan sonra 5 yıl boyunca topikal ve oral kortikosteroidleri, dbUVB tedavilerini almış ancak tedavileri kesildikten sonra şikayetleri haftalar içinde tekrar başlamıştır. Bunun üzerine, hastanın dirençli liken amiloidoz tanısıyla 9 ay boyunca oral ACT tedavisi verilmiştir (25 mg/gün). Dort haftada bir kontrole çağırılarak rutin laboratuvar tetkikleri yapılmıştır. Sırt ve göğüs bölgesinde ki lezyonlarda düzleşme ve kaşıntıda azalma gözlenmiştir. Sonuç olarak tedaviyi iyi tolere etmiştir, rutin laboratuvar tetkikleri normalleşmiştir. Cilt kuruluğu dışında yan etki görülmemiştir. 9 ay kontrollerinde nüks gözlenmemiştir. Zor bir tedaviye sahip olan liken amiloidoz hastalığının tedavisi için kullanılan ACT, tedavi süresi boyunca oluşabilecek yan etkilere karşı dikkatli bir şekilde takip edilmelidir.

Şendur vd., (2010), psoriasis hastalarında yaptıkları bir çalışmada ise iki ayrı tedaviyi karşılaştırmışlardır. Bu iki tedavi dar bant uvb ile retinoid-dar bant uvb olup, sonuçlar ise; tedavi süresince olumsuz bir duruma rastlanmamıştır. Tedaviler yarıda kesilmeyerek devam ettirilmiştir. Retinoid-dar bant uvb tedavisini alan hasta grubunda kolesterol (%18.2, 2 hasta) ve trigliserid (%36.4, 4 hasta) düzeylerinde yükselme gibi yan etkiler gözlenmiştir. Önerilen bir diyet uygulaması ile bu seviyelerde düşüş gözlenmiştir. Hatta bir hastada da (%9.1) geçici olarak karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme, 10 hastada (%90.9) da keilit izlenmiştir.

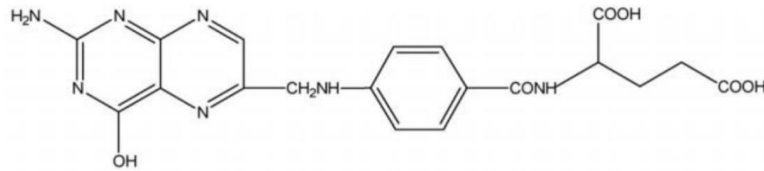
2.2. Metotreksat

2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması

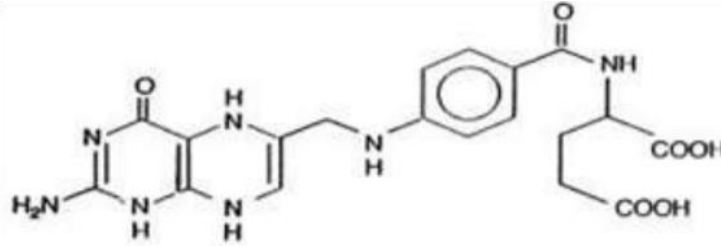
Lösemili çocukları tedavi etmek amacıyla ilk defa 1948 yılında kullanılmıştır (Dökmeci, 2007), (Şekil 2.5). Kanser kemoterapisinde en yaygın olarak kullanılan MTX, bir folik asit antimetabolitidir. Yapısı folik asite benzer ve dihidrofolik asit analogudur (Feagan ve Alfadhli, 2004; Uzar, 2006), (Şekil 2.6; Şekil 2.7).



Şekil 2.5. MTX'in Kimyasal Yapısı (Poljsak vd., 2001)



Şekil 2.6. Folik Asitin Kimyasal Yapısı (Poljsak vd., 2001)



Şekil 2.7. Dihidrofolik Asitin Kimyasal Yapısı (Uzar, 2006).

Klinikte şimdiye kadar birçok folat analogu kullanılmasına rağmen, MTX (4-amino-4-deoxy-10-N-methyl-pteroylglutamic acid) en yaygın kullanılanıdır. MTX sodyum, MTX LPF, rheumatrex, amethopterin ve NSC-740 olarak çeşitleri de bulunmaktadır (Jolivet vd., 1983). MTX, folik asit inhibitörüdür. Folik asit (folat, pteroylglutamic asit veya vitamin B9), pteridin halka yapısı veya glutamik asit kalıntılarının sayısı ile üretilen bir grup kimyasal yapı olarak bilinen vücut sağlığı, büyüme ve gelişme için gerekli suda çözünür B vitamindir (Xian vd., 2008). DNA'ya metil grubu sağlayarak DNA sentezini ve DNA metilasyonunu etkileyebilen bir kanser önleyicisidir (Choi ve Mason, 2001). Aynı zamanda DNA bazlarının

sentezi için gereklidir (Lucock, 2004). MTX; zihinsel hastalıklar, kardiyovasküler, kanser ve doğum kusurlarına karşı korunma sırasında metabolizmaya yardımcı olmada önemli rol oynar (Melo vd., 2017). MTX, dihidrofolatı (DHF) tetrahidrofolata (THF) çeviren dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe eder (Dutz ve Ho, 1998). THF, pürin ve pirimidin sentezinin önemli bir parçası olan timidilatın üretiminde rol oynar (Flores ve Kerdel, 2000). Pürin ve pirimidin nükleotidleri deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) sentezinde rol oynarlar. Aynı zamanda MTX, pürin ve pirimidin inhibitörü olduğundan, bu durum hastalarda immünsupresif ve antineoplastik olarak kullanılmaktadır (Cole vd., 2006; Güven vd., 2017). MTX, hücrede uzun süre kalabilmesi nedeniyle latent sitotoksik etkileri vardır; hücre döngüsünün S fazında sitotoksik etkiler yapar ve hücre bölünmeye başladığı zaman hücreyi öldürürler.

MTX, yüksek dozlarda antiproliferatif olarak lösemi, lenfoma, osteosarkom, baş ve boyun tümörleri, akciğer kanseri, meme kanseri gibi kanserlerin tedavisinde kullanılırken (Taşlı vd., 2011), düşük dozda antiinflamatuvar ve immünsupresif etkilerinden dolayı refrakter romatoid artrit, juvenil romatoid artrit ve dirençli psöriazis hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır (Conway ve Carey, 2017; Chabner vd., 2007). Ayrıca immünmodülatör, anti-inflamatuvar ve antimikrobiyal etkileri de bulunmaktadır (Fiehn, 2008). Yapılan başka bir çalışmada ise MTX'in doğrudan antioksidan özelliğe sahip olduğu da belirlenmiştir (Zimmerman vd., 2017).

2.2.2. Farmakokinetiği

Dokulara iyi dağılım gösteren bir ajan olan MTX; özellikle böbrek, safra kesesi, dalak, karaciğer ve deride yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Hatta böbreklerde haftalarca karaciğerde ise aylarca kalabildiği bildirilmiştir (Uslu, 2019). Böbrek, karaciğer, bağırsak gibi dokularda absorbe edildikten sonra MTX, poliglutamat formuna dönüştürülür. MTX-poliglutamat formu dokuda daha uzun süre kalabilmektedir. Karaciğerde de metabolize olan MTX ve metabolitleri böbrekten hem glomerüler filtrasyon hem de proksimal tübüler sekresyonla atılır (Demirel ve Kınap, 2010).

MTX'in oral absorpsiyonunun vücuda alınan miktarına bağlı olduğu da belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada MTX'in düşük dozda oral alımının absorpsiyonunun %70 civarında olduğu gösterilmiştir (Herman vd., 1989). Bunun

yanında yüksek dozu; akut lenfoblastik lösemi, osteosarkom, koriokarsinom, lenfoma (non-Hodgkin lenfoma), meme kanseri, mesane kanseri, baş ve boyun kanseri gibi çeşitli kötü huylu tümörlerin kemoterapi rejimlerinde kullanılmıştır. Düşük dozları ise antiinflamatuvar ve hücre bölünmelerini inhibe edici etkileri nedeniyle romatoid poliartrit, psöriazis, sindirim kanalının inflamatuvar hastalıkları ve graft-versus-Host hastalığı gibi malign olmayan hastalıkların tedavisinde kullanılabilmiştir (Goodman, vd 2009).

Kanser hücreleri membranından geçişi kolaylaştırmak düşüncesiyle MTX'in yüksek dozlarda uygulanması da önerilmektedir. MTX'in bu yüksek dozları hücrede poliglutamatların oluşumunu ve dolayısıyla ilacın etki süresini artırmaktadır. Ancak bu yüksek dozların etkinliği normal dozlarla karşılaştırıldığında önemli farklılık ortaya çıkardığı bildirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, yüksek doz tedavisini daha etkili hale getirebilmek için 5-formil-tetra folik asit (lökovorin) (LV), eklenmesi yapılmıştır (Dökmeci, 2007; Kutluana vd., 2011).

Rutinde intravenöz (i.v.) uygulanan MTX, gastrointestinal emilim ile de alınabilir. Fakat bu sadece 25 mg altı dozlar için geçerli bir durumdur. Doz alımı arttığı durumlarda emilim tam anlamıyla gerçekleşemez. İlacın uygulama aşamasından sonra temizlenme işlemi mevcuttur. İlk faz hızlı dağılım aşamasıdır. Daha sonra 2-3 saatlik yarılanma ömrü ile 2. faz, hemen ardından ise 8-10 saatlik bir yarılanma ömrü ile 3. faz ve son aşama gelir. 3. fazın uzadığı sırada eğer böbrek yetmezliği durumu oluşmuş ise ciltte, gastrointestinal epitelde ve kemik iliğinde toksisite durumları gözlenebilir. Böbrek, safra kesesi, deri ve karaciğer gibi dokulara dağılımının iyi ve yüksek konsantrasyonlarda olduğu belirlenmiştir. Buna karşın periton gibi doku boşluklarında ise yavaş dağılım gösterir. Bu boşluklarda oluşabilecek genişlikler aynı zamanda depo olarak görev yapmaktadır. Bu nedenle salınım yavaşlar, plazma konsantrasyonunda ki artış uzar ve toksisite de ciddi olarak görüntülenir (Goodman vd., 2009).

MTX'in eliminasyonu, uygulama şekline ve uygulanan doza bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. İnsanlar da i.v. uygulama sonrası 24 saat içinde %80-90'ı idrar ile atılırken %10 ya da daha az bir oranda uygulanan dozu ise safra ile atılabilmektedir (Hardman ve Limbird, 2001).

2.2.3. Dozaj ve uygulama

Günlük alındığı zaman tehlike oluşturabilen MTX'in haftada bir veya 15 günde bir kez alınması önerilmiştir. Tedaviye 2.5 mg/hafta test dozu ile başlanabildiği gibi test dozuna bağlı kalmadan da tedavi uygulanabilmektedir. MTX'in dermatolojik uygulamalarda ki başlangıç dozu 5-15 mg/hafta olarak verilmektedir. Tedavilerdeki ortalama doz aralığı ise 5-30 mg/hafta olarak belirlenmiştir. Böylece tedavide 30 mg/hafta doz üzerine çıkılmaması önerilmektedir (Roenigk vd., 1998). Yine de hastaya verilen dozun tedavide alınan yanıtı göre ayarlanması önemlidir. Böylece verilen doz hasta tarafından iyi bir şekilde tolere edilirse doz artırımı iki haftada bir olmak üzere 2.5 mg artırılabilir. Klinik olarak düzelmeye görüldükten sonra aylık 2.5 mg doz düşürülebilir ve tedavi bitirilebilmektedir. Yaşlı hastalar için azalan renal klirensten dolayı daha düşük dozda MTX uygulanmalıdır. Braun vd., (2008) ve Arthur vd., (1999) yaptıkları çalışmalarında haftalık dozun 25 mg üstüne çıkarsa parenteral ya da subkutan uygulamasını önermişlerdir. MTX oral olarak solüsyon veya tablet şeklinde kullanılabilir (Warren ve Griffiths, 2008). Tedaviye başlanmadan önce kemik iliği, hepatik ve renal fonksiyonlara bakılmalı ve normal olduğu belirtilmelidir. Renal fonksiyonlarda bir azalma meydana gelmişse MTX düşük dozda ve monitörize edilip verilmelidir. Karaciğer testleri hatta gerekli durumlarda biyopsisi yapılmalıdır (Zachariae vd.,1989).

2.2.4. Yan Etkileri ve Yapılan Çalışmalar

MTX'in yararlarına karşı aynı zamanda hastalığın tipi, şiddeti, doz sıklığı, hastaların risk faktörleri, moleküler apoptotik faktörler ve tedavi süresi sonucunda sağlıklı hücrelere etki etmesi de tesbit edilmiştir. Aynı zamanda gastrointestinal sistem, karaciğer fonksiyonlarında bozulma, transaminazlarda yükselme, ateş, hematolojik değişiklikler (kemik iliği süpresyonu, makrositoz) testis, sinir, kemik iliği ve böbrek üzerinde toksik etkileri de ortaya çıkmıştır (Jahovic vd., 2003; Şentürk, 2016). Yüksek dozda uygulanması alopesi, fotosensitivite, deskuamasyon ve ciltte eriteme sebep olurken düşük dozlarda saçlarda seyrelemeye neden olduğu gözlemlenmiştir (Adamson vd., 2016).

Sato vd., (2001)'nin yaptıkları çalışma da MTX, epitelial hücrelerde eozinofillerin alımına ve akciğer fibroblastlarını uyarılmasına sebep olduğu

gösterilmiştir. MTX, THF eksikliğine yol açarak pürin, pirimidin metabolizması ve DNA sentezini içeren pek çok metabolik yolu etkiler (Jolivet vd., 1983). Böylece hem hücre ölümünü indükleyip hem de kanser ve kanser olmayan hücrelerde, büyümeyi ve proliferasyonu baskılayarak özellikle hızla bölünen hücreler üzerinde toksik etkiye neden olur (Sritulasi ve Vanithakumari, 2012).

MTX'in en çok yan etkileri bağırsakta; emilim bozukluğna sebep olarak belirlenmiştir (Junko vd., 2001). İnce bağırsaktaki kript hücrelerinde bıraktığı yan etkinin mukoza hasarı olduğu ve bunun en şiddetli hali ise MTX'in uygulanmasından 72 saat sonra olduğu tesbit edilmiştir (Clarke vd., 2006). Ayrıca sindirim sistemi mukozasında inflamasyon oluşturmasıyla bulantı, kusma, anoreksi, karın ağrısı, gastrointestinal sistemde kanamaya yol açabilmiştir. MTX uygulamasının uzun vadeli kullanım sonrası karaciğer ve böbreklerde hasar oluşumu da gözlenmiştir. Bunu takiben nefrotoksisite ve hepatoksisite ile birlikte pulmoner infiltrasyon ve fibrosis gibi yan etkiler de bildirilmiştir. MTX'in böbrek üzerindeki etkisi düşük dozda görülebilmekte ve böbrek tübüllerine çökerek tübülopatiye de neden olabildiği gözlemlenmiştir (Bertram ve Katzung, 2004).

Sayılmaz vd., (2016), yaptığı çalışmada MTX'in testis üzerindeki yan etkileri nedeniyle infertiliteye neden olabildiğini; sperm DNA'sına ve testislerdeki seminifer tübüllere zarar verdiğini ve sperm sayısını azalttığını belirtmiştir. MTX ile rat testislerinde oluşturulan hasar üzerine silimarinin koruyucu etkilerinin araştırılması yapılmıştır (Atli, 2019). Sonuç olarak; oksidatif stresin artmasına, apoptozisin uyarılmasına ve streoidogenesinin bozulmasına bağlı olarak 7 günlük MTX etkisinin testis dokusunda hasar oluşturduğu gözlenmiştir. Böylece ratlarda MTX kaynaklı testiküler toksisite üzerine silimarinin antiapoptotik, antioksidan etki mekanizmalarıyla koruyucu özellik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

MTX'in nörotoksisite mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Fakat birçok hipotez bu nörotoksisiteyi miyelin, lipidler ve proteinlerin oluşumu için önemli olan transmetilasyon tepkimeleriyle MTX'in etkileşmesi şeklinde açıklamıştır. Bunun sonucunda da MTX; akut, subakut veya kronik nörotoksisiteye neden olabilir (Arja vd., 1998). MTX, ayrıca düşük indükleyici ve teratojeniktir. Bu sebeple MTX kullanan kadın ve erkek bireylerde ilaç kesildikten yaklaşık üç ay sonrasına kadar kontrasepsiyon önerilmiştir (Abolmaali vd., 2013).

El-Agamy vd., (2016), MTX ile indüklenmiş olan hepatotoksisite üzerine araştırma yapmışlardır. MTX'in dış mitokondri membranında Bax translokasyonuna sebep olması sonucunda mitokondriyal geçirgenlikte dolayısıyla sitozole doğru sitokrom-c akışında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu durumda hepatosellüler apoptozis durumunda Bax ve Caspase-3 ekspresyonlarında artışın, Bcl-2 ekspresyonunda ise azalmanın olacağını göstermektedir. Visentin vd., (2012), yaptıkları araştırmalarında MTX toksisitesine karşı folinik asit ile yapılan kurtarma tedavisinin uygulanması sonucu hücrede DHFR blok ajanının kaldırıldığını belirtmişlerdir. Kalantari vd., (2018), yaptıkları araştırmada inülinin, MTX kaynaklı karaciğer toksisitesine karşı antioksidan aktivitelere ve hepatoprotektif etkilere sahip olduğunu göstermişlerdir. MTX ile tedavi edilen ratlarda inülin ön tedavisinin, alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz'ın serum seviyesini önemli ölçüde azalttığını aynı zamanda karaciğer dokusundaki GSH, SOD ve CAT aktivitelerini etkili bir şekilde arttığını ve malondialdehit (MDA) seviyesini düşürdüğünü belirlemişlerdir. Bu sonuçlarla yola çıkarak, MTX'in karaciğer toksisitesindeki etkisi için umut verici bir hepatoprotektif doğal ajan ve antioksidan özelliğe sahip olan inülinin ortaya çıkmasını belirlemişlerdir.

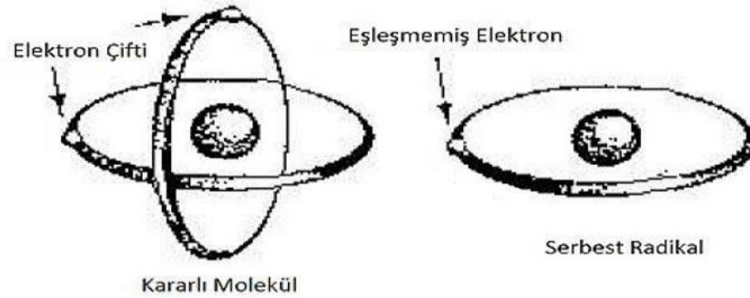
Ektopik gebelik tedavisinde uygulanan tek doz MTX'in başarı oranının değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuç olarak tek doz MTX kullanılması ektopik gebeliğin tedavisi için etkin ve güvenli bir seçenek olduğu belirlenmiştir (Günay vd., 2019). Başka bir çalışmada, MTX ile karaciğer hasarı oluşturulmuş ratlarda silimarinin koruyucu etkilerinin araştırılması yapılmıştır. Çalışmada MTX uygulanan deney hayvanlarının karaciğerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin; oksidatif hasarın artmasına bağlı olduğu ve MTX verilmesinin kan, karaciğer, böbrek ve ince bağırsakta glutatyon (GSH) seviyelerinin azalmasına, inflamatuvar yanıtın göstergesi olan myeloperoksidaz aktivitesinin ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyelerinin artmasına neden olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak MTX, karaciğerde önemli doku hasarına neden olmuştur ve silimarinin antioksidan özelliği bu hasarı iyi yönde etki etmiştir (Kocaman ve Dabak, 2019).

Savage vd., (2020) yaptıkları araştırmalarında MTX'in, hidradenitis suppurativa (HS) hastalarına fayda sağlayabilen immünomodülatör bir tedavi oluşunu; düşük vücut kitle indeksleri olan yaşlı hastalarda etkili bir tedavi

seçeneğini temsil edebileceğini ancak eşzamanlı biyolojik tedavi alan hastalarda fayda sağlayamadığını tesbit etmişlerdir. Huang vd., (2020); kanser ve otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir terapötik ajan olan MTX'in, bağırsak hasarına ve mikrobiyota düzensizliğine karşı LV'nin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, bağırsak mikrobiyotasının dengesi ve bileşiminin, MTX ile indüklenen bağırsak toksisitesine karşı LV aracılı korumada önemli bir role sahip olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada da; erkek ratlarda MTX indüklü testis hasarı üzerine, üzüm ve turuncgillerde bulunan bir flavanon glikozit olan Narinjin'in (NRG) koruyucu etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, özellikle 100 mg/kg dozda NRG tedavisinin MTX indüklü testis toksisitesini azalttığını belirlemişlerdir (Aksu vd., 2018).

2.3. Serbest Radikaller

Elektronlar atomlarda orbital adı verilen yörüngelerde çiftler halinde bulunurlar. Serbest radikaller ise, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküler yapıları vardır. Birçok metabolik ve patofizyolojik olaylarda etkin rola sahiptirler ve aktiviteleri yüksek moleküller olarak tesbit edilmiştir (Poljsak vd., 2011; Marzatico ve Café, 1993), (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Serbest Radikalın Yapısı (Ginsberg vd., 2005).

Hücrede serbest radikaller, hem çevresel oksidanların (ultraviyole radyasyon, ilaç toksisitesi, sigara dumanı, yoğun fiziksel aktivite, alkol, hava kirliliği), hem de metabolik süreçlerin (hücre solunum) etkisi ile sürekli meydana gelir (Poljsak vd., 2013). Serbest radikal oluşumunun artması, oksidatif stresi tetiklemektedir (Berk vd., 2008). Pozitif yüklü, nötral ya da negatif yüklü olabilirler (Akkuş, 1995). Serbest radikaller, dokularda DNA, protein ve lipid ile birleşerek, normal fonksiyonlarını

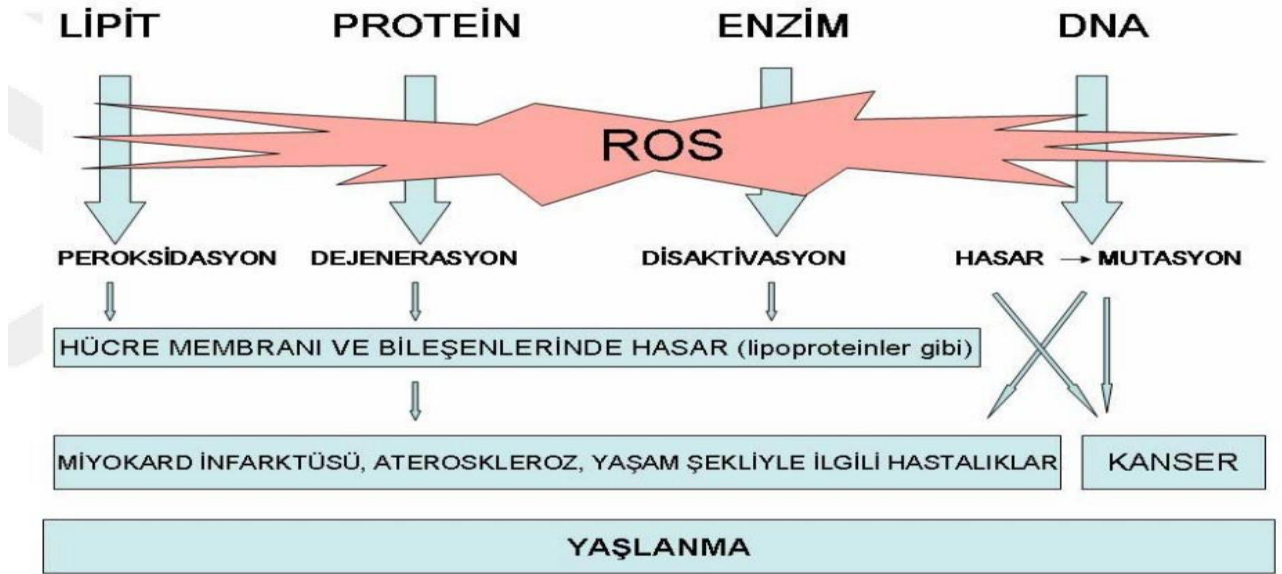
yapamaz hale dönüştürürler (Nazlıkul, 2013). Bu zararın yaşanmayı teşvik ettiği, ayrıca kalp damar hastalıkları, katarakt, çeşitli kanser türleri, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları ve bağışıklık sisteminde zayıflama gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Meydani, 2001). Bu durumlara neden olan radikallerin başlıcaları; süperoksit anyonu, tekli oksijen hidroksi, peroksi ve alloksi radikalleridir. Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır (Cankurtaran vd., 2005).

Reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) vücutta sürekli olarak oksidatif metabolizma, mitokondriyal biyoenerjetik ve bağışıklık fonksiyonu ile üretilir. En önemli zararları ise hücrede ROT'ları meydana getirir (Roleira vd., 2015). 50 ve üzeri yaşlardan itibaren ROT yapımı belirgin şekilde artmaktadır. Hücrede oksijenin %90'ı oksidatif fosforilasyonun merkezi olan mitokondrilerde tüketilir. Bunların %2'i ROT'lara dönüşür. ROT; DNA, protein, lipidler ve tüm yapılardaki moleküllere saldırır. DNA molekül oksidasyonu ile genetik messenger DNA hasarı, kontrolsüz büyüme-malignensi oluşumu, hücre bölünmesinin duraklaması, lipid peroksidasyonu ile hücre membran hasarı ve ateroskleroz hızlanması gerçekleşir (Cankurtaran vd., 2005). Lipit peroksil radikalleri ise MDA'ya dönüşür. Lipit radikalleri DNA ile birlikte de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünleri oluşturur. ROT ekzojen veya endojen olarak oluşabilir. Hormonlar, bazı kimyasallar, ilaçlar ekzojen ROT'u oluştururlar. Endojen ROT, normal hücre metabolizması ve oksidatif fosforilasyon sonrası meydana gelir. Lipit radikalleri hücredeki dengeyi alt üst ederler ve hücre zarından kolayca geçiş sağlayabilir (Knight, 1995), (Tablo 2.1), (Şekil 2.9). Oksidatif stres ROT'lar ve antioksidanlar arasındaki dengenin ROT'lara karşı bozulması sonucu ortaya çıkar (Gürsoy, 2008).

Tablo 2.1 Serbest Radikal Örnekleri (Ginsberg vd., 2005)

Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	Alkilperoksi nitrit	ROONO
	Nitronyum katyonu	NO ₂₊
	Diazot tetraoksit	N ₂ O ₄
	Nitrik Oksit	NO [•]
	Azot Dioksit	NOO [•]
	Peroksinitrik	ONOO [•]
	Nitroz asit	HNO ²
	Nitrozil katyonu	NO ⁺
Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	Süperoksit radikali	O ₂ ^{-•}
	Singlet Oksijen	¹ O ₂
	Ozon	O ³
	Hidroksil Radikali	•OH
	Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂
	Hidroperoksil Radikali	ROOH [•]
	Hipoklorik Asit	HOCl

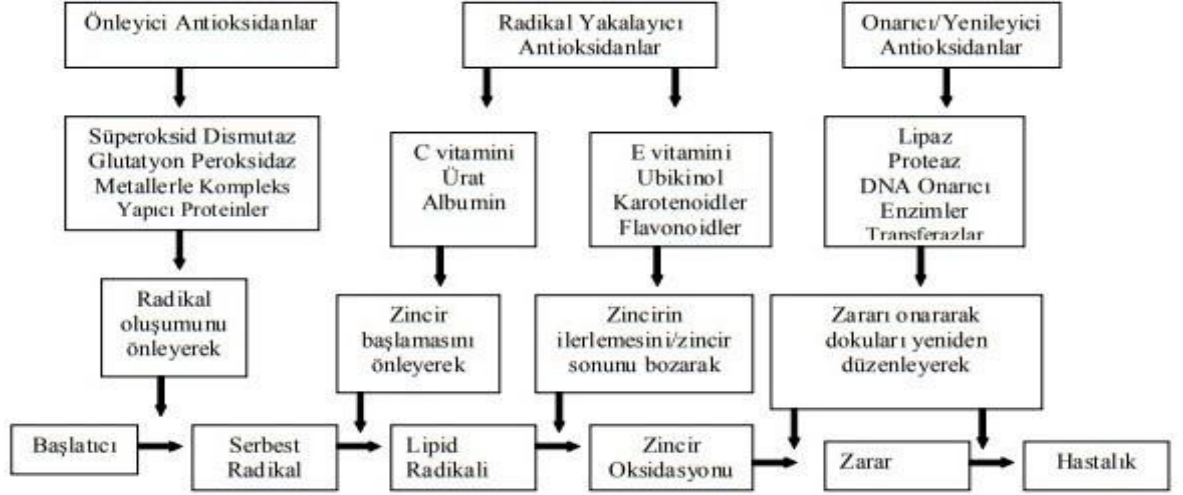
HÜCRE VE DOKULARA ROS'UN ETKİSİ



Şekil 2.9. Serbest Radikalın Yapısı ile Reaktif Oksijen Türlerinin Hücre Dokular Üzerine Etkileri (Gürsoy, 2008).

2.4. Antioksidan

Serbest radikallere bağlı oluşan oksidasyon olaylarını engelleyen, serbest radikalleri stabilize etme yeteneğindeki maddeler antioksidan olarak adlandırılmaktadır (Elliot, 1999). Antioksidanlar mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; enzimatiktirler ve radikaller ile reaksiyona girerek yeni serbest radikal oluşumunu ve radikallerin daha zararlı formlara dönüşmesini önleyen bileşiklerdir. Bu kategoride yer alan GSH-Px, SOD ve CAT gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedir (Diplock, 1998). Sayısız non enzimatik antioksidanlar arasında ise A, E, C vitaminleri ve flavonoidler sayılabilir (gt ve Atay, 2012), (şekil 2.10). İkincil antioksidanlar ise çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dnştremezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallerle kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler. Ayrıca hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β -karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilir (Reische vd., 2002). İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre; oksijen gidericiler ve indirgeme ajanları (Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfitler), kelat yapıcılar (Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit), singlet oksijen gidericiler (β -Karoten, likopen ve lutein) olarak  gruba ayrılabilirler (Reische vd., 2002).



Şekil 2.10. Antioksidan Grupları ve Özellikleri (Willcox vd., 2008)

ROT'un etkisiz hale gelmesinde doğrudan rol oynayan başlıca enzimatik antioksidanlar; GSSG-R, SOD, GSH-Px, CAT'dır (Gupta vd., 2014). Antioksidan işlevini ifade eden iki temel oksidasyon azaltma şekli mevcut olmaktadır. Birincisi, molekül içindeki oksijen kazancıyla hidrojen kaybını içeren oksidasyondur. İkincisi ise elektronların hidrojen kazancı anlamına gelir ve oksijen kaybı ile ifade edilmektedir. Böylece, oksidan olan molekül ile reaksiyona girerek oksidan azalır (Coronado vd., 2015).

2.4.1. Glutasyon Redüktaz (EC 1.6.4.2)

Glutasyon redüktaz (GSSG-R) enzimi, oksijen ve serbest radikalleri etkisiz hale getirmekle birlikte indirgenmiş glutasyon/yükseltgenmiş glutasyon (GSH/GSSG) oranını koruma altına alarak DNA'yı, protein sentezini ve hayati hücrel fonksiyonların yüksek oranda düzenlenmesine sebep olarak, tespit edilmiştir (Sentürk vd., 2009; Keha ve Küfrevioğlu, 2010).

Bir flavoprotein olan GSSG-R, antioksidan etki göstererek koenzim olan NADPH yardımıyla GSSG'ü, GSH'a indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir. NADPH'nin hücre içi seviyesinin azalması GSSG-R'in inaktive olmasına sebep olur.

Bunun sonucunda glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyonu okside ederek H₂O₂'yi H₂O'ya indirgemektedir. GSSG'nin tekrar GSH'ya indirgenmesi ise GSSG-R tarafından sağlanmaktadır. DNA sentezi gibi birçok hayati hücresel fonksiyonun düzenlenmesi, GSH/GSSG oranının korunmasıyla sağlanır (Gérard-Monnier ve Chaudiere, 1996). Bu nedenle GSH/GSSG oranı önem taşımaktadır (Krauth-Siegel vd., 2005).

Daha önce yapılan çalışmalarda; GSSG-R enzimi, prokaryotik ve ökaryotik pek çok kaynaktan saflaştırılarak karakterize edilmiştir. Bu kaynakları; domuz eritrositi, sığır eritrositi, rat karaciğeri, sığır karaciğeri, koyun beyni, koyun karaciğeri, gökkuşuğu alabalığı ve hindi karaciğer dokusu gibi memeli dokuları; mantarlar, siyanobakteri gibi mikroorganizmalar; buğday, mısır, bezelye ve ıspanak gibi bitkisel kaynaklar oluşturmaktadır (Beütler, 1969). Saflaştırılan kaynaklarda GSSG-R enziminin molekül kütlesi 70-140 kDa arasında değiştiği, homodimerik bir enzim olduğu ve her bir alt birimine bir flavin adenin dinükleotit'in (FAD) bağlandığı rapor edilmiştir (Taşer ve Çiftçi, 2012).

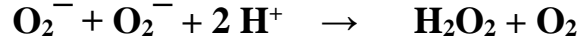
GSSG-R inhibitörleri, kanser ve sıtma tedavisinde uygulanmaktadır (Sentürk vd., 2009). Aynı zamanda GSSG-R enziminden klinik olarak karaciğer ve kanser hastalıklarının teşhisinde, beslenmede, riboflavin yetersizliğinin ölçümünde ve bazı genetik bozuklukların belirlenmesinde yararlanılmaktadır (Toribio vd., 1996).

2.4.2. Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1.)

Hücre sel ve ekstraselüler olmak üzere iki çeşidi bulunan SOD, reaktif oksijene karşı ilk savunma hattını oluşturan ve reaksiyon hızını artırmak için yeterince güçlü bir enzimdir. Vücutta en çok sitoplazmada bulunan bakır/çinko-süperoksit (Cu/Zn-SOD), mitokondrilerde manganez-süperoksit dismutaz (Mn-SOD) ve hücre dışı sıvılarda da ekstraselüler süperoksit dismutaz (EC-SOD) olarak bulunur (Sen ve Chakraborty, 2011). Cu/Zn-SOD, 1969 yılında Mc Cord ve Fridovic (1969) yaptıkları çalışmada ortaya çıkarmışlardır (Ayas, 2007). Mn-SOD ise 1970 yılında Kedde ve ark. tarafından tanımlanmıştır (Rosen vd., 1995). *Streptomyces griseus* bakterisinde Ni-SOD şeklinde izoenzimi bulunur. Aynı zamanda Fe-SOD (anaerobik) ve Mn-SOD (aerobik) enzimlerinin kullanıldığı sistemler bulunmaktadır (Baskin ve Salem, 1997). Kas hücrelerinde SOD aktivitesinin % 65-85'i sitozolde yapılıdır (Finaud ve Filaire, 2006).

Reaksiyon sürecinde süperoksitten daha radikal bileşiklerin yapımı SOD tarafından bloke edilir. SOD; CAT ve GPx'den farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. SOD, mitokondride oksijenden oluşan ilk reaktif ürün olan O_2^- 'nin daha az reaktifi olan H_2O_2 ve O_2 'e dönüşümünü katalizler (Derviş, 2011). Ayrıca SOD, bir süperoksit molekülünü H_2O_2 'e indirgeyip diğer süperoksit molekülünü O_2 molekülüne yükseltir (Memişoğulları, 2005).

SOD



Çeşitli patolojik nedenlerle süperoksit yapımının artması durumunda süperoksit'e özgül tepkimeler görülmeye başlar. Aynı zamanda SOD enzimi, yüksek katalitik aktiviteye sahiptir ve bu durum da süperoksit birikmesine hücre içinde izin vermez (Kılınç ve Kılınç, 2002).

2.5. Rat'ın Karaciğer Anatomisi

Karın boşluğunda sağ üst kısımda diyafram posterior yüzeyi ile temas halinde bulunan lobüle bir organdır (Maynard ve Downes, 2019). Ratların karaciğerleri sol lateral-sol medial, sağ lateral-sağ medial ve kaudal loblardan oluşmaktadır. Karaciğer kapsülü, her lobu ayrı ayrı sarmakta olup loblar sadece porta hepatis düzeyinde birleşmektedirler. Kaudal lob, sol lateral lobun inferior yüzeyine bir periton yaprağı ile yapışmaktadır. Portal ven, hepatik arter ve safra kanalları, her lob için portal hepatis düzeyinde ve karaciğer parankiminin hemen dışında dallanmaktadır. Ratlarda; safra kesesi bulunmaz (İde, 2003). Uzun bir safra kanalı, pankreas üzerinden duodenuma dökülür. Sol lob ve orta lob tek lob şeklindedir ve orta lob round ligamanının yapıştığı derin bir çentiğe sahiptir. Sağ lob, iki küçük alt loba ayrılır. Kaudal lob ise parakaval ve spiegel loblarına ayrılır. Sağ, sol ve kaudal lob, bir portal dala sahipken; orta lob iki portal dala sahiptir. Sol ve sağ lobun bir kısmı, kaudal lob bir büyük hepatik vene drene olurken orta lob üç hepatik vene drene olmaktadır. Rat karaciğeri ve insan karaciğerinin temel yapıları, benzerlik gösterir (Goyri-O'Neill vd., 2013), (Şekil 2.11).

Karaciğer, ilaçlar tarafından indüklenen toksisiteye karşı oldukça yatkındır ve aynı zamanda ilaçların neden olduğu zararların azaltılması ve biyolojik dönüşümleri için merkezi bir rolü vardır (Mukherjee vd., 2013).



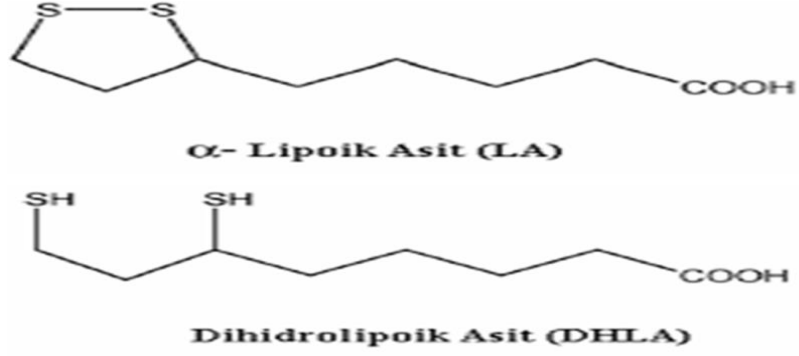
Şekil 2.11. Rat Karaciğerinin Görünümü

2.6. Alfa Lipoik Asit

Alfa lipoik asit (ALA) vücutta doğal olarak üretilmesine rağmen 1937 yılına kadar varlığı keşfedilememiştir. Ancak 1937 yılında *Laktobasillus*'un gelişimi için gerekli olan, growth faktör denen patates ekstresinin bir komponenti olarak bulunmuştur (Taher, 2017). 1950 yılında Reed ve ark, karaciğer rezidüsünün 100 kilogramından 30 miligram lipoik asit (LA) saflaştırmışlardır (Reed vd., 1950). İnsanlarda, bitkilerde ve hayvanlarda az miktarda sentezlenen LA, birçok klinikte önemli bir antioksidan olarak kullanılmaktadır (Tetikçok vd., 2015).

Oksidize formu genellikle LA veya ALA, indirgenmiş formu ise dihidrolipoikasit (DHHLA) olarak adlandırılır (Şekil 2.12). ALA, antioksidan özelliği olan tiyol grubuna sahip moleküldür (Golbidi vd., 2011). LA'nın hem DHHLA formu hemde ALA formu antioksidan özelliği göstermektedir. Fakat ALA formu orta seviyede kabul edilirken, DHHLA formu en iyi antioksidan olarak kabul edilmektedir (Tetikçok vd., 2015). Vücutta doğal olarak indirgenmiş halde bulunur (Shay vd., 2009). ALA, gıdalar ile alındığında, birçok doku içerisinde indirgenmiş durumu olan DHHLA formuna dönüştürülmektedir. ALA ve DHHLA, birçok ROS türünü yağda ve suda etkisizleştirir (Packer vd., 1995).

ALA, intravenöz kullanıldığında veya oral alındığında hızla absorbe edilir. DHHLA, diğer antioksidanlar ile sinerjik bir şekilde de çalışabilmektedir. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisizleştirdikten sonra indirgenirler. DHHLA; vitamin E, askorbat, GSH ve koenzim Q₁₀ gibi antioksidanların indirgenmiş ve radikal durumlarını, doğrudan veya dolaylı yollarla yine eski durumlarına getirir (Karaca, 2008).



Şekil 2.12. ALA ve DHLA Kimyasal Yapıları (Güvenç, 2008; Cadenas, 2001)

ALA, hepatotoksisiteyi engelleyerek toksinleri vücuttan temizlemeye yardımcı olur. ALA'nın vücutta iki çeşit işlem yaptığı düşünülmektedir. Birincisi, metabolik süreçlerde koenzim olarak görev almasıdır. İkincisi ise beslenme desteği olarak kullanıldığında, ulaşılan dozlarda antioksidan özellikler göstermesidir (Tetikçok vd., 2015).

Antioksidanların yararlarının yanı sıra kısa yarılanma ömürlü olmalarıyla birlikte enzimler gibi membranlardan geçemezler. Bunlara karşı lipozomal antioksidan da mevcuttur. Bu da yağda veya suda çözünebilir antioksidan kombinasyonlar veya kimyasal enzimatik antioksidanı anlamına gelir (Cornelli, 2009). Bu terimi karşılayan tek antioksidan ALA'dır (Uygur vd., 2019).

ALA, bazı antioksidanların detoksifikasyon ve rejenerasyonunda görev alan ve önemli bir antioksidan olan GSH sentezinin artırılmasında diğer hücrel sinyal moleküllerinin ve transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinin düzenlenmesinde ve insülin sinyallerinin artırılmasında rol oynamaktadır (Lu vd., 2002; Tetikçok vd., 2015). LA aynı zamanda vitamin E'yi rejenera eden vitamin C ve glutatyon ile birbirlerini etkileyerek membranları korur. İskemi reperfüzyon hasarı, katarakt oluşumu, diyabet, sinir dejenerasyonu, radyasyon hasarı ve HIV aktivasyonu gibi oksidatif stres modellerinin bir kısmında lipoik asit verilmesinin yararlı olabileceği belirlenmiştir (Packer vd., 1995).

Özkan vd (2005); üçlü antioksidan (C vitamini, ALA ve E vitamini) takviyesinin diyabetik ratların beyinlerinde total lipid, kolesterol düzeyleri ve yağ asidi bileşimi üzerine etkisini incelemiştir. ALA ve E vitamini karın içine (50 mg/kg) enjeksiyon yoluyla verilmiştir, C vitamini ise (50 mg/kg) içtikleri suya eklenmiştir. Bunun sonucunda üçlü antioksidan kullanımının diyabetik ve non-diyabetik ratların beyinlerinde araşidonik asit düzeyini koruduğu anlaşılmıştır. Çakır

vd (2015)'de MTX'in karaciğer mitokondrisi üzerine etkisini incelemek amacıyla çalışma yapmışlardır. ALA (35 mg/kg) oral yolla ve MTX (20 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar ise mitokondrial enzimlerin salınmasını sağladığı etkisi ile birlikte ALA'nın karaciğer mitokondrisi üzerine olumlu sonucunu ortaya çıkarmaktadır.

ALA'nın primer kaynaklarından diyetle alınan miktarı 50-600 mg'dır (Shay vd., 2009). İnsanlarda antioksidan etki gösterebilmesi için en uygun doz 100-200 mg/gün olarak belirlenmiştir (Bustamante vd., 1998). Takaishi vd., (2007), diyetle alınan ALA'nın, transepitelyal taşınma için CaCO₂ hücre hattı kullandığı ve bu hattı etkileyen reaksiyonları araştırmışlardır. Sonuçlar; ALA'nın, pH'ya bağımlı olarak hücre tabakalarını hızlı bir şekilde geçtiğini göstermiştir. Tanskripsiyon, translasyon ve substrat rekabeti sonrası düzenleme mekanizmaları gibi birçok faktörün ALA'nın emilim özelliklerini etkilediği bilinmektedir. ALA; gerek antioksidan özellikleri gerekse kansere karşı etkileriyle hücrel kanser tedavileri için ideal bir ajan olmuştur (Shay vd., 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneyleerde Kullanılan Ratların Elde Edilmesi

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan izinle (2018/13) gerçekleştirilmiştir. Deneyle hayvanları, Deneyle Hayvanları Araştırma Merkezi (DEHAM)'dan temin edilmiştir. Çalışmada aynı jenerasyondan olmasına özen gösterilerek seçilen Wistar albino ırkı erkek erişkin ratlar tercih edilmiştir. Bunlar 50 tane olup yaşları 10 haftalık ve ağırlıkları 200- 250 gr arasında değişmiştir. Ratlar plastik kafeslerde, standart fare yemi ile beslenmiş ve su serbest olarak verilmiştir. Ratlar enjeksiyondan önceki son 24 saat aç bırakılmışlardır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deneyleerde Kullanılan Ratlar

3.2. Ratlara Uygulanan Maddeler

Ratlara; anestezi olarak 50 mg/kg ketamin HCl (ketalar) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompul) uygulanmıştır. Ayrıca KOÇAK FARMA ilaç ve kimya sanayi A.Ş. tarafından üretilen ve eczanelerde MTX-Koçak Flakon 50mg/5ml olarak satılan ilacın etken maddesi olan MTX; Meda Pharma ilaçları firması tarafından üretilen ve eczanelerde THİOCTACİD® 600 mg HR Film Tablet adı ile satılan ilacın etken maddesi olan ALA ve Teva İlaçları firması tarafından üretilen ve eczanelerde 'Neotigason' adı ile satılan ilacın etken maddesi olan ACT periton içi i.p. olarak uygulanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Ratlara i.p Enjeksiyon İşleminin Uygulanması

3.3. Deneyde Kullanılan Cihazlar:

- Hassas Terazı (Ohaus Adventure Pro AV 264C)
- Santrifüj (Kubota Centrifuges 3500; eppendorf tüpleri için)
- Spektrofotometre (Jenway 6105 UV/VİS)
- Derin dondurucu -80 °C
- Homojenizatör (Sonics vibracell vcx 130)

3.4. Araştırma Gruplarının Oluşturulması

Laboratuvar çalışmalarımızda; herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol grubu (K), ALA, MTX+ACT, MTX+ACT+ALA verilmiş grup olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubunda 5, diğer gruplarda 15'er rat kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Araştırma gruplarının oluşturulması

Günler	1.Grup (K)	2.Grup (ALA)	3.Grup (ACT+MTX)	4. Grup (ACT+MTX + ALA)
1. gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT	ACT+ALA
2. gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT+MTX	ACT +ALA +MTX
3. gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT	ACT+ALA
4. gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT	ACT+ALA
5. gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT	ACT+ALA
6. gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT	ACT+ALA
7.gün	Hiçbir işlem yapılmamıştır	ALA	ACT	ACT+ALA

ACT; Asitretin, MTX; Metotreksat, ALA; Alfa Lipoik Asit

1.Grup (n=5): K grubudur. Hiçbir işlem yapılmamıştır. Sakrifiye edildikten sonra karaciğerleri çıkarılmıştır.

2.Grup (n=15): ALA grubudur. ALA, her gün aynı saatlerde i.p. olarak verilmiştir. Grubun 5 tanesi 3. gün, 5 tanesi 5. gün, 5 tanesi 7. gün sakrifiye edilmiş ve karaciğerleri çıkarılmıştır.

3. Grup (n=15): ACT+MTX grubudur. ACT her gün aynı saatlerde i.p. olarak verilmiştir. MTX ise haftalık bir doz olarak uygulandığı için enjeksiyonun 2. günü i.p. yoluyla yapılmıştır. Grubun 5 tanesi 3. gün, 5 tanesi 5. gün, 5 tanesi 7. gün sakrifiye edilmiş ve karaciğerleri çıkarılmıştır.

4. Grup (n=15): ACT+MTX + ALA grubudur. ACT ve ALA her gün aynı saatlerde i.p. olarak verilmiştir. MTX ise enjeksiyonun 2. günü yapılmıştır. Grubun 5 tanesi 3. gün, 5 tanesi 5. gün, 5 tanesi 7. gün sakrifiye edilmiş ve karaciğerleri çıkarılmıştır (Tablo 3.1)

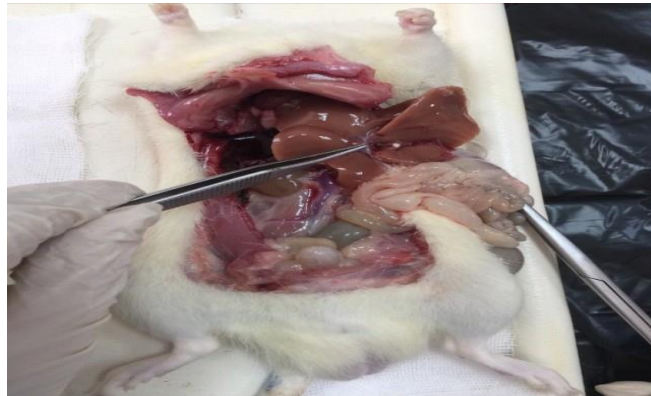
Yapılan enjeksiyon işlemleri, her sabah saat 8:30-9:00 arasında gerçekleştirilmiştir. ACT, MTX ve ALA % 0.9'luk NaCl'de çözülerek ACT (20 mg/kg/gün) (An vd., 2017), MTX (20 mg/kg/hafta) (An vd., 2017), ALA (50 mg/kg/gün) (Maritim vd., 2003) ve bunların kombinasyonları da vücut ağırlığı düzeyinde i.p. yolla ratlara uygulanmıştır.

3. 5. Rat Karaciğerinin Homojenizasyonu ve Sonikasyonu

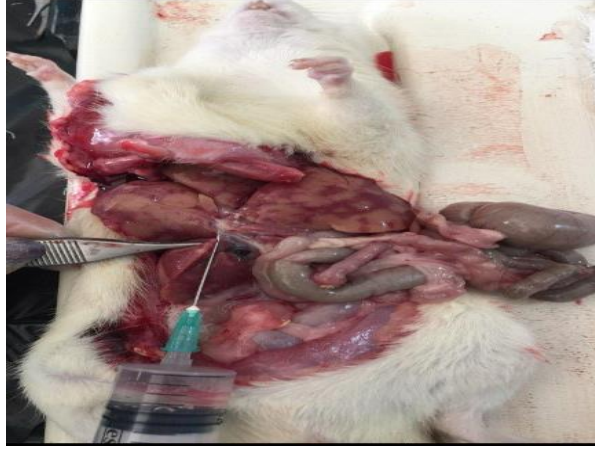
Ratlara genel anestezi olarak 50 mg/kg ketamin HCl (ketalar) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompul) verilip servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildirmiştir. Daha sonra karın ve göğüs kısımları açılıp %0,9'luk NaCl ile karaciğer perfüzyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3; 3.4 ve 3.5). Bunun sonucunda kan, karaciğer dokusundan uzaklaştırılmış ve karaciğerler hemen çıkarılmıştır. SOD ve GSSG-R aktivitesi içeren biyokimyasal analizlere geçinceye kadar perfüzyon işleminden sonra çıkarılan karaciğerler hassas terazide (Ohaus Adventure Pro AV 264C) tartılmıştır ve ağırlıklarının iki katı 0.25 M'lık izotonik sükröz içeren etiketli kaplara konulmuş ve -80°C'de derin dondurucuda saklanmıştır (Şekil 3.6.). Histolojik inceleme için alınan dokular da daha sonra çalışılmak üzere %10'luk nötral tamponlanmış formalin solusyonu bulunan etiketli kavanozlara konulmuştur. Derin dondurucudan çıkarılan karaciğerler +4°C'de çözülmeye bırakılmıştır. Bu doku örnekleri çözüldükten sonra hassas terazide tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Servikal Dislokasyon Yöntemi ile Öldürülmeden Önce



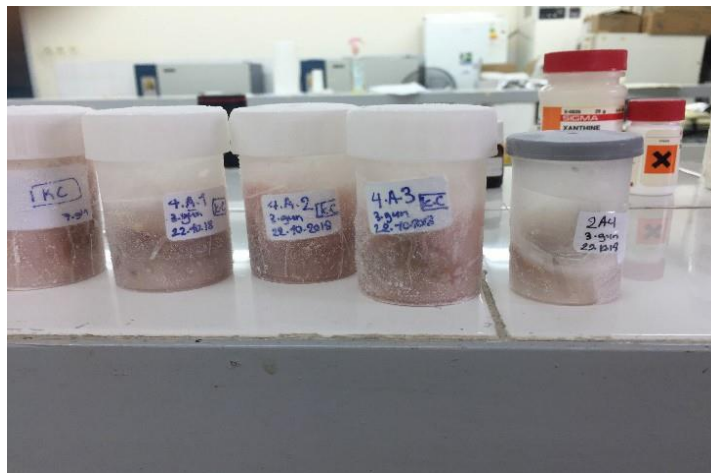
Şekil 3.4. Ratların, Karın ve Göğüs Kısımların Açılması



Şekil 3.5. Karaciğer Perfüzyonu İşlemi

Plastik tüp içerisine alınan doku örneklerine 1/10 (w/v) oranında soğuk 0,1 M'lık, pH:7,4 fosfat tamponu çözeltisi eklenmiştir. Sonra bu doku örnekleri buz içerisindeki plastik tüpte fosfat tamponu içinde makas ile gözle görünmez hale gelene kadar parçalanmıştır. Ardından doku örnekleri, Ultra-Turrax T.25 tipi homojenizatörde 20 sn süre 10 sn aralıkla 8000 rpm de 3 kere homojenize edilmiştir. Örneklerin içinde bulunduğu cam şişe buz kabına alınarak, ultrasonikasyon aletinde (Sonics vibracell vcx 130) 20 sn süre 10 sn aralıklarla 6 kere %25 amplitud da homojenizasyonu yapılmıştır. Tüm bu işlemler, buzlu ortamda gerçekleşmiştir.

Elde edilen homojenatlar +4 °C'de 15.000 rpm'de 15dk santrifüj (Kubota Centrifuges 3500) edilmiştir. Enzim aktivitesi ölçümleri için süpernatantları ayrılarak etiketli ependorflara konulmuştur. Ölçüm yapılana kadar süpernatantlar -80 °C'de saklanmıştır.



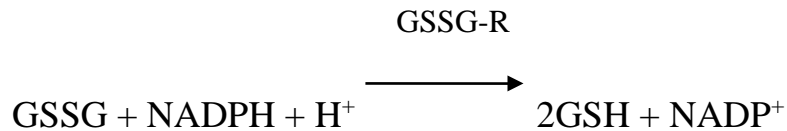
Şekil 3.6. Sükröz İçerisindeki Karaciğer Dokuları

3.6. Glutatyon Redüktaz Enzim Aktivite Tayini

GSSG-R aktivitesi; 4 mM EDTA içeren pH 7.4, 0.1 M'lık potasyum fosfat tamponu, 1 mM GSSG, 0.1 mM NADPH varlığında NADPH'nin oksidasyonunun 340 nm'de ve 37 °C'de spektrofotometrik olarak izlenmesi ile ölçülmüştür (Tablo 3.1). Böylece GSSG-R enziminin aktivite ölçümünde reaksiyona giren NADPH'ın 340 nm'de maksimum absorbans vermesi esassından yararlanılmıştır ve bu enzim katalizlediği reaksiyonda NADPH'ın oksitlenmesine bağlı olarak, 340 nm'deki absorbans düşüşü takip edilerek enzim aktivitesi belirlenmiştir. NADPH'nin 340 nm'deki molar soğurma katsayısı: 6.22 mM⁻¹ cm⁻¹ olarak kullanıldı (Öğüş ve Özer, 1998; Carlberg ve Mannervik, 1981).

Tablo 3.2. GSSG-R aktivite ölçüm ortamı (0.5 ml)

Stok çözelti	µl	Son derişim
0.2 M Potasyum fosfat tamponu, pH 7.4	250	0.1 M
80 mM EDTA	25	4 mM
20 mM okside glutatyon (GSSG)	25	1 mM
2 mM NADPH	25	0.1 mM
Distile su	170	—
En son 5 µl enzim eklenerek tepkime başlatıldı.		



Bir ünite GSSG-R; 37 °C'de, dakikada 1 µmol NADPH'ı oksitleyen enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

$$\text{GSSG-R Aktivitesi (Ünite / ml)} = (\Delta A_{340} \times \text{TTH}) \times \text{SF} / (6.22 \times \text{TOEÖH})$$

formül ile GSSG-R Aktivitesi hesaplanmıştır.

- TTH: Toplam tepkime hacmi (ml)
- SF: Seyreltme faktörü
- 6.22: NADPH'nin 340 nm'deki absorpsiyon katsayısı ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
- TOEÖH: Tepkime ortamına eklenen örnek hacmi (ml)

$$\text{GSSG-R Özgül Aktivitesi} = \text{GSSG-R Aktivitesi} / \text{Protein Miktarı}$$

(IU/mg protein)

(mg)

3.7. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

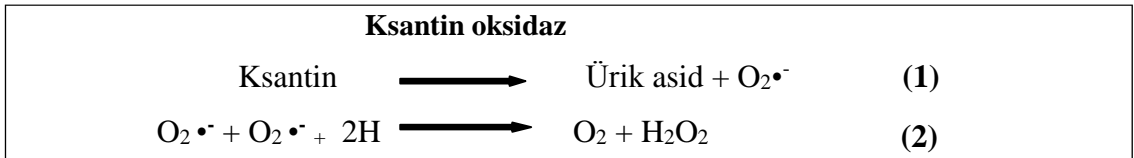
SOD aktivitesi, Mc Cord ve Fridovich (1969)'in spektrofotometrik metodu ve Flohé ve Otting'in (1984) metodu ile belirlenmiştir.

A çözeltisi:

0.76 mg (5µl) ksantin'in 10ml 0.001 N NaOH'daki çözeltisi ve 24.8mg (2µmol) sitokrom c'nin 100ml 50 Mm pH 7.8 ve 0.1 M EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi karıştırılmıştır (Bu çözelti +4 °C'de 3 gün kararlıdır).

B çözeltisi:

Taze bir şekilde hazırlanan ksantin oksidazın 0.1mM EDTA'daki çözeltisi 0.2 U/ml.



Yöntem:

→ Spektrofotometre (Jenway 6105 UV/VIS.) tüpüne 3ml distile su konulmuştur. Kör (curve tüp) olarak kullanılmıştır. Alet kör tüpe karşı sıfırlanmıştır.

→ 3 ml'lik küvete 2.9 ml A çözeltisi eklendi. Daha sonra 25 µl örnek konulmuştur.

→ Reaksiyon 75 µl B çözeltisinin eklenmesiyle başlatılmıştır.

→ Hızlı bir şekilde karıştırılıp 550nm'de 2dk. 30sn aralıklarla absorbans değişimi köre karşı okunmuştur.

→ Kontrol tüpü için örnek yerine 25 µl distile su eklendi ve köre karşı 2 dk boyunca 30 sn aralıkla okunmuştur.

→ Örnekleri değerlendirme işlemi kontrol tüpüne göre yapılmıştır.

→ Kalibrasyon grafiği çizmek için belli konsantrasyondaki (5×10^{-7} M) SOD çözeltisinin 5 µl, 10 µl ve 15 µl'deki bilinen değerlerine karşılık elde edilen % inhibisyon değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu işlem için saf SOD enzimi kullanılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\Delta\text{OD Konulan Örnek}}{\Delta\text{OD Blank}} \times 100$$

Formülü ile hesaplamalar yapılmıştır ($\Delta\text{OD} = \text{Optik Dansite}$).

SOD'un bir ünitesi, Xanthine/Xanthine Oksidaz sistemi tarafından meydana getirilen süperoksit anyonu ile Sitokrom C'nin redüksiyonunun inhibisyonun %50'si için gerekli enzimin miktarı olarak belirlenir. 550 nm'de spektrofotometrik olarak da aktivitesi izlenir.

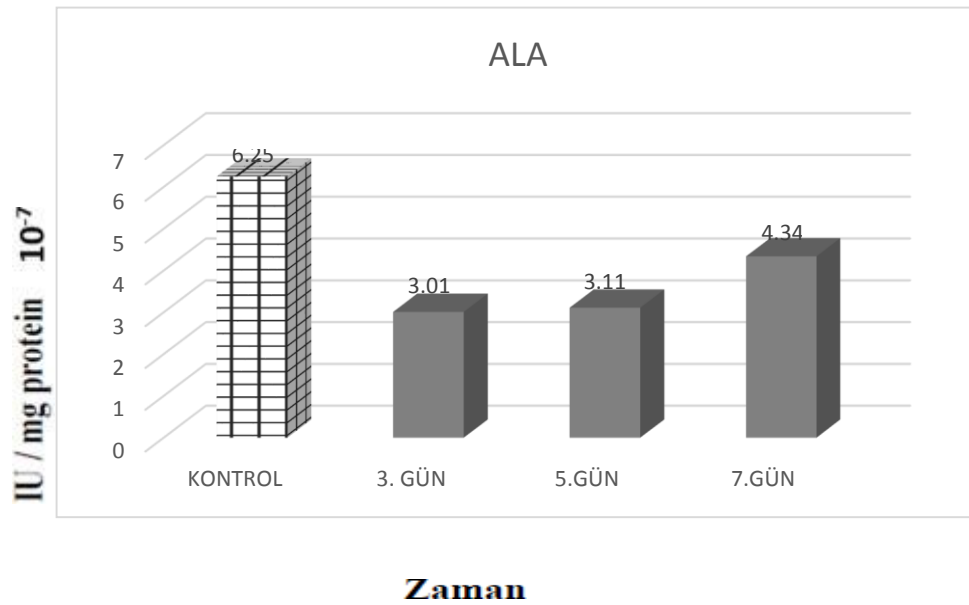
3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS programı kullanılmıştır. Analizlerde normallik varsayımı sağlanmadığından dolayı bir yönlü varyans analizinin parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal Wallis testi yapılmıştır. SOD ölçüm sonuçlarının 10^6 ve GSSG-R ölçüm sonuçlarının 10^7 katı alındıktan sonra istatistiksel analiz yapılmıştır. Grafikler Microsoft Excel programında hazırlanmıştır.

4. BULGULAR

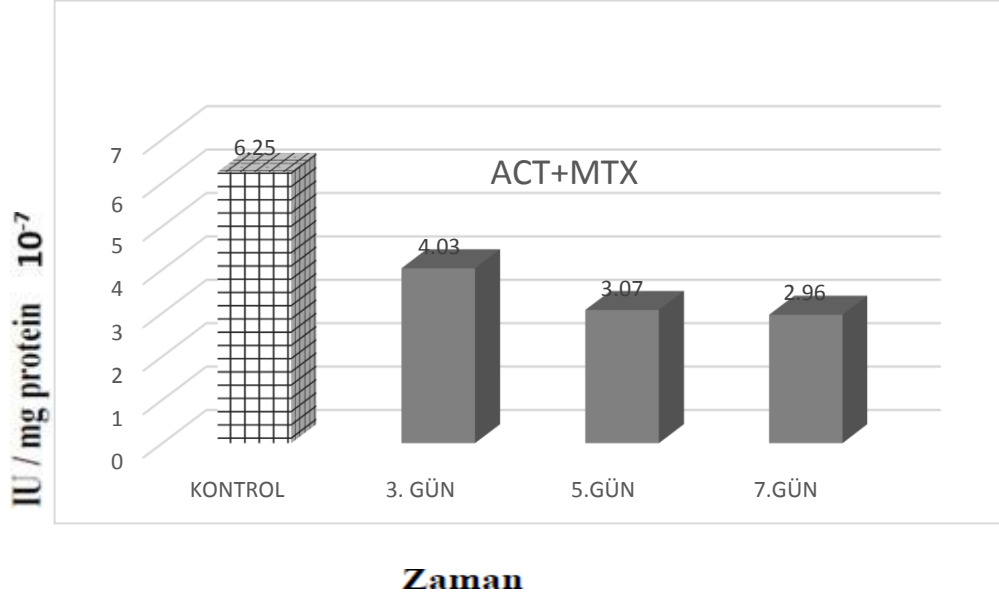
4.1. Glutasyon Redüktaz Aktivite Değişimi

Kontrol grubu ve deney gruplarında, ALA'nın karaciğer GSSG-R enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. ALA enjeksiyonunu izleyen 3., 5. ve 7. Günlerdeki aktivite değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrole göre giderek azalan inhibisyon gözlenmiştir. ALA verilen grupta, kontrol grubuna oranla karaciğer GSSG-R aktivitesi yaklaşık olarak 3. günde % 51.84, 5. günde % 50.24 ve 7. günde % 30.40 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.1).



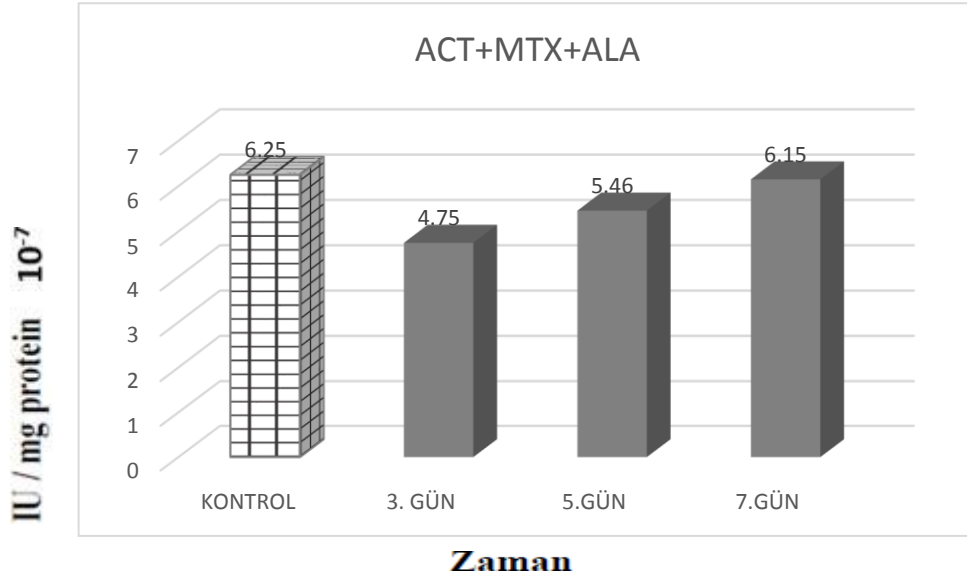
Şekil 4.1. ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi

Kontrol grubu ve deney gruplarında, ACT+MTX'in karaciğer GSSG-R enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. ACT+MTX enjeksiyonunu izleyen 3., 5. ve 7. günlerdeki aktivite değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrole göre giderek artan inhibisyon gözlenmiştir. ACT+MTX verilen grupta, kontrol grubuna oranla karaciğer GSSG-R aktivitesi yaklaşık olarak 3. günde % 35.52, 5. günde % 50.88 ve 7. günde % 52.64 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. ACT+MTX verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi

Kontrol grubu ve deney gruplarında, ACT+MTX+ALA'nın karaciğer GSSG-R enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. ACT+MTX+ALA enjeksiyonunu izleyen 3., 5. ve 7. günlerde ki aktivite değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrole göre giderek azalan inhibisyon gözlenmiştir. ACT+MTX+ALA verilen grupta, kontrol grubuna oranla karaciğer GSSG-R aktivitesi yaklaşık 3. günde %24.52, 5. günde %12.64 ve 7. günde de %1.6 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.3).

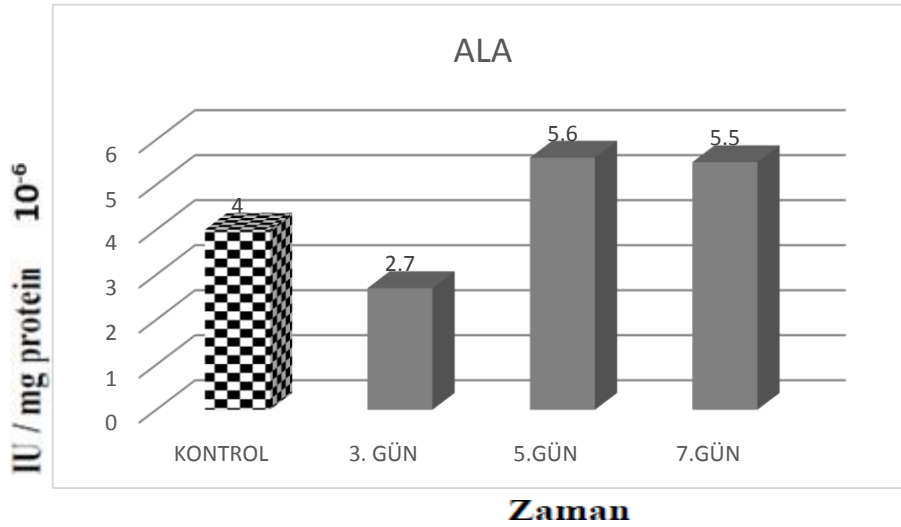


Şekil 4.3. ACT+MTX+ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi

Bulgular istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, normallik varsayımı sağlanmadığından dolayı bir-yönlü varyans analizinin parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal-Wallis testi yapılmıştır. Yapılan test sonucunda GSSG-R enzim aktivitesi üzerinde %95 güvenle günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,981>0,05$). Gruplar arasında da normallik varsayımı sağlanmadığından dolayı bir-yönlü varyans analizinin parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal-Wallis testi yapılmıştır. Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucunda GSSG-R enzimi üzerinde %95 güvenle gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,959>0,05$), (Tablo 4.1.).

4.2. Süperoksit Dismutaz Aktivite Değişimi

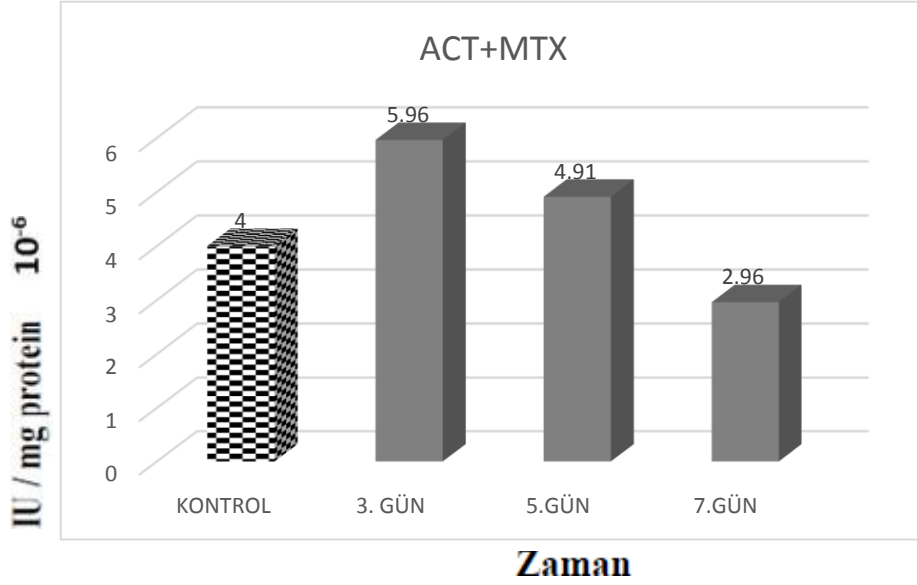
Kontrol grubu ve deney gruplarında, ALA'nın karaciğer SOD enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ALA enjeksiyonunu izleyen 3. günde inhibisyon, 5. ve 7. günlerde ise birbirine çok yakın aktivasyon gözlenmiştir. ALA verilen grupta, kontrol grubuna oranla karaciğer SOD aktivitesi yaklaşık 3. günde %32.5 inhibisyonla başlarken 5. günde %40 iken 7. günde %37.5 aktivasyon gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. ALA verilmiş ratlarda karaciğer SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi

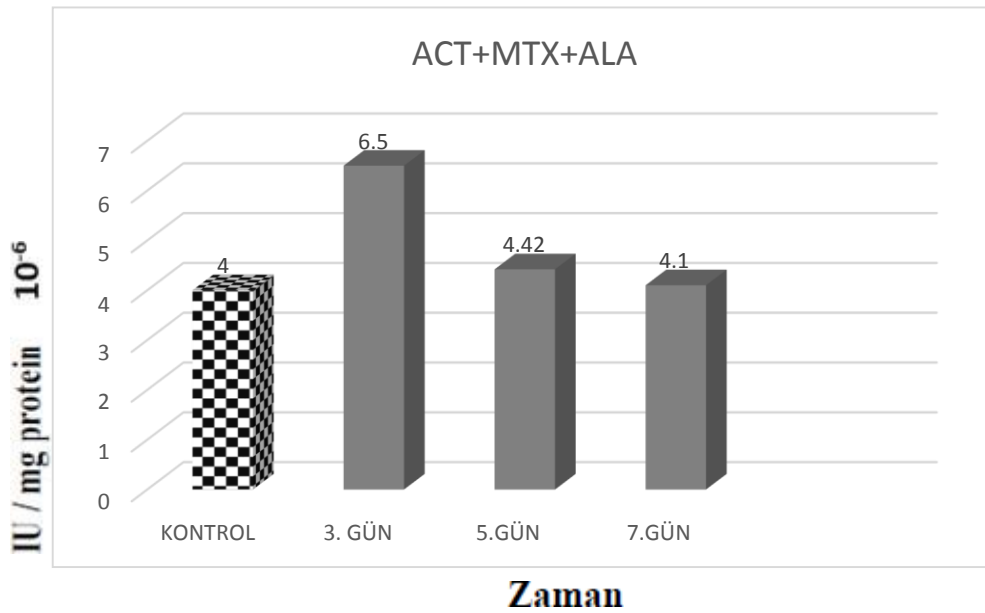
Kontrol grubu ve deney gruplarında, ACT+MTX'in karaciğer SOD enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ACT+MTX enjeksiyonunu izleyen 3. günde aktivasyon azalarak 5. gün de devam etmiştir. Buna karşılık 7. gün de ise inhibisyon gözlenmiştir. ACT+MTX verilen grupta, kontrol grubuna oranla karaciğer SOD aktivitesi yaklaşık 3. günde

% 49 ve 5. günde % 22.75 aktivasyon gözlenirken 7. günde %26 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. ACT+MTX verilmiş ratlarda karaciğer SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi.

Kontrol grubu ve deney gruplarında, ACT+MTX+ALA'm karaciğer SOD enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ACT+MTX+ALA enjeksiyonunu izleyen 3., 5. ve 7. günlerde giderek azalan aktivasyon gözlenmiştir. ACT+MTX+ALA verilen grupta, kontrol grubuna oranla karaciğer SOD aktivitesi yaklaşık 3. günde % 62.5, 5. günde % 10.5 aktivasyon ve 7. günde de % 2.5 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. ACT+MTX+ALA verilmiş ratlarda karaciğer SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak değişimi

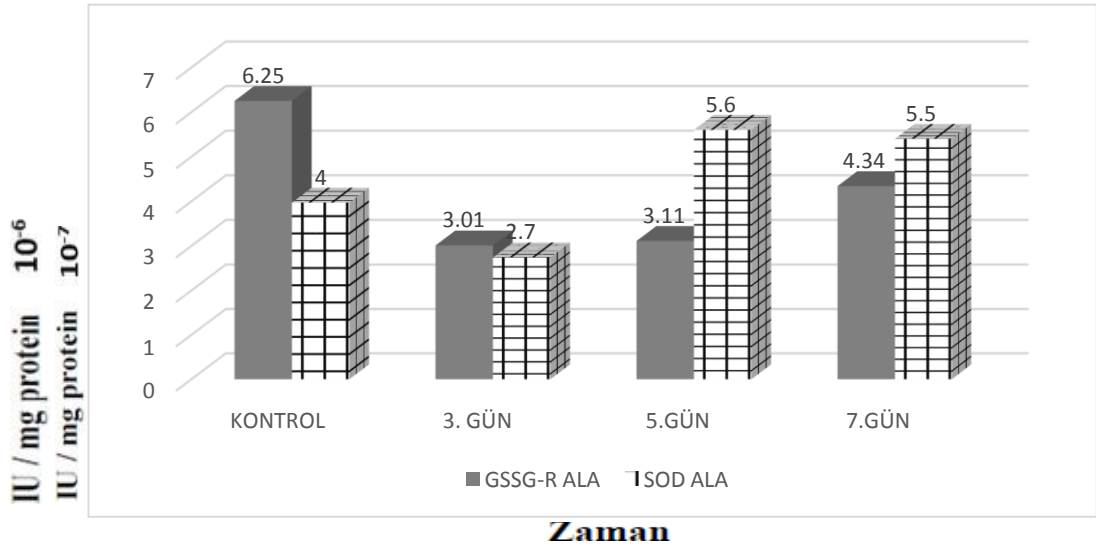
Bulgular istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, normallik varsayımı sağlanmadığından dolayı bir-yönlü varyans analizinin parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal-Wallis testi yapılmıştır. Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucunda SOD enzim aktivitesi üzerinde %95 güvenle günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,409>0.05$). Grupları arasında normallik varsayımı sağlanmadığından dolayı bir-yönlü varyans analizinin parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal-Wallis testi yapılmıştır. Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucunda SOD enzimi üzerinde %95 güvenle gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,470>0.05$), (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. K, ALA, ACT+MTX ve ACT+MTX+ALA' nın karaciğer dokusunda GSSG-R ve SOD değerlerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları

Gruplar	GSSG-R	SOD
K	6,25 ± 2,24	3,97±2,44
ALA	3,51± 3,14	4,55±3,10
ACT+MTX	3,63 ± 2,91	4,60±3,49
ACT+MTX+ALA	4,94 ± 3,34	5,01±1,79

4.3. Glutasyon Redüktaz ve Süperoksit Dismutaz Aktivite Değişimlerinin Karşılaştırılması

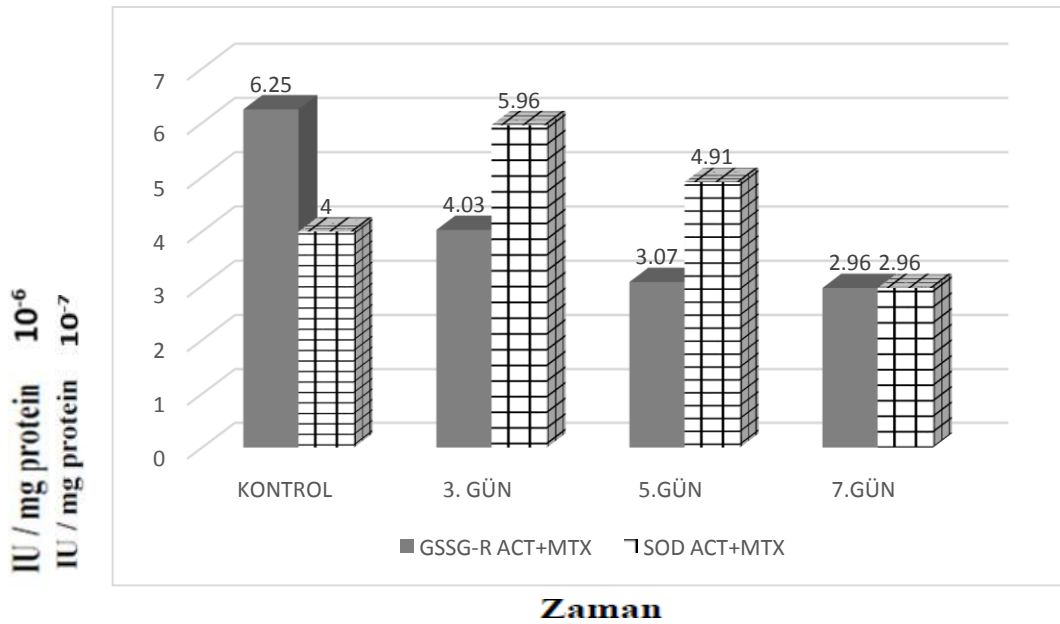
Kontrol grubu ve deney gruplarında, ALA'nın karaciğer GSSG-R ve SOD enzimleri aktivite değerlerinin karşılaştırılmıştır. ALA verilen grupta, kontrol grubuna oranla 3. günde karaciğer GSSG-R aktivitesinde yaklaşık %51.84, SOD aktivitesinde ise yaklaşık %32.5, oranında inhibisyon gözlenmiştir. 5.günde de kontrole grubuna göre GSSG-R aktivitesinde %50.24 oranında bir inhibisyon gözlenirken SOD aktivitesinde %40 oranında aktivasyon gözlenmiştir. 7. güne gelindiğinde ise GSSG-R %30.56 inhibisyon gözlenirken SOD enzimi için %37.5 oranında aktivasyon gözlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R ve SOD aktivitelerinin zamana bağlı olarak karşılaştırılmaları.

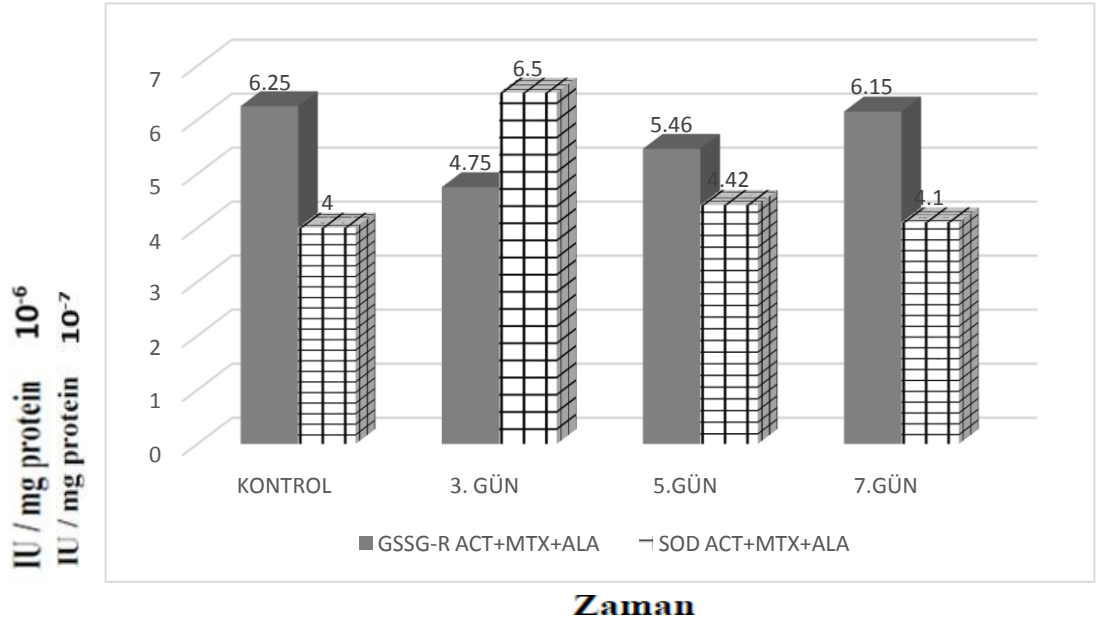
ACT+MTX'in kontrol grubu ve deney gruplarında karaciğer GSSG-R ve SOD enzimi aktivite değerleri karşılaştırılmıştır.

ACT+MTX verilen grupta, kontrol grubuna oranla 3. günde karaciğer GSSG-R aktivitesinde %35.52 oranında inhibisyon gözlenirken aynı günde SOD aktivitesinde yaklaşık %49 oranında aktivasyon görülmüştür. 5. günde de kontrole grubuna göre GSSG-R aktivitesinde %50.88 oranında bir inhibisyon gözlenirken SOD aktivitesinde %22.75 aktivasyon gözlenmiştir. 7. güne gelindiğinde ise GSSG-R için %52.64 ve SOD enzimi için de %32.75 oranında inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. ACT+MTX verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R ve SOD aktivitelerinin zamana bağlı olarak karşılaştırılmaları

ACT+MTX+ALA'nın kontrol ve deney gruplarında karaciğer GSSG-R ve SOD aktiviteleri karşılaştırılmıştır. ACT+MTX+ALA verilen grupta, kontrol grubuna oranla 3. günde karaciğer GSSG-R aktivitesinde %24.52 oranında inhibisyon görülürken aynı günde SOD aktivitesinde yaklaşık %62.5 oranında aktivasyon gözlenmiştir. 5.günde de kontrole grubuna göre GSSG-R aktivitesinde %12.64 oranında bir inhibisyon gözlenirken SOD aktivitesinde %10.5 aktivasyon gözlenmiştir. 7.güne gelindiğinde ise GSSG-R için %1.6 inhibisyon ve SOD enzimi için de %2.5 oranında aktivasyon gözlenmiştir. (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. ACT+MTX+ALA verilmiş ratlarda karaciğer GSSG-R ve aktivitelerinin zamana bağlı olarak karşılaştırılmaları

5. TARTIŞMA

Yapısal ve fonksiyonel benzerliği olan A vitamini ya da ilişkili bileşikler, retinoidler olarak isimlendirilir. Retinoidler, farklı biyolojik fonksiyonları düzenlenmede rol alırlar. Hüresel büyüme, farklılaşma ve morfogenezi etkiledikleri gibi tümör oluşumunu ve malign hücre büyümesini de inhibe ederek immunomodülatuar etki gösterirler. Vitamin A analogu monoaromatik bir retinoid olan ACT; hücrenin çoğalmasını, farklılaşmasını düzenleyerek ciltteki kalın tabakanın incelmeye ve inflamasyonda azalma görülmesine neden olur (Lee ve Koo, 2005). Sedef hastalığı (Psoriasis), kutanöz T hücreli lenfoma, keratinizasyon bozuklukları, kanser ve bazı prekanseröz durumlarda, likenoid ve granülomatöz gibi hastalıkların tedavisinde dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Kuenzli vd., 2008; Dunn vd., 2011).

Folik asidin benzeri ve antagonisti olan metotreksat (MTX), dehidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek pürin ve pirimidin sentezinde rol alan timidilatın yapısına katılan tetrahidrofolat (THF) eksikliğine neden olur (Olsen, 1991; Gibson ve Perry, 1992). Böylece, pürin ve timidin sentezinde kullanılan folatı inhibe ederek DNA/RNA sentezi ve hücre çoğalmasının bozulmasına yol açan anti-metabolit etkili olup uterus, osteojenik sarkom ve akut lenfoblastik lösemi, akciğer, meme, mesane kanseri tedavilerinde kullanılan kemoterapötik bir ajandır (Widemann ve Adamson, 2006; Xian vd., 2008; Karch, 2013). Yapılan çalışmalar; çok sayıda hastalığın tedavisinde kullanılan MTX'in; hepatotoksisiteyi, nefrotoksisiteyi (Yan ve Sohal, 1998), tumor nekroz faktör-alfa (TNF- α)'nın salınımını artırdığını, oksidan-antioksidan dengesiyle değiştirdiğini ve antioksidan maddelerin verilmesi ile de hepatotoksisiteyi önleyebileceğini göstermiştir (Kurt vd., 2015). En önemli yan etkileri, karaciğer ve böbrek üzerinde gösterdiği toksisitedir. Bu toksisitenin mekanizmalarından biri de ROT'nin üretimini artırılmasıdır. Bu yüzden MTX toksisitesinden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanılması gerekliliği öne çıkmaktadır (Yan ve Sohal, 1998; Armağan, 2014 ve Asvadi vd., 2011).

ALA; mitokondriyal enzimlerde bir kofaktör olarak görev yapan, birçok prokaryotik ve ökaryotik hücrede bulunan ve doğal olarak meydana gelen bir antioksidandır (Cadenas ve Sies, 1998). ALA, oral yol ile verildiğinde %93'den fazlası ince bağırsaktan hızlı bir şekilde emilir ve daha sonra karaciğere gelerek DHLA'ye indirgenir (Atmaca, 2003). Vücuda alınan ALA'nın %80'i idrar yoluyla

atılabilmektedir (Yürük ve Ayaz, 2014). ALA'nın serbest radikalleri uzaklaştırma ve hücre içi ROT'u uzaklaştırarak hücreyi oksidatif strese karşı koruma gibi önemli görevleri bulunur (Armağan, 2014). ROS'ların radikal etkilerini süpürülerek ortadan kaldırılması bir tarafa vitamin C, vitamin E, ve GSH gibi diğer hücrel antioksidanların rejenere edilerek yeniden kullanılabilir forma getirilmesini de ALA'nın sağladığı belirlenmiştir (Moini, 2002).

Oksidatif stress, organizmada moleküler hasarlara sebep olarak önemli hücrel yapıları ve fonksiyonları etkileyen reaktif oksijen radikallerinin konsantrasyonlarındaki artışla seyreden bir durumdur. Antioksidan savunma sistemini etkileyerek oksidatif strese yol açan pek çok neden vardır. Bu nedenlerin bir kısmı yiyecekler, çeşitli antikanser ilaçlar, alkol, sigara, çevre kirliliği gibi faktörler ile non-iyonize (elektro manyetik alan) ve iyonize (gamma ışınları) radyasyonu içine alan eksojen orijinli olabildiği gibi diğer bir kısmını da içine alan egzersiz ve psikolojik stresler gibi endojen orijinli nedenlerdir (Mollaoğlu, 2003).

Biyolojik sistemlerde, ROT'ların oluşumunu önlemek, hücrel yapılarda meydana getirebileceği hasarları engelleyerek, detoksifikasyonu da içine alan antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır (Mates, 1999). Serbest radikallere karşı ilk savunmayı oluşturan SOD, süperoksit anyonunu moleküler oksijene ve H₂O₂'ye katalizleyen bir antioksidan enzimdir. Savunma enzimlerinden diğeride GSSG-R'dir. Bu enzimin katalizlediği tepkimede NADPH koenzimine olan gereksinim hayvan ve bitki dokularında çeşitli enzim sistemleri yoluyla sağlanır. Bu sistemlerden en iyi bilineni pentoz fosfat metabolik yoludur (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Pentoz fosfat metabolik yolu enzimleri sitozolde bulunur; hayvanlarda özellikle eritrosit, karaciğer, yağ asidi ve steroid sentezleyen meme dokusu, adrenal korteks ve yağ dokusu gibi dokularda aktiftir (Michal ve Schomburg, 1999). GSSG-R enzimin katalizlediği tepkime, hücrel redoks durumunun göstergesi kabul edilen GSH/GSSG oranının (100:1) korunmasını sağlar ve bu nedenle büyük önem taşır (Meister, 1983 ve Wu vd., 2004).

Yapılan bir çalışmada, MTX'in, inflamasyonu ve doku hasarını azaltabileceği özelliklerinin yanında süperoksit radikalini de süpürerek oksidatif stresi azalttığı ve dolayısıyla doğrudan antioksidan özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir (Zimmerman vd., 2017). Başka bir çalışmada ise deney hayvanlarına MTX verilmesinin kan,

karaciğer, böbrek ve ince bağırsakta GSH seviyelerinin azalmasına, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyelerinin artmasına neden olarak karaciğerde önemli doku hasarı oluşturduğu gösterilmiştir (Kocaman ve Dabak, 2019).

Pekgoz (2020), yaptığı çalışmada MTX kaynaklı karaciğer hasarında Nebivolol'nun koruyucu özelliklerini araştırmıştır. 3 grup oluşturulmuştur. Gruplar; kontrol, MTX, MTX + Nebivolol olacak şekilde planlanmıştır. MTX grubundaki ratların kanlarında AST, ALT ve T-BİL düzeylerinde (sırasıyla; p:0,007, p< 0,001 ve p:0,004), karaciğer dokularında ise TOS seviyelerinde anlamlı bir artış (p:0,014) gözlenmiştir. Nebivolol tedavisi uygulanan grupta ise bu değerlerin tamamının anlamlı bir şekilde tersine çevrildiği (Srasıyla; p:0,054, 0,001, p:0,014, p:0,001) gözlenmiştir. Sonuç olarak MTX kullanımına bağlı olarak gelişen karaciğer hasarına karşı nebivolol tedavisinin etkili olduğunu saptanmıştır.

Akyol (2020), ratlarda MTX indüklenen oksidatif stress üzerine apigeninin (Apig) koruyucu etkisini araştırmıştır. Çalışmada kontrol, MTX, Apig ve Apig+MTX'in birlikte verildiği grup olmak üzere toplam 4 grup oluşturulmuştur. Çalışma sonunda, karaciğer ve böbrek enzimlerinde: CAT, GSH-Px ve GSH seviyeleri ölçülmüştür. MTX verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA miktarlarında önemli düzeyde bir artış (p<0,05); SOD, CAT ve GSH-Px enzimlerinin etkinliği ile GSH düzeylerinde ise önemli bir düşüş (p<0,05) tespit edilmiştir. Apig+MTX'in birlikte verildiği grupta ise, MTX'in tek başına verildiğinde artan MDA miktarında önemli düzeyde bir düşüş (p<0,05); SOD, CAT ve GSH-Px enzimlerinin etkinliği ile GSH düzeylerinde ise önemli düzeyde bir artış (p<0,05) belirlenmiştir. Sonuç olarak, Apig'nin; MTX'in yol açtığı lipid peroksidasyonu azalttığı ve antioksidan enzimler/sistemler ile biyokimyasal parametreler üzerinde düzeltici etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Çetin vd (2008)'nin yaptıkları bir çalışmada MTX tedavisinin, karaciğer SOD aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşürdüğünü, tedaviye üzüm çekirdeği ekstresi ilavesi sonucu bu azalmanın tersine döndüğünü bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise MTX'in CAT, GSH-Px ve SOD aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığını ve gallik asit ile muamelesi sonucunda MTX'in neden

olduğu CAT, GSH-Px ve SOD aktivitesinin azalmasının önemli ölçüde inhibe olduğunu göstermişlerdir (Safaei vd., 2018).

Kalantari vd., (2018), yaptıkları araştırmada da inülinin, MTX kaynaklı karaciğer toksisitesine karşı antioksidan aktivitelere ve hepatoprotektif etkilere sahip olduğunu göstermişlerdir. MTX ile tedavi edilen ratlarda inülin ön tedavisinin, ALT ve AST'nin serum seviyesini önemli ölçüde azalttığını aynı zamanda karaciğer dokusundaki GSH, SOD ve CAT aktivitelerini etkili bir şekilde arttırdığını ve MDA seviyesini düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Armağan (2014)'in erkek ratlarda pentoksifilin ve ALA'nın, MTX aracılı karaciğer ve böbrek hasarları üzerine etkilerini araştırmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada MTX'tan kaynaklanan karaciğer ve böbrek dokularındaki oksidatif hasarları pentoksifilinin, ALA'nın antioksidan ve diğer özellikleri sayesinde önleyebildiği ve özellikle bu toksik etkilerin önlenmesinde ALA'nın daha etkili ve belirgin olduğu sonucuna varmışlardır.

Başka bir çalışmada da antiepileptik bir ilaç olan ve antioksidan dengenin bozulmasına neden olarak dokularda hasar oluşturabilen valproik asidin (VPA), sıçanlara verilmesi sonucunda oluşturulan toksisiteye karşı karaciğer dokusunda ALA'nın koruyucu etkisi araştırılmıştır. VPA verilen grupta karaciğer SOD ve CAT aktivitelerinde azalmaya karşın MDA ve GSH aktivitelerinde ise artış gözlemlenmiştir. Fakat sıçanlara VPA ile LA uygulanması sonucunda GSH ve SOD aktivitelerinde artış, MDA ve CAT aktivitelerinde ise azalma görülmüştür. Bulgular değerlendirildiğinde alfa lipoik asidin VPA sonucu karaciğerde oluşan oksidatif strese karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (Güler, 2016).

Lowenthal vd., (2008), ACT ve MTX'in eş zamanlı kullanımını hakkında yaptıkları bir çalışmada aynı anda MTX ve ACT alan psoriasisli 18 hastanın klinik verilerini gözden geçirmişlerdir. Hastalara günde bir kez veya alternatif günlerde bir kez 25 mg ACT ve haftalık olarak 7.5 ila 25 mg MTX uygulanmıştır. Bu hasta serisinde, ACT ve MTX kombinasyonunun, hepatoksisiteyi arttırmadığı ve MTX veya ACT ile monoterapiye dirençli hastalarda bu kombinasyon tedavisinin uygun olabileceğini düşünmüşler ve düşük dozda ACT'nin ile MTX ile kombin edilebileceği sonucuna varmışlardır.

Çakır vd., (2015), MTX'in karaciğer dokusuna ALA'nın koruyucu etkisini araştırmışlardır. Kullanılan ratları dört gruba ayırmışlardır; (kontrol, ALA, MTX, MTX +ALA). Karaciğer dokusuna MTX'in etkisini değerlendirmek amacıyla, GSH($\mu\text{mol/mg}$), MDA (nmol/gr), değerleri incelenmiş. En önemli hücresel antioksidan göstergesi olan GSH seviyesi sadece MTX verilen grupta belirgin derecede düşük ($p<0.001$), ALA verilen grupta ise yüksek olduğu gözlemlenmiş. Bu sonuç karaciğer dokusunda ALA'nın onarıcı etkisinin göstergesidir. Majör dejenerasyon göstergesi olan MDA seviyesinin, MTX verilen dokularda yüksek, ALA ve MTX'in birlikte verildiği dokularda düşük olduğu görülmüş. Bütün bu sonuçlar MTX'in karaciğer dokusunda hasara sebep olduğunun ve ALA'nın ise bu hasarı önlediği veya azalttığı göstergesidir.

An vd., (2017), çalışmalarında, sedef hastalığında yıllardır tek olarak kullanılan ACT ve son yıllarda ACT ile kombin tedavi olarak kullanılan MTX'in karaciğerde ve diğer organlar üzerinde ciddi şekilde yan etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Lowenthal vd., (2008), ise ACT ve MTX'in eş zamanlı kullanımını hakkında yaptıkları bir çalışmada aynı anda MTX ve ACT alan psoriasisli 18 hastanın klinik verilerini gözden geçirmişlerdir. Hastalara günde bir kez veya alternatif günlerde bir kez 25 mg ACT ve haftalık olarak 7.5 ila 25 mg MTX uygulanmıştır. Bu hasta serisinde, ACT ve MTX kombinasyonunun, hepatoksisiteyi arttırmadığı ve MTX veya ACT ile monoterapiye dirençli hastalarda bu kombinasyon tedavisinin uygun olabileceğini düşünmüşler ve düşük dozda ACT'nin MTX ile kombine edilebileceği sonucuna varmışlardır.

Çetinkaya vd., (2006), yaptıkları araştıma sonucu, MTX'e karşı N-acetylcysteine (NAC)'nin karaciğer dokusunda antioksidan enzim aktivitesini araştırmışlardır. GSH, MDA, miyeloperoksidaz MPO, SOD ve CAT enzimlerinin aktivite ölçümlerini yaptılar. GSH seviyesi ve SOD ve CAT aktivitesinde azalmaya ve MDA seviyesi ve MPO aktivitesinde artışa neden olmuştur. Bu veriler, NAC'nin, MTX tedavisi alan hastalarda hepatotoksisitenin önlenmesinde terapötik kullanıma sahip olabileceğini göstermektedir.

Uygar vd., (2019), yayınladığı çalışmada MTX'in yan etkilerinin önlenmesinde ALA'nın etkinliğini araştıran çalışmaları derlemişlerdir. Yapılan bütün çalışmalarda da ALA'nın; MTX'in yan etkilerini azalttığı bulunmuştur. Ayrıca mitokondriyal

dehidrogenaz reaksiyonlarında önemli bir rol oynayan lipoik asit son zamanlarda önemli bir antioksidan olarak dikkat çekmektedir. Bu nedenle MTX'in antioksidanlarla birlikte kullanılmasını, antioksidan olarak da ALA'nın kullanılmasını önermişlerdir.

Çalışmamızda, ACT ve MTX verilmiş ratlarda ALA kullanımının oksidatif stress enzim aktivitelerinin üzerine etkisi araştırılmıştır. ACT ve MTX verilmiş ratların karaciğer dokusunda, oksidatif stress enzimlerden olan SOD ve GSSG-R aktivitelerine ve antioksidan olan ALA'nın koruyucu etkisine bakılmıştır. Bunun için K, ALA, ACT+MTX ve ACT+MTX+ALA olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Bu grupların 3., 5. ve 7. günlerdeki antioksidan savunma sistemi enzimleri olan SOD ve GSSG-R aktiviteleri spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

ALA verilmiş ratlarda, K grubuna göre deney gruplarının karaciğer GSSG-R aktivite değerleri karşılaştırıldığında 3. günde GSSG-R değeri K grubuna göre inhibisyon ile başlamıştır. Bu inhibisyon 5. ve 7. günlerde de kontrole göre giderek azalmıştır. ACT+MTX uygulanan grupta ise ALA verilen gruba zıt olarak GSSG-R enzimi aktivite değerleri, K grubuna karşılaştırıldığında giderek artan bir inhibisyon gözlenmiştir. K grubuna göre ACT+MTX+ALA grubunun karaciğer GSSG-R enzimi aktivite değerlerinde de tüm günlerde giderek azalan bir inhibisyon gözlenmiştir. Bu değerler K grubu değerlerine giderek daha da yaklaşmıştır. K grubuna göre ALA, ACT+MTX ve ACT+MTX+ALA gruplarındaki zamana bağlı olan GSSG-R aktivite değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,981>0,05$). Ancak ACT+MTX verilen grupta GSSG-R aktivitesinin 7. günde değişimini istatistiksel olarak anlamlı olmayan fakat dikkat çeken bir inhibisyon gözlenmiştir. Bunun yanısıra ALA verilen grupta ise 3. günde anlamlı olmayan ancak K grubuna göre kayda değer bir inhibisyon gözlenmiştir. Ayrıca enzim aktiviteleri açısından bakıldığında farklı ilaç ve kombinleri verilen gruplar ve kontrol arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p=0,959>0,05$).

ACT+MTX grupları ile ACT+MTX+ALA gruplarının GSSG-R aktivite değerleri karşılaştırıldığında ise ACT+MTX kombinasyonuna ALA eklendiği zaman yaklaşık olarak 3. günde %19 oranında aktivasyon gözlemlenmiştir. Bu aktivasyonun artarak 5. günde %78'e, 7. günde ise %100'e ulaştığı gözlenmiştir. ACT+MTX

kombinasyonunun neden olduğu GSSG-R aktivite artışı bu kombinasyona ALA'nın eklenmesiyle daha da artmıştır. Böylece ACT+MTX kaynaklı oluşan radikallerin karaciğer dokusunda süpürülmesi için ALA'nın eklenmesi, GSSG-R aktivitesinin aşırı tetiklenmesine neden olduğu söylenebilir.

Deney gruplarının karaciğer SOD aktivite değerleri karşılaştırıldığında sadece ALA verilen grupta, enjeksiyonu izleyen 3. günde SOD değeri K grubuna göre inhibisyon ile başlamıştır. Bu inhibisyon 5. ve 7. günlerde yerini aktivasyona bırakmıştır. ACT+MTX uygulanan grupta ise SOD değeri 3. ve 5. günlerde aktivasyon gözlenirken 7. günde bu aktivasyon yerini inhibisyona bırakmıştır. K'ya göre ACT+MTX+ALA grubunun karaciğer SOD enzimi aktivite değerleri giderek azalan bir aktivasyon göstermiş ve bu değerler K grubu değerlerine giderek daha da yaklaşmıştır. K grubuna göre ALA, ACT+MTX ve ACT+MTX+ALA gruplarındaki zamana bağlı olan SOD enzimi aktivite değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,470 >0.05$). Bunun yanısıra ALA verilen grupta ise 3. günde anlamlı olmayan ancak K grubuna göre önemli derecede bir inhibisyon gözlenmiştir. Bu inhibisyon 5. ve 7. günlerde de yine istatistiksel olarak anlamlı olmayan fakat sayısal olarak önemli bir aktivasyona yerini bırakmıştır.

ACT+MTX grupları ile ACT+MTX+ALA gruplarının SOD aktivite değerleri karşılaştırıldığında ise ACT+MTX kombinasyonuna ALA eklendiği zaman yaklaşık olarak 3. günde % 8 oranında aktivasyon gözlenirken 5. günde bu aktivasyon yerini %10 oranında inhibisyona bırakmıştır. 7. günde ise tekrar %39 aktivasyon gözlenmiştir. ACT+MTX kombinasyonuna bir antioksidan olarak ALA eklendiğinde SOD aktivitesinde 7. günde önemli bir artış olduğu gözlenmiştir. 7. günde ki bu artışın karaciğer dokusunda SOD enziminin süperoksid radikalini süpürmesinin ALA'nın uzun süre verilmesiyle arttığı sonucuna varılabilir. Enzim aktivitesindeki inhibisyonlar günler arasında karşılaştırıldığında farklılıklar olmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.409 >0,05$).

Deney gruplarında, karaciğer GSSG-R ve SOD aktivite değerleri karşılaştırıldığında, ALA verilen grupta yaklaşık olarak 3. günde GSSG-R aktivitesinde SOD aktivitesine göre %10 oranında daha fazla aktivasyon gözlenmiştir. 5. ve 7. günlerde ise SOD aktivitesinde GSSG-R aktivitesine göre sırasıyla % 80 ve % 27 daha fazla aktivasyon gözlenmiştir. ACT+MTX verilen

grupta günler arası SOD ve GSSG-R aktivite değerleri karşılaştırıldığında 3. ve 5. günlerde sırasıyla % 48 ve % 60 daha fazla aktivasyon gözlemlenirken 7. günde enzim aktivitelerinin eşitlendiği belirlenmiştir. ACT+MTX grupları ile ACT+MTX+ALA gruplarının SOD ve GSSG-R aktivite değerleri karşılaştırıldığında ise 3. günde SOD aktivitesinin GSSG-R aktivitesine göre %37 aktivasyon gösterirken bu aktivasyon yerini 5. ve 7. günlerde sırasıyla yaklaşık olarak %19 ve %33 oranında inhibisyona bırakmıştır.

SOD enzim sistemi, süperoksit anyonunun H_2O_2 ve moleküler oksijene ayrışmasını katalize eden ve ilk savunma hattını oluşturan en önemli antioksidan enzimdir (Jung, 2014). Reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2 , Glutasyon peroksidazın katalizlemesiyle GSH'ı kullanarak H_2O ve O_2 'e dönüşür. Reaksiyon sonucu GSH, okside forma (GSSG) dönüşür. Bu durum sitoplazmada GSH miktarının azalmasına neden olur.

Çalışmamızda ki MTX ve ACT kullanımına bağlı, GSSG-R aktivite artışının, bu azalan GSH miktarını dengelemek için olduğu söyleyebiliriz. Böylece karaciğer dokusundaki GSH /GSSG oranı korunmuş olur. Ayrıca ALA'nın GSSG-R enzim aktivitesinde aktivasyona neden olması bir antioksidan olan GSH'ı yenileyerek hücre içi dolaylı antioksidan etki yaptığını da göstermektedir.

Roy ve Packer (1998), lipoik asit'in sahip olduğu antioksidan etkilerinin yanında diğer antioksidanları yenileyici ve hücre içi düzeylerini artırıcı etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Çünkü bir antioksidan, serbest radikali nötralize edince antioksidan özelliğini kaybeder. Ancak başka bir antioksidan yardımı ile de yenilenebilir. Lipoik asit de GSH, vitamin C, E ve mitokondriyal antioksidan koenzim Q_{10} (ubikinon) gibi birçok iyi bilinen antioksidanı radikal veya okside formlarını indirgeyerek yenileyebilir olduğunu da ifade etmişlerdir.

MTX'in indükleyici olarak kullanıldığı oksidatif strese karşı farklı antioksidan maddelerin kullanıldığı araştırmalar bulunmaktadır; Dalaklioğlu vd., 2013; Abdel-Daim vd., 2017; Abo-Haded vd., 2017; Moghadam vd., 2015; Akbulut vd., 2014; Vardi vd., 2012). Araştırmış olduğumuz literatürdeki sonuçlara göre MTX veya ACT etken maddelerin ortaya sunduğu oksidatif hasara karşı bir antioksidanın eklenmesi oksidatifstresin ortadan kaldırmasına yardımcı oluyor. Bizim çalışma sonuçlarımız

ise MTX+ACT ve ACT+MTX+ALA verilen gruplarda GSSG-R ve SOD enzim aktivitelerini göz önüne alındığı zaman; ALA eklendiğinde enzim aktivitelerinde özellikle 7. günde yüksek miktarda artış gözlenmiştir. Bu farklılıklarına dayanarak MTX ve ACT oksidatif strese kaynaklı karaciğer hücre hasarına ALA ile önemli ölçüde inhibe edildiği söylenebilir. Literatür tarama sonuçları ve bizimim elde ettiğimiz sonuçlar aynı yönde olduğu tespit edilmiştir.

Yukarıdaki bilgiler ışığında MTX'in başta karaciğer ve böbrek olmak üzere birçok dokuda oksidatif hasara neden olduğu belirtilmesinin yanında tek başına kullanıldığında antioksidan etki gösterdiği de belirlenmiştir. Ayrıca MTX'in oksidatif hasarını giderebilmek için üzüm çekirdeği ekstresi, gallik asit, inilinin, pentoksifilinin ve ALA gibi antioksidanlarla birlikte verilen çalışmalar yapılmıştır.

Hedeflenen sonuçları destekleyici sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte son yıllarda kullanılan ACT ve MTX kombinasyonunun da hücre hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda bu etken maddelerin karaciğer ve böbrek hücrelerini de kısa bir süre içerisinde etkilediği gösterilmiştir (Fayez vd., 2018; Çakır vd., 2015). Çalışmalarımızda da bu kombin çalışmaya antioksidan olan ALA eklenerek alınan sonuçlarla olası hepatoksisitenin belirli ölçüde engellenebileceği gözlenmiştir. Bu nedenle çalışmalarımızın sonuçları değerlendirildiğinde ACT ve MTX ayrı ayrı ve kombin uygulama süresi, bu etken maddelerin metabolizmadaki emilim süresinden itibaren gözönünde bulundurulmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ACT ve MTX etken maddelerinin kullanımında yan etkilerine karşı yeni önlemlere ve yöntemlere gereksinim duyulmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu etken maddelerin bir antioksidan olan ALA içeren brüksel lahanası, patates, brokoli, domates ve bezelye gibi koruyucu etkileri olan sebzeler ve meyveler ile birlikte kullanılmasına dikkat çekilmiştir.

Gerek bilimsel yayınlarda ve makalelerde gerekse sözlü medyada ALA içeren gıdaların serbest radikallere karşı dokuları koruyucu etkisi ön plana çıktığı görülmektedir. Bu nedenle bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan ACT ve MTX'in yan etkilerine karşı koruyucu olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanan çalışmalarımızda rat karaciğer dokusunda ALA'nın belirli ölçüde koruyucu etkisi gözlenmiştir.

GSSG-R enzim aktivitesinde, K'ya göre ALA ve ACT+MTX+ALA gruplarında giderek azalan bir inhibisyon, K'ya göre ACT+MTX grubunda da giderek artan inhibisyon gözlenmiştir. SOD aktivitesinde ise K'ya göre ALA grubunda 3. günde inhibisyon diğer günlerde aktivasyon görülmüştür. ACT+MTX grubunda K grubuna göre SOD değerlerinde 3. ve 5. günlerinde aktivasyon; 7. gün de ise inhibisyon gözlenmiştir. Deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında giderek artan inhibisyon gözlenmiştir. ACT+MTX+ALA enjeksiyonunu izleyen 3., 5. ve 7. günler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aktivasyon gözlenmiştir.

GSSG-R ve SOD enzim aktivitelerinin belirtilen koşullarda davranışı gözlenmiştir ve deney sonuçları değerlendirdiğinde ALA'nın ACT+MTX kombin uygulamasında koruyucu etki gösterdiği söylenebilir. Bu koruyucu etki günler arasında farklılık gösterebilir enzimlerin davranışında değişikliğe neden olduğu açıktır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre daha net adımlar atabilmek için çalışma süremiz olan 7. günden daha uzun bir süre uygulanması ve ALA'nın farklı dozlarının kullanılarak koruyucu etkisinin sağlıkta güvenilirliğinin değerlendirilmesi de önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Daim, M. M., Khalifa, H. A., Abushouk, A. I., Dkhil, MA., Al-Quraishy, S. A. (2017). Diosmin attenuates methotrexate-induced hepatic, renal, and cardiac injury: a biochemical and histopathological study in mice. *Oxid Med Cell Longev*.
- Abo-Haded, H. M., Elkablawy, M. A., Al-Johani, Z., Al-ahmadi, O., El-Agamy, D., S. (2017). Hepatoprotective effect of sitagliptin against methotrexate induced liver toxicity. *PloS one*, 12(3), e0174295.
- Abolmaali, S. S., Tamaddon, A., M., & Dinarvand, R. (2013). A review of therapeutic challenges and achievements of methotrexate delivery systems for treatment of cancer and rheumatoid arthritis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 71: 1115-1130.
- Adams, M. P., & Urban, C. (2015). *Pharmacology: Connection to Nursing*. 3rd ed. *Pearson Education*, 1-1140.
- Adamson, P. C., Blaney, S. M., Bagatell, R., Skolnik, J.M., & Balis, F. M. (2016). General Principles of Chemotherapy. *In Principles and Practice of Pediatric Oncology, 7th ed.* (eds. Pizzo PA, Poplack DG.) *Wolters Kluwer*, Philadelphia:239-315.
- Akbulut, S., Elbe, H., Eris, C., Dogan, Z., Toprak, G., Otan, E., Erdemli, E., Turkoz, Y. (2014). Cytoprotective effects of amifostine, ascorbic acid and N-acetylcysteine against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. *World J Gastroenterol*, 20(29), 10158.
- Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları Konya*38, sağlık dizi (5).
- Aksu, E. H., Kandemir, F. M., & Küçükler, S. (2018). Naringin'in Erkek Ratlarda Methotreaxte İndüklü Testis Apoptosisi ve Otofajisi Üzerine Oksidatif Stresi Azaltmak Yoluyla Koruyucu Etkisi., *Fırat University Journal of Health Sciences (Veterinary)*., Cilt 32, Sayı 3, Sayfa(lar) 179-183.

- Akyol, E. (2020). Farelerde Metotreksatla İndüklenen Oksidatif Stress Üzerine Apigeninin Koruyucu Etkisi. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Alidoost, F., Gharagozloo, M., Bagherpour, B., Jafarian, A., Sajjadi, S. E., Hourfar, H., and Moayedi, B. (2006). Effects of silymarin on the proliferation and glutathione levels of peripheral blood mononuclear cells from beta-thalassemia major patients. *Intimmunopharmacol.* 6: 1305-1310.
- An, J., Zhang, D., Wu, J., et al. (2017). The acitretin and methotrexate combination therapy for psoriasis vulgaris achieves higher effectiveness and less liver fibrosis. *Pharmacol Res.* 121:158-168. doi:10.1016/j.phrs.04.014.
- Arja, H., Harila- Saari, M. D. , Leena, K., Vainionpaa, M. D., Tero, T., Kovala, M. D., Uolevi Tolonen, M. D., & Marjatta Lanning M. D. (1998). *Nerve lesions after therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia., Volume82, Issue11 January 1998 Pages 200-207.*
- Armağan, İ. (2014). Pentoksifilin ve Alfa Lipoik Asitin Metotreksat Aracılı Karaciğer ve Böbrek Hasarları Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 95, Isparta.
- Arslan, Ö. & Akdemir, F. N. E. (2018). Antioxidant Effect of Trans-3 Hydroxycinnamic Acid Against Liver Damage Methotrexate Induced in Rats. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, 28(6), 1574-1578.
- Arthur, A. B., Klinkhoff, A. V. and Teufel, A. (1999). Safety of self-injection of gold and methotrexate. *The Journal of rheumatology*, 26(2), 302-305.
- Asvadi, I., Hajipour, B., Asvadi, A., Asl, N. A., Roshangar, L. and Khodadadi, A. (2011). Protective effect of pentoxifylline in renal toxicity after methotrexate administration. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 15(9), 1003-1009.
- Atli, Z. (2019). Metotreksat ile siçan testislerinde oluşturulan hasar üzerine silimarin'in koruyucu etkilerinin araştırılması., tıbbi farmakoloji anabilim dali., diyarbakir.

- Atmaca, G. (2003). Sarımsağın ve tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri. *Trakya Üniv Tıp Fak Derg*, 20, 54-60.
- Ayas, B. K. (2007). Deneysel Olarak Ülser Oluşturulan Ratlarda *Lobaria Pulmonaria* (L.) Hoffm. İsimli Likenlerden Elde Edilen Metanol Ekstrelerinin Anti Oksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri, Erzurum.
- Baskin, S. I., & Salem, H. (1997). Oxidants, antioxidants, and free radicals. *Washington DC: Taylor and Francis*, p: 26-35.
- Berk, M., Ng, F., Dean. O., Dodd, S., & bBush, A. I. (2008). Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends in Pharmacological Science*, 29(7), 346-351.
- Bertram, G. Katzung. (2004). *Basic and Clinical Pharmacology*, 9. Edition, Singapore: The McGraw- Hill Companies: 898- 931.
- Beütler, E. (1969). Effect of flavin compound on Glutathione Reductase Activity; In vivo and in vitro studies. *J Clin Invest*. 48.
- Bharat, S., Cochran, B., C, Hsu, M., Liu, J., Ames, B., N, & Andersen, J. K. (2002). Pre-treatment with R-lipoic acid alleviates the effects of GSH depletion in PC12 cells: *implications for Parkinson's disease therapy*. *Neurotoxicology* 23: 479–486.
- Bhuiyan, Z. H. & Chowdhury, M. K. (2016). Acitretin in dermatology A review. *Bangladesh Medical Journal*, 45(2), 98-100.
- Braun, J., Kästner, P., Flaxenberg, P., Währisch, J., Hanke, P., Demary, W. and Guimbal- Schmolck, C. (2008). Comparison of the clinical efficacy and safety of subcutaneous versus oral administration of methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: results of a six- month, multicenter, randomized, double- blind, controlled, phase IV trial. *Arthritis & Rheumatism*, 58(1), 73-81.
- Bustamante, J., Lodge, J. K., Marcocci, L., et al. (1998). Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med*; 24(6):1023-1039.
- Cadenas, E. and Sies, H. (1998). The lag phase. *Free Radical Research*, 28:6, 601-609, DOI: 10.3109/10715769809065816.

- Cadenas, E. (2001). Handbook of Antioxidants, Second Edition, Revised and Expanded. New York, NY, USA: *Marcel Dekker Incorporated*, 477- 478.
- Cankurtaran, M. (2005). Yaşlılık, yaşlanma mekanizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Ünitesi, Ankara.
- Carlberg I., Mannervik B., (1981). Purification and characterization of glutathione reductase from calf liver. Glutathione reductase assays. *Methods in Enzymology*, 113: 484-495.
- Carretero, G., Ribera, M., Belinchón, I., Carrascosa J. M., et al. (2013). Guidelines for the use of acitretin in psoriasis, *Sep*;104(7):598-616. doi: 10.1016/j.adengl.
- Cengiz, F. P. & Albayrak, A. (2014). Düşük Doz Asitretinle Tedavi Edilen Liken Amiloidoz Olgusu., *Turk J Dermatol*, 4: 240-3. DOI: 10.4274/tdd.1835.
- Chabner, B., Wilson, W. and Supko, J. (2007). Pharmacology and toxicity of antineoplastic drugs. Editorial: Lichtman MA, Beutler E, Seligsohn U, Kipps TJ, Kaushansky K. *Williams Hematology*. 7th Edition. Mc Graw Hill Company, United States, 249.
- Chen, W., Zhang, X., Zhang, W., Peng, C., Zhu, W., et al. (2018). Polymorphisms of SLCO1B1 rs4149056 and SLC22A1 rs2282143 are associated with responsiveness to acitretin in psoriasis patients. *Sci Rep*. Sep 04;8(1):13182.
- Choi, S. W., & Mason, J, B. (2001). Folate status: Effects on pathways of colorectal carcinogenesis. *The Journal of Nutrition*.;132:2413-185.
- Choi, J.Y. Sippe, J. & Lee, S. (2008). Acitretin for lichen amyloidosis. *Australas J Dermatol*; 49:109-13.
- Chroni, E. Georgiou, S. Monastırlı, A. Paschalis. C. & Tsambaos, D. (2001). Effects of shortterm oral acitretin therapy on peripheral nevre function: *A prospective neurological and neurophysiological study*. *Acta Derm Venereol*, 81:423-5.
- Clarke, J. M., Pelton, N. C., Bajka, B. H., Howarth, G. S., Read, L. C., & Butler, R. N. (2006). Use of the 13C-sucrose breath test to assess chemotherapy-induced small intestinal mucositis in the rat. *Cancer Biol Ther*. 34-38. doi:10.4161/cbt.5.1.2235.

- Close, P. (2010). Retinoids: Mechanisms of action *Ann. Dermatol. Venereol.*, 137 (Suppl 3). pp. S97-S103.
- Cole, P. D., Zebala, J. A., Alcaraz, M. J., Smith, A. K., Tan, J., & Kamen, B. A. (2006). Pharmacodynamic properties of methotrexate and Aminotrexate during weekly therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*; 57:826-34.
- Conway, R., & Carey, J. J. (2017). Risk of liver disease in methotrexate treated patients. *World J Hepatol*;18;9(26):1092-100.
- Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clin Dermatol.* 27:175–94.
- Coronado, M. H., Vega, S., Gutierrez, L. R., Vazquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidants: *present perspective for the human health. Chile Nutrition Magazine*, 42(2).
- Cronstein, B. N. (1996). Molecular therapeutics: Methotrexate and its mechanism of action. *Arthritis Rheum.* 39: 1951-1960.
- Çakır, T., Baştürk, A., Polat, C., Aslaner, A., Durgut H, et al. (2015). Does alfa lipoic acid prevent liver from methotrexate induced oxidative injury in rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 30:247-54.
- Çakır, T., Polat, C., Baştürk, A., Gül, M., Aslaner, A., Durgut, H., et al. (2015). The effect of alpha lipoic acid on rat kidneys in methotrexate induced oxidative injury. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 19:2132-9.
- Çetin, A., Kaynar, L., Kocyigit, I., Hacıoglu, S. K., Saraymen, R., Ozturk, A., et al. (2008). Role of grape seed extract on methotrexate induced oxidative stress in rat liver. *The American journal of Chinese medicine*, 36(05), 861-872.
- Çetinkaya, A., Bulbuloglu, E., Kurutas, E. B., & Kantarceken, B. (2006). N-acetylcysteine ameliorates methotrexate-induced oxidative liver damage in rats. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 12(8), BR274–BR278.
- Dalaklioglu, S., Genc, G. E., Aksoy, N. H., Akcit, F., Gumuslu, S. (2013). Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Hum Exp Toxicol.*, 32(6), 662-671.

- Demirel, A., & Kınap, M. (2010). Romatoid artrit tedavisinde geleneksel ve günce yaklaşımlar. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*;19(1):74-84.
- Derviş, E. (2011). Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, 2(1): 263-267.
- Diplock, A. (1998). Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium, 59.
- Dogra, S., & Yadav, S. (2014). Acitretin in psoriasis: an evolving scenario. *International journal of dermatology*, 53(5), 525–538. <https://doi.org/10.1111/ijd.12365>.
- Dökmeci, İ. (2007). Oral Antikoagülanlar. İçinde: Farmakolojik İlaçlar ve Etkileri. İstanbul: Alfa Yayıncılık; s.369–75.
- Dunn, L. K., Gaar, L. R., Yentzer, B. A., O'Neill, J. L., & Feldman, S. R. (2011). Acitretin in dermatology: a review. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 10(7), 772–782.
- Dutz, J. P., & Ho, V. C. (1998). Immunosuppressive agents in dermatology - An update. *Dermatologic Clinics*, Apr;16(2):235-51. doi: 10.1016/s0733-8635(05)70006-1.
- El-Agamy, D. S., Abo-Haded, H. M., & Elkablawy, M. A. (2016). Cardioprotective effects of sitagliptin against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 241: 1577-87.
- Elliot, J. G. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech*, 53: 46-8.
- Ellis, C. N., & Krach, K. J. (2001). Uses and complications of isotretinoin therapy. *J Am Acad Dermatol*. 45(5): S150-7.
- Fayez, A. M., Zakaria, S., & Moustafa, D. (2018). Alpha lipoic acid exerts antioxidant effect via Nrf2/HO-1 pathway activation and suppresses hepatic stellate cells.
- Feagan, B. G., & Alfadhli, A. (2004). Methotrexate in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics nof North America*, 01 Jun, 33(2):407-20, xi DOI: 10.1016/j.gtc.2004.03.001 PMID: 15177546.

- Fiehn, C. (2008). The future of folic acid antagonist therapy in rheumatoid arthritis: 30 December, <https://doi.org/10.1002/art.24216>.
- Finaud, J. L. G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36(4): 327-358.
- Flores, F. & Kerdel, F. A. (2000). Other novel immunosuppressants. *Dermatologic Clinics* 18: 475. volume 18, issue 3, p475-483, [https://doi.org/10.1016/s0733-8635\(05\)70195-9](https://doi.org/10.1016/s0733-8635(05)70195-9).
- Flohé, L. & Otting, F. (1984). Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol.* 105: 93-104. doi: 10.1016/s0076-6879(84)05013-8. PMID: 6328209.
- Gérard-Monnier, D. & Chaudiere, J. (1996). Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *Pathologie et biologie*, 44, 77-85.
- Gibson, L. E. and Perry, H. O. (1992). In: Moschella, S. L., Hurley, H. J. editors. *Dermatology*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company. p. 607-51. Papulosquamous eruption and exfoliative dermatitis. *Dermatology*.
- Ginsberg, H. N., Zhang, Y.L., & Antonio Hernandez-Ono, A. (2005). Regulation of Plasma Triglycerides in Insulin Resistance and Diabetes. *Archives of Medical Research*, 36: 232-40.
- Gisoni, P. A. Mattiucci, B. & Tonin, G. Girolomoni. (2019). Low dose acitretin versus methotrexate in the treatment of palmoplantar psoriasis: a case series, 22 February. <https://doi.org/10.1111/jdv.15518>.
- Golbidi, S., Badran, M., & Laher, I. (2011). Diabetes and alpha lipoic acid. Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada, *Front. Pharmacol.*, <https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00069>.
- Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Lazo, J. S., Parker, K. L., & Süzer, O. (2009). *Goodman & Gilman tedavinin farmakolojik temeli*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Goyri-O'Neill, J. Pais, D., Freire de Andrade, F., et al. (2013). Improvement of the embalming perfusion method: the innovation and the results by light and scanning electron microscopy. *Acta Med Port.* 26(3):188-194.

- Göktürk, E. (1999). Serbest radikaller ve antioksidanlar. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi; 20: 32-37.
- Grimmer, J. Weiss, T. & Weber, L. (2006). Successful treatment of lichen amyloidosis with combined bath PUVA photochemotherapy and oral acitretin. Clin. Exp. Dermatol, 32:39-42.
- Guilherme, M. S., Stoye, N. M., Rose-John, S., Garbers, S., Fellgiebel, A., & Endres, K. (2019). The Synthetic Retinoid Acitretin Increases IL-6 in the Central Nervous System of Alzheimer Disease Model Mice and Human Patients, *Front. Aging Neurosci.*, 23 July 2019 | <https://doi.org/10.3389/fnagi.00182>.
- Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Chaudhary, A. K., Jha, U. K., Yadav, U. C., Gupta, P. K., & Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 15(11), 4405–4409. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.11.4405>.
- Günay, T., Yardimci, O. D., Hocaoğlu, M., Eemirçivi, E., Turgut, A., & Karateke, A. (2019). Ektopik gebelikte kullanılan tek doz metotreksat tedavisinin başarısını etkileyen faktörler medeniyet üniversitesi göztepe eğitim ve araştırma hastanesi, kadın hastalıkları ve doğum kliniği, istanbul. *Kocaeli med j.* 189-194 | doi: 10.5505/ktd.2019.04274.
- Gürsoy, Ş. (2008). Düzenli Spor Yapan Öğrenci Gruplarında Egzersizin Total Antioksidan Kapasite ve Serum Lipit Profili Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.
- Güven, E., Erişgin, Z., & Tekelioğlu, Y. (2017). Sıçanlarda metotreksat kaynaklı testis hasarı üzerine shilajitin'in histopatolojik etkisi. *Kocatepe tıp dergisi*; 18(1):1-6.
- Güvenç, M. (2008). Resveratrol, Lipoik Asit ve Vitamin C'nin Tip-1 Diyabetli Sıçanların Karaciğer, Böbrek ve Eritrositlerinde Lipofilik Vitaminler, Kolesterol ve Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine* (3.bs.). New York: Oxford University Press.
- Hardman, J. G, & Limbird, L. E (Ed). (2001). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. ABD, The McGraw-Hill Companies.1300-1398.
- Herman, R. A., Veng, P. P., Hoffman, J., Koehnke, R. & Furst, D. E. (1989). Pharmacokinetics of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis patients. *J Pharm Sci*; 78: 165-71.
- Huang, X., Fang, Q., & Rao, T., et al. (2020). Leucovorin ameliorated methotrexate induced intestinal toxicity via modulation of the gut microbiota. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2020; 391:114900. DOI: 10.1016/j.taap.
- İde, T. (2003). Hayvan modelleri in: Translation ed. Ide T, Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri Türkçe Çeviri, Zupthen LFM, Baumans V, Beynen AC, Ankara: Medipres Yayınları-Ozkan Matbaacılık: 187-194.
- Ighani, A., Partridge, A. C. R., Shear, N. H., Lynde, C., Gulliver, W. P., Sibbald, C., & Fleming, P. (2019). Comparison of Management Guidelines for Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis: A Review of Phototherapy, Systemic Therapies, and Biologic Agents. *J Cutan Med Surg*. Mar/Apr;23(2):204-221.
- Jahovic. N., Cevik, H., Sehirli, A. O, Yeğen, B.C, & Sener, G. (2003). Melatonin prevents Methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J Pineal Res*. 34(4): 282-7.
- Jahovic, N., Sener, G., Cevik, H., Ersoy, Y., Arbak, S., & Yegen, B. C. (2004). Amelioration of methotrexate-induced enteritis by melatonin in rats. *Cell Biochem Funct* 22:169-178.

- Jolivet, J., Cowan, K. H., Curt, G. A., Clendeninn, N. J., & Chabner, B. (1983). The Pharmacology and Clinical Use of Methotrexate. *New England Journal of Medicine*, 309: 1094- 1104.
- Jung, W. W. (2014). Protective effect of apigenin against oxidative stress-induced damage in osteoblastic cells. *International journal of molecular medicine*, 33(5), 1327–1334. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1666>.
- Junko N. T. T., Kitajimab, M., Takayamab, H., Aimib, N., & Horiea, T. (2001). Characteristics of transport of fluoresceinated methotrexate in rat small intestine. *Life Sciences* 69, 739–747 *Life Sciences* 69, 739–747.
- Kalantari, H., Asadmasjedi, N., Abyaz, M.R., Mahdavinia, M., & Mohammadtaghvaei, N. (2018). Protective effect of inulin on methotrexate- induced liver toxicity in mice. *Biomed Pharmacother.* 2019; 110: 943-950. doi: 10.1016/j.biopha.2018.11.144.
- Karaca, E. G. (2008). Lipoik asit evrensel antioksidan. *Afyon Kocatepe Fen Bilimleri Dergisi*. 8:231-46.
- Karagün, E. (2019). Psoriasis Hastalarında Sistemik Tedavinin Hematolojik Parametreler Üzerine Etkisi. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye*. DOI:10.18521/ktd.498236.
- Karch, A. M. (2013). *Lippincott's Nursing Drug Guide*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. PA; 1-1486.
- Katz, H. I., Waalen, J., & Leach, E. E. (1999). Acitretin in psoriasis: an overview of adverse effects. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 41(3 Pt 2), S7–S12. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(99\)70359-2](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(99)70359-2).
- Kaushik, S. B., & Lebwohl, M.G. (2019). Review of safety and efficacy of approved systemic psoriasis therapies. *Int. J. Dermatol.* 58(6):649-658.
- Keha E., Küfrevioğlu Ö. İ. (2010). *Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum*, 653s.

- Kılınç, K., & Kılınç, A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33:110-118.
- Knight, J. A. (1995). Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann. Clin. Lab. Sci.*; 25(2):111-21.
- Kocaman, N., & Dabak, D. O. (2019). Metotreksat ile Karaciğer Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda silymarin'in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması., Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.
- Koçak, Y., Oto, G., Mercan, U., Yaşar, S., & Arihan, O. (2019). Karbon tetraklorür ile Oluşturulan Doku Hasarında *Allium schoenoprasum* L. Uygulamasının Karaciğer ve Böbrek dokusunda Total Antioksidan ve Total Oksidan Düzeyine Etkisi. *Van Sağlık Dergisi*,12(3)1-10.
- Krauth-Siegel, R. L., Bauer, H., & Schirmer, R. H. (2005). Dithiol proteins as guardians of the intracellular redox milieu in parasites: old and new drug targets in trypanosomes and malariacausing plasmodia. *Angewandte Chemie International Edition*, 44, 690-715.
- Kuenzli, S., Saurat, J. H., Retinoids. Bologna, J. L., Jorizzo, J. L., & Rapini, R. P., (2008). *Dermatology. 2nd. ed. Edinburgh, Mosby. p.1935-1948.*
- Kutluana, U., Oruç, N., & Yılmaz, M. (2011). Ratlarda metotreksata bağlı oksidatif intestinal hasarda leflunomidinin koruyucu etkisinin araştırılması. *Akademik gastroentoloji dergisi*. 10 (1): 23-27 s.
- Kurt. A., Tumkaya, L., Turut, H., Cure, M. C., Cure, E., Kalkan, Y., Sehitoglu, I., & Acipayam, A. (2015). Protective Effects of Infliximab on Lung Injury Induced by Methotrexate. *Arch Bronconeumol.*, 51(11):551-557.
- Lagarce, L., Zenut, M., & Lainé-Cessac, P. (2015). Pharmacologie du méthotrexate. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de La Reproduction*, 44(3), 203–211

- Larsen, F., G, Steinkjer, B., Jakobsen, P., Hjorter, A., Brockhoff, P.B., & Nielsen, K., F. (2000). Acitretin is converted to etretinate only during concomitant alcohol intake. *Br J Dermatol.* 143:1164-9.
- Laurberg, G., Geiger, J. M., Hjorth, N., Holm, P., Hou-Jensen, K., Jacobsen, K. U, Nielsen, A. O, Pichard, J., Serup, J., & Sparre-Jorgensen, A., et al. (1991). Treatment of lichen planus with acitretin. A double-blind, placebo-controlled study in 65 patients. *J Am Acad Dermatol.* 24(3):434-7.
- Lee, C. S., Koo, J. A review of acitretin, a systemic retinoid for the treatment of psoriasis. (2005). *Expert Opin. Pharmacother.* 6(10):1725-1734.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews,* 4(8), 118.
- Lowenthal, K. E., Horn, P. J., & Kalb, R. E. (2008). Concurrent use of methotrexate and acitretin revisited. *Journal of Dermatological Treatment,* 19(1), 22-26.
- Lu, C., & Liu, Y. Interactions of lipoic acid radical cations with vitamins C and E analogue and hydroxycinnamic acid derivatives. (2002). *Arch Biochem Biophys.*;406:78-84.
- Lucock, M. (2004). Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention, *BMJ.* 328:211-4.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., & Watkins Iii, J. B. (2003). Effects of α -lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of nutritional biochemistry,* 14(5), 288-294.
- Marzatico, F., & Café, C. (1993). Oxygen radicals and other toxic oxygen metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. *Functional neurology.* 51-66. Epub.
- Mates, M. J., Perez-Gomez, C., & De Castro, N, I. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Disease. *Clinical Biochemistry.,* 8:595-603.

- Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). Liver Dissection Of The Adult Rat. *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*. 1st Edition. London: Academic Press; 2019:159-343.
- Mc Cord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte. *The Journal of Biological Chemistry*, 244 (22): 6049-6055.
- Mcnamara, P. J., Jewell, R. C., Jensen, B.K., & Brindley, C., J. (1988). Food increases the bioavailability of acitretin. *J Clin Pharmacol*. 28:1051.
- Meister, A. (1983). Selective modification of glutathione metabolism. *Science*,220(4596), 472-477.
- Melo, F.R., Bressan, R. B., Costa, S. B, & Trentin, A. G. (2017). Effects of folic acid and homocysteine on the morphogenesis of mouse cephalic neural crest cells in vitro. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 37:371-6.
- Memişoğulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*,3: 30-39.
- Menter, A., Korman, N. J., Elmets, C. A., & Feldman, S. R., (2009). Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: section 4. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with traditional systemic agents. *J Am Acad Dermatol*; 61:451-85.
- Meydani, M. (2001). Antioxidants and cognitive function. *Nutr Rev*. 2001;59(8 Pt 2): S75-S82. doi:10.1111/j.1753-4887. 2001. tb05505. x. *Nutr Rev*; 59: 75-82.
- Michal, G. (Ed.), and Schomburg D. (Ed.). (1999). *Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Moini H, Packer L, Saris NE. Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicology and applied pharmacology*. 2002 Jul 1;182(1):84-90.

- Moghadam, A. R. Tutunchi, A. Yazdi, M. Bonyadi, F. & Mohajeri, D. et al. (2015). Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress, *BMC Complement Altern Med.* 2015; 15: 246.
- Mollaoğlu, H. (2003). GSM 900 MHz telefonların oluşturduğu manyetik alanın etkisiyle meydana gelen oksidatif değişiklikler üzerine melatoninin etkisi. Uzmanlık tezi. Suleyman Demirel Üni. Tıp Fak Fizyoloji A.D. 2003.
- Mukherjee, S., Ghosh, S., Choudhury, S., Adhikary, A., Manna, K., Dey, S., & Chattopadhyay, S., (2013). Pomegranate reverses methotrexate-induced oxidative stress and apoptosis in hepatocytes by modulating Nrf2-NF-κB pathways. *J Nutr Biochem*, 24, 2040-2050.
- Nazlıkul, H. (2013). Hayat Keşfet, Serbest Radikaller ve Serbest Oksijen Radikalleri. 3. Basım, Alfa, İstanbul, 217.
- Nguyen, E. H., & Wolverton, S. (2007). Systemic retinoids. In: Wolverton SE, editors. *Comprehensive dermatologic drug therapy*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co. p. 275-300.
- Olsen, E. A. (1991). The pharmacology of methotrexate. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 25(2), 306-318.
- Onder, S., Bilgili, S. G., & Bulut, G., et al. (2020). Biochemical and histopathologic assessment of effects of acitretin on epiphyseal growth plate in rats. *Postepy Dermatol Alergol.* 37(3):346-352. doi:10.5114/ada.2020.95983.
- Oruch, R., and Pryme, I. F. (2012). The biological significance of vitamin A in humans: A review of nutritional aspects and clinical considerations. *ScienceJet*, 1, 19.
- Öğüş, I. H. & Özer, N. (1998). Purification of NADPH-free glutathione disulfide reductase from human erythrocytes. *Protein Expression and Purification*, 13(1), 41-44.
- Öğüt, S. & Atay. E. (2012). Yaşlılık ve oksidatif stres. Suleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 19(2): 68-74.

- Önder, S. 2014. Ratlarda Bir Vitamin A Türevi Retinoid Olan Asitretinin Epifizyal Büyüme Plağına Etkilerinin Biyokimyasal Ve Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, 67, Van.
- Özkan, Y., Yılmaz, O., Ozturk, A. I., & Erşan, Y. (2005). Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and alphalipoic acid) with insulin on lipid and cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats. *Cell Biol Int.* 29(9): 754–760.
- Packer, L., Witt, E., & Tritschler, H. J. (1995). Alfa lipoic acid as a biological antioxidant. *Science Direct Free Radical Biology Medicine.*19:227-50.
- Packer, L., Kraemer, K., & Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition.* 17, 888–895.
- Pang, M., L, Murase, J., E, & Koo, J. (2008). An updated review of acitretin--a systemic retinoid for the treatment of psoriasis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.*
- Pearce, D., J, Klinger, S., Ziel, K., K, Murad, E., J., Rowell, R., & Feldman, S., R. (2006). Low-dose acitretin is associated with fewer adverse events than high-dose acitretin in the treatment of psoriasis. *Archives of dermatology,* 142(8), 1000–1004. <https://doi.org/10.1001/archderm.142.8.1000>.
- Peek, C., L, and Digiovanna, J., J. (1993). Retinoids. In: Fitzpatrick TB, Eisen A Z, Wolff K, Freedberg 1M, Austen KF eds. *Dermatology in General Medicine.* New York: McGraw Hill. 2883-2908.
- Pekgöz, Ş. (2020). Metotreksat'ın Neden Olduğu Karaciğer Doku Hasarında Nebivolol'un Etkisi, Yüksek Lisans Tezi Biyomühendislik Anabilim Dalı Isparta Süleyman demirel üniversitesi fen bilimleri enstitüsü.
- Picon, A., P, Ortega, N., R, Watari, R., Sartor, C., & Sacco, I., C. (2012). Classification of the severity of diabetic neuropathy: *a new approach taking uncertainties into account using fuzzy logic.* *Clinics;*67(2):151-6.

- Pilkington, T., & Brogden, R. N. (1992). Acitretin: A Review of its Pharmacology and Therapeutic Use. *Drugs*, 43(4), 597–627. <https://doi.org/10.2165/00003495-199243040-00010>.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30(1), 11-26.
- Poljsak, B., Jamnik, P., Raspor, P., & Pesti, M. (2011). Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution, in: N. Jerome (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Health, Elsevier*.
- Poljsak, B., Suput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants, *Oxid. Med. Cell. Longev* 2013. Article ID 956792, 11 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/956792>.
- Reed, L. J., Busk, B. G., Gunsalus, I. C., & Schnakenberg, G. H. F. (1950). Crystalline lipoic-acid: a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. *Science*; 114:93.
- Reische, D. W., Lillard, D. A., Eitenmiller, R. R. (2002). Oxidation. İçinde. Akoh CC, Min DB. editör. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc. pp: 335-542.
- Roenigk Jr. H. H., Auerbach, R., Maibach, H., Weinstein, G., & Lebwohl, M. (1998). Methotrexate in psoriasis: consensus conference. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 38(3), 478–485. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(98\)70508-0](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(98)70508-0).
- Roleira, F. M., Tavares-da-Silva, E. J., & Varela, C. L., et al. (2015). Plant derived and dietary phenolic antioxidants: anticancer properties. *Food Chem.* 2015; 183:235-258. doi:10.1016/j. foodchem.
- Rollman, O., & Pihl, L. I. (1990). Acitretin excretion into human breast milk *Acta Derm. Venereol.*, 70, pp. 487-490.

- Rosen, G. M., Pou, S., Ramos, C. L., Cohen, M. S., & Britigan, B. E. (1995). Free radicals and phagocytic cells. *Federation of American Societies for Experimental Biology*,9:200-209.
- Roy, S., Packer, L. (1998). Redox regulation of cell functions by alpha-lipoate: biochemical and molecular aspects. *Biofactors*. 8:17-21.
- Safaei, F., Mehrzadi, S., Khadem Haghigian, H., Hosseinzadeh, A., Nesari, A., Dolatshahi, M., & Goudarzi, M. et al. (2018). Protective effects of gallic acid against methotrexate-induced toxicity in rats. *Acta Chirurgica Belgica*, 118(3), 152-160.
- Sato, E. Camhi, S. L, Koyama, S. & Robbins, R. A. (2001). Methotrexate stimulates lung fibroblasts and epithelial cells to release eosinophil chemotactic activity. *J Rheumatol*;28(3):502-508.
- Savage, K. T., Brant, E.G., Rosales Santillan, M., Morss, P. C., Salian, P., et al. (2020). Methotrexate shows benefit in a subset of patients with severe hidradenitis suppurativa. *Int J Womens Dermatol*. 6(3):159-163. Doi:10.1016/j.ijwd.
- Sayılmaz, A., Karabulut, Y. Y., & Özgörgülü, A. (2016). The histopathological evaluation of healing effects of vitamin C administered before methotrexate therapy on testicular injury induced by methotrexate. *Turkish Journal Urology*; 42(4): 235-239.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*. Chapter. 1, 1-37.
- Sentürk, M., Ceyhun, S. B., Erdoğan, O., & Küfrevioğlu, Ö. I. (2009). In vitro and in vivo effects of some pesticides on glucose-6- phosphate dehydrogenase enzyme activity from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocytes *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95 95–99.
- Shay, K. P., Moreau, R. F, Smith, E. J., Smith, A. R., Hagen, T. M. (2009). Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*. 1790(10): 1149–1160.

- Spuls, P. I, Rozenblit, M, & Lebwohl, M. (2003). Retrospective study of the efficacy of narrowband UVB and acitretin. *J Dermatol Treat.* 14(Suppl 2):17-20.
- Sritulasi, K. & Vanithakumari, G. (2012). Impact of Methotrexate and Leucovorin on Hormonal Regulated Enzymes of Carbohydrate Metabolism in Accessory Reproductive Tissues of Ovariectomized Rats., *Department of Zoology, School of Life Sciences, Bharathiar University, Coimbatore, Tamilnadu, India.*
- Şendur, N. Uslu, M. Tuna, O. Karaman, G. & Şavk, E. (2010). Psoriazisli hastalardadar bant uvb ile retinoid-dar bant uvb tedavilerinin karşılaştırılması, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi; 11(2): 25 – 30.
- Şentürk, N. (2016). Metotreksat. *Arch Turk Dermatol Venerology.* 50:18-21.
- Şimşek, G. G., Karadağ, A. S., & Cansever, Z. (2010). asitretin tedavisine cevap veren familial darier hastalığı, *Anatol J Clin Investig* 2010:4(3):171-173.
- Taher, S. S. M., (2017). Purification And Characterization of Glutathione Reductase From Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Liver, Master Thesis, Bingöl Universty institute of science, 78p.
- Takaishi, N., Yoshida, K., Satsu, H., & Shimizu, M. (2007). Transepithelial transport of alpha-lipoic acid across human intestinal Caco-2 cell monolayers. *J Agric Food Chem*; 55:5253–9.
- Taşer, P., & Çiftci, M. (2012). Purification and characterization of glutathione reductase from turkey liver. *Turk. J. Vet. Anim. Sci,* 36: 546-553.
- Taşlı, L., Kaçar, N., & Yıldız, N. (2011). Plak tip psoriazisde metotreksatın oral ve subkutanöz kullanımının kıyaslanması: 5 yıllık retrospektif inceleme. *Pamukkale Tıp Dergisi*; 4(3):131-135.
- Tetikçok, R., Özçetin, M., Çeltek, N.Y., Oktay, Ünlü, U., & Şengül, M. (2015). Lipoik asit. *Çağdaş Tıp Dergisi*, 5(3), 206-209.
- Tran, B., & Feldman, S. R. (2011). Insight into psoriasis management: commercial perspectives for the U.S. psoriasis market. *J Dermatolog Treat*; 22:18-26.

- Tsambaos, D. Sakkis, T. & Chroni, E. (2003). Peripheral sensory neuropathy associated with short-term oral acitretin therapy. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*; 16:46-9.
- Toribio, F., Martinet, L. E., & Pascual, L. B. P. J. (1996). Methods for purification of glutathione peroxidase and related enzymes, *Journal of Chromatography B*. 684, 77-97.
- Uslu, G. (2019). Yağ dokusu kaynaklı mekanizmal kök hücre eksozomları ve alfa lipoik asitin in-vitro koşullarda meme kanseri hücreleri üzerine etkilerinin incelemesi, Yüksek Lisans, kocaeli üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü.
- Uygur, A. G., Şingirik, E., & Yücel, A. H. (2019). Metotreksat Kaynaklı Hasarlarda Alfa Lipoik Asit'in Koruyucu Etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 28(3), 227-236.
- Uzar, E., (2006), Metotreksat Uygulanan Ratların Siyatik Sinir ve Medülla Spinalisinde Oksidan / Antioksidanların Durumu: Kafeik Asit Fenetil Ester'in Antioksidan Koruyucu Etkisi, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı.
- Vahlquist, A. (1992). Long-term safety of retinoid therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 27 (6 Pt 2), S29–S33. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(08\)80257-5](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(08)80257-5).
- Vardi, N., Parlakpınar, H., Ates, B. (2012). Beneficial effects of chlorogenic acid on methotrexate-induced cerebellar Purkinje cell damage in rats. *J Chem Neuroanat.*, 43(1), 43-47.
- Visentin, M., Zhao, R., & Goldman I. D. (2012). Antifolates, *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 26, 629-648.
- Warren, R. B., and Griffiths, C. E. (2008). Systemic therapies for psoriasis: methotrexate, retinoids, and cyclosporine. *Clinics in dermatology*, 26(5), 438- 447.
- Widemann, B., Adamson, P., C. (2006) Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. *Oncologist*.;11(6):694-703. Doi: 10.1634/theoncologist.11-6-694. Pmid: 16794248.

- Willcox, B. J., Curb, J. D., & Rodriguez, B. L. (2008). Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies. *Am J Cardiol.* 2008;101(10A):75D-86D. doi:10.1016/j. amjcard.
- Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R. & Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *The Journal of Nutrition*, 134(3),489-92.
- Xian, C. J., Cool, J. C., Scherer, M. A., Fan, C. & Foster, B. K. (2008). Folinic acid attenuates methotrexate chemotherapy-induced damages on bone growth mechanisms and pools of bone marrow stromal cells, *J. Cell. Physiol.* 214, 777–785.
- Yan, L. J., & Sohal. R. S. (1998). Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95: 896-901.
- Yürük, A. A. & Ayaz, A. (2014). Alfa Lipoik Asidin Sağlık Üzerine Etkileri, H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 1(1),11-23.
- Zachariae, H., Søgaaard, H., and Heickendorff, L. (1989). Serum aminoterminal propeptide of type III procollagen. A non-invasive test for liver fibrogenesis in methotrexate-treated psoriatics. *Acta dermato-venereologica*, 69(3), 241- 244.
- Zimmerman, C. M., Clemens, L.D., Duryee, J. M., & Sarmiento. et al. (2017). Direct antioxidant properties of methotrexate: Inhibition of malondialdehyde-acetaldehyde-protein adduct formation and superoxide scavenging. 13,588-593.
- Zito, P. M. & mazzoni, T. Acitretin. (2020). Statpearls [internet]. Treasure island (fl): statpearls publishing; 2020 jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/Nbk519571>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Shadi SADIGH

Doğum Yeri: Maragheh / İRAN

Doğum Tarihi: 28.08.1988

Eğitim Durumu

Lise: Ebne SİNA Lisesi /2007

Lisans: 01 Eylül 2008- 01 Haziran 2012 (3 yıl 10 ay) Lisans, Anadal/Normal Öğrenim, İRAN İSLAMİC AZAD UNIVERSITY, İRAN İRAN İSLAMİC AZAD UNIVERSITY, İRAN İSLAMİC AZAD UNIVERSITY Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 15.0 / 10000.0.

Yüksek Lisans: 01 Ocak 2012 - 01 Ocak 2015 (3 yıl 1 ay) Yüksek Lisans, Tezli Program, ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK (YL) (TEZLİ) Tez Başlığı: Brevibacillus Brevis (p14) Ve Brevibacillus Borstelensis (p35) Bakterileri Tarafından Aynı Ortamda Mannanaz Ve Fitaz Enzimlerinin Üretilirliğinin Araştırılması Tez Konusu: İki Bakteri Aynı Ortamda Hiç Kimyasal Madde Eklemeden Mannanaz Ve Fitaz Enzimleri Ürettiği İncelendi Tarih: 30 Aralık 2014 Tez Danışmanı: AHMET ADIGÜZEL Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.75 / 4.0

İletişim Bilgileri

E mail: Shadi.sadigh@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1253-1971>

Bidiriler

Sadigh S., Dıraman, E., Solmaz, F.G., (2019), The Investigation of The Effect of α -Lipoic Acid on Liver Polyphenol Oxidase Activity in Acitretin and Methotrexate Given Rats, 3rd International Symposium on Innovative Approaches in Scientific Studies, 19-21 April, Ankara ,Turkey.

Sadigh S., Dıraman, E., Solmaz, F.G, (2019), Investigation of The Effect of α -Lipoic Acid on Liver Cell Damage in Acitretin and Methotrexate Given Rats, 4th. international Turkish Congress on Molecular Spectroscopy, 05-09, August 2019, Kusadasi, Aydın, Turkey

Boz, B., Dıraman, E., Solmaz, F.G., Sadigh, S. (2018), Effect Of Methotrexate On Liver, Kidney And Gonads. 2nd International Symposium on Innovative Approaches in Scientific Studies. November 30- December 2, Posters Book, 7-10, Samsun, Turkey.

Boz, B., Dıraman, E., Solmaz, F.G., Sadigh, S.(2019), Asitretin ve Metotreksat Uygulanmış Ratlarda Böbrek Hücre Hasarı Üzerine Alfa Lipoik Asitin Etkilerinin Araştırılması. Uluslararası 19 Mayıs Multidisipliner Çalışmalar Kongresi. 17-19 Mayıs 2019, Özet Kitabı, 34, Samsun, Türkiye.