

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OPTİMUM DOZDAKİ ASİTRETİN SİKLOSPORİN VE
METOTREKSATIN SPERMATOGENEZİS ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ENDOKRİNOLOJİK VE HİSTOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Yuhanize Taş Demircan
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMANLAR
Prof. Dr. Ömer ÇALKA
Doç Dr Serap GÜNEŞ BİLGİLİ**

VAN-2014

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OPTİMUM DOZDAKİ ASİTRETİN SİKLOSPORİN VE
METOTREKSATIN SPERMATOGENEZİS ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ENDOKRİNOLOJİK VE HİSTOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Yuhanize Taş Demircan
UZMANLIK TEZİ**

Jüri Başkanı

Üye

Üye

Üye

Tez Kabul Tarihi

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından
2012-TF-U038 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dermatoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danıŐmanım Prof.Dr. Ömer ÇALKA ve Doç.Dr Serap GÜNEŞ BİLGİLİ hocamıza tez çalışması sırasında bana yardımları için sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Klinik hocalarımdan Doç.Dr. AyŐe Serap KARADAĞ ve Yrd. Doç.Dr. Hatice Uce ÖZKOL'a saygılarımı sunarım.

Tez çalışması sırasında bana yardım eden Yrd. Doç.Dr Gülay Bulut, Doç.Dr Servet KAVAK ve Doç.Dr. Sıddık KESKİN hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

EŐim Veysi DEMİRCAN, çocuklarım Berfin Naz DEMİRCAN ile Jan DEMİRCAN'a eğitim sürecim boyunca bana gösterdikleri destek ve sabır için teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
Simgeler Ve Kısaltmalar	IV
Şekiller ve resimler:	VI
Tablolar	VII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testis	3
2.1.1 Testis Anatomisi.....	3
2.1.2 Testis Histolojisi.....	3
2.1.3 Spermatogenezis.....	4
2.1.4 Testis Histofizyolojisi	8
2.1.5 Kan-Testis Bariyeri.....	9
2.2. Siklosporina	9
2.2.1. Siklosporin A'nın Etki Mekanizması.....	10
2.2.2. Siklosporin A'nın Farmakokinetik Özellikleri.....	11
2.2.3. Siklosporin A ile etkileşen İlaçlar	12
2.2.4. Doz	14
2.2.5. Siklosporin tedavisinin kontrendikasyonları.....	14
2.2.6.Yan etkileri.....	15
2.3. Metotreksat	19
2.3.1. Metotreksat'ın Etki Mekanizması ve Kimyasal Yapısı	19
2.3.2. Farmakokinetiği.....	20
2.3.3. Doz ve Uygulama	21
2.3.4. Metotreksat Metabolizmasını Etkileyen İlaçlar.....	22
2.3.5. MTX'in Kullanıldığı Hastalıklar	23
2.3.6.Tedavi Öncesi Değerlendirme.....	26
2.3.7. Metotreksat Toksisitesi	26
2.3.8.Tedavinin Takibi	32
2.3.9. Doz Aşımı	33
2.4. Retinoidler	33
2.4.1.Retinoidlerin metabolizması ve etki mekanizması.....	34
2.4.2. Retinoidlerin Biyolojik Etkileri.....	39
2.4.3. Tretinoin.....	39
2.4.4. İso-tretinoin (13-cis retinoik asit)	40

2.4.5. Etreinat.....	41
2.4.6. Asitretin	41
2.4.7.Tazaroten.....	42
2.4.8. Retinoidlerin Dermatolojide Kullanım	43
2.4.9. Retinoid tedavisinin kontrendikasyonları	45
2.4.10. Tedavi takibi.....	45
2.4.11. İlaç etkileşimleri	46
2.4.12. Retinoidlerin Yan Etkileri	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Gereçler:	53
3.2. Çalışmanın Yapılması	55
3.3. Testis Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi.....	58
3.4. Yöntem (uygulama ve istatistiksel analiz)	59
4. BULGULAR.....	60
5.TARTIŞMA ve SONUÇ.....	68
ÖZET	81
ABSTRACT	83
KAYNAKLAR.....	85
ÖZGEÇMİŞ.....	104
KABUL ONAY SAYFASI.....	105

Simgeler Ve Kısaltmalar

FDA	: Amerikan ilaç ve gıda dairesi
SsA	: Siklosporin
MTX	: Metotreksat
RAR	: Retinoik asit reseptörü
RXR	: Retinoik asit X reseptörü
FSH	: Folikül stimulan hormonu
LH	: Luetinizan hormonu
cAMP	: Adenilat siklaz
ABP	: Androjen bağlayıcı pritein
IL	: İnterlökin
NF	: Nükleer faktör
Th	: Yardımcı T hücresi
Tc	: Sitotoksik T hücresi
Ts	: Süpresör T hücresi
MPTP	: Mitokondrial permeabilite geçiş kanalı
IFN γ	: İnterferon gama
IL-2R	: İnterlökin 2 reseptör
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
TGF β	: Transformin growt faktör beta
CYP 4503A	: Sikokrom P 450 3A
EBV	: Ebstein Barr virüs
CMV	: Sitomegalovirüs
GABA	: Gama amino bütirik asit
NO	: Nitrik oksit

ALP	: Alkalen fosfataz
GGT	: Gama glutamil transpeptidaz
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
PGE	: Prostaglandin E
PGI2	: Prostasiklin
RAAS	: Renin anjiotensin aldesteron sistemi
DHF	: Dihidrofolat
THF	: Tetrahidrofolat
DHFR	: Dihidrofolat redüktaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
RA	: Romatoid artrit
KI	: Kemik iliği
KC	: Karaciğer
PIIINP	: Tip 3 prokollojen amino terminal propeptid
GİS	: Gastrointestinal sistem
HİV	: İnsan İmmün yetmezlik virüsü
RPB	: Retinol bağlayıcı protein
HRPB	: Hücresel Retinol bağlayıcı protein
At-RA	: All- trans retinoik asit
RARE	: Retinoik asit yanıt elementi
AP1	:Aktivatör protein 1
NF-IL6	: Nükleer faktör interlökin 6
CTCL	: Kutanöz T hücreli lenfoma
İBH	: İnflamatuvar barsak hastalığı

Şekiller ve resimler:

Şekil 1: Semifer tübül ve intertisyel bağ dokusunun şematik görününü.....	7
Şekil 2: Siklosporin A'nın kimyasal yapısı.....	10
Şekil 3: Metotreksat'ın kimyasal yapısı.....	19
Şekil 4: Folik asitin moleküler yapısı	20
Şekil 5: Dihidrofolatın moleküler yapısı.....	20
Şekil 6: Retinoidlerin kimyasal yapısı	34
Şekil 7: Retinoidlerin metabolizması ve etki mekanizması	36
Şekil 8: Retinoid ligand- retinoid reseptör kompleks aktivasyon regülasyonu.....	38
Resim 1: Çalışmaya alınan ratlar	53
Resim 2: SsA, MTX ve asitretin ilaçlarının hazırlanması.....	54
Resim 3: Ratlara ilaçların verilmesi.....	55
Resim 4: Anestezi yapılan ratlar	56
Resim 5: Ratlardan kan alınması	56
Resim 6: Ratlardan testis dokusunun alınması	57
Resim 7: Ratlardan alınan testis dokusu	57
Resim 8: Kontrol grubundaki erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX10.....	64
Resim 9: Kontrol grubundaki erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX40.....	64
Resim 10: SsA verilen erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX20	65
Resim 11: SsA verilen erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX40	65
Resim 12: Asitretin verilen erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX10	66
Resim 13: Asitretin verilen erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX20	66
Resim 14: MTX verilen erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX10	67
Resim 15: MTX verilen erkek rattan alınan testis dokusu, HE ile boyamX20	67

Tablolar

Tablo 1: Serum SsA seviyesini düşüren ilaçlar	12
Tablo 2: Serum SsA seviyesini arttıran ilaçlar	12
Tablo 3: SsA'nın nefrotoksik etkisini attıran ilaçlar.....	12
Tablo 4: MTX ile etkileşerek toksisitesini arttıran ilaçlar	22
Tablo 5: MTX'in dermatolojide kullanımı.....	24
Tablo 6. MTX tedavisi kontrendikasyonları	25
Tablo 7: MTX tedavisi sırasında hepatotoksisite gelişimi için risk faktörleri	29
Tablo 8: MTX tedavisi sırasında hematolojik toksisite gelişimi için risk faktörleri.....	31
Tablo 9: Sentetik retinoidlerin sınıflandırılması.....	34
Tablo 10: retinoidlerin dermatolojide kullanım alanları	43
Tablo 11: Sistemik retinoidlerin kontrendikasyonları	45
Tablo 12: Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin gruplar arasında tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları	60
Tablo 13: Vakuolizasyonun gruplara göre dağılımının istatistiksel olarak karşılaştırılması	61
Tablo 14: Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin kontrol grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları	62
Tablo 15: Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin SsA grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları	62
Tablo 16: Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin asitretin grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları	63
Tablo 17: Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin MTX grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları	63

1.GİRİŞ

Vitamin A türevi olan asitretin psoriasis, kutanöz T hücreli lenfoma, keratinizasyon bozuklukları, kanser ve bazı prekanseröz durumlarda, likenoid hastalıklarda, granülomatöz bazı hastalıklarda dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Retinoidlerin etkileri sitoplazmik bağlayıcı proteinler ve nükleer retinoid reseptörler aracılığıyla oluşur. İki ana nükleer reseptör vardır ve bunlar RAR ve RXR'dır. Bu reseptörlerinde alfa, beta ve gama isoformları bulunur. Sistemik retinoid tedavisi akut ve kronik toksisiteye neden olabilir. Mukokutanöz, nörolojik, mukoskeletal, hematolojik ve teratojenik etkileri yanında spermatogenezis üzerine olumsuz etkieri bulunmaktadır. Bu durum asitretinin kullanımını sınırlandırmaktadır (1).

Siklosporin (SsA), fungal kökenli bir siklik peptid olup organ naklinde greft sağ kalım oranlarını artıran güçlü bir immünsüpresif ajandır. İmmünsüpresif etkisini yardımcı ve reglatuvar T lenfositler, NK (naturel killer) hücreleri, monositler ve antijen sunucu hücrelerin aktivasyonunu baskılayarak yapar (2).

Siklosporin dermatolojide psoriasis, pemfigus, atopik dermatit, Behçet hastalığı, dermatomyozit, epidermolizis büllöza gibi hastalıklarda ve organ transplantasyonlarında kullanılmaktadır (3).

SsA'nın çok sayıda yan etkisi vardır. Bunlar arasında hipertansiyon, hiperlipemi, obezite, alkolizm, renal toksisite, infeksiyon, malignite, karaciğer disfonksiyonu önemli olanlardır (4). Oral siklosporinin testisin endokrin fonksiyon bozukluğuna ve sekonder hipofiz yetmezliğine neden olduğunu ileri süren çalışmalar da vardır (5).

Metotreksat hem kemoterapotik olarak (6) hem de dermatolojide psoriasis, kutanöz T hücreli lenfoma, Behçet hastalığı, sarkoidoz, pitriazis likenoides et varioliformis akuta, lupus eritematozus, pemfigus vulgaris ve dermatomyozit gibi hastalıklarda kullanılmaktadır (7). Metotreksat yapısal olarak pürin ve timidin sentezi için kofaktör olan folik asidin sentetik yapısal analogu olup dihidrofolatın tetrahidrofolata dönüşümünü katalize eden dihidrofolat redüktaz enzimini kompetitif olarak inhibe eder (8). Tetrahidrofolat poliamin sentezi ile homosistein metionin dönüşümünde biyolojik olarak aktif birkaç folat kofaktörü için önemli rol oynar. Tetrahidrofolat sentezinde defekt toksik etki oluşumunda önemli rol oynayan homosistein birikimi ile sonuçlanır. Metotreksat ayrıca keratinositlerde apoptozu indükleyen ve DNA sentezinde geçici azalma ile birlikte

epidermal hücre kinetiklerini de değiştirir. Nötrofil kemotaksisini inhibe eder. İlacın GIS, hepatik, hematopoeitik, renal, pulmoner, malignite eğilimi, fotosensivite ve infeksiyona eğilim gibi ve erkek fertilitesi üzerine etkileri de bulunmaktadır. Sperm motilitesi üzerine anormalliklere neden olabilir. Bu ilaçlarla dermatolojide bazı durumlarda uzun süreli tedaviye ihtiyaç duyulmaktadır ve bu durum kronik toksisiteye yol açabilmektedir (7).

Yukarıdaki bilgiler ışığında asitretinin, siklosporinin ve metotreksatın üreme hormon parametreleri üzerindeki değişiklikleri ve spermatogenezis üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için bu çalışmaya gerek duyulmuştur. Bu alışma sonucunda ortaya çıkacak verilerle asitretin, siklosporin ve metotreksatın spermatogenezis üzerindeki etkileri daha iyi anlaşılacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Testis

2.1.1 Testis Anatomisi

Funiculus spermaticus'a asılı durumda bulunan testisler, skrotumun içinde sağlı sollu bir çift olarak bulunurlar. Beyaz görümlü ve kendine özgü bir sertliği olan testislerin büyüklükleri kişiden kişiye değişmekle birlikte, ortalama 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde, 2-3 cm kalınlığında ve 20-30 gr ağırlığındadır. Sıcaklıkları vücut sıcaklığından 3- 4°C daha düşüktür (9,10). Testisin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları düz ve konveks olup, visseral periton (epiorchium) ile kaplıdır. Arka kenarının sadece lateral kısmı peritonla örtülüdür. Peritonsuz olan medial bölümüne, epididimis tutunur ve buradan damar, sinirleri ve kanalları geçer (9).

Yapısı: Testis lamina visceralis (epiorchium), tunica albuginea ve tunica vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır.

2.1.2 Testis Histolojisi

Testisler, erkek üreme hücresi spermatozoonun üretildiği ve cinsiyet hormonu testosteronun üretilip salgılandığı hem ekzokrin hem endokrin işlevi olan yapılardır. Spermatogenezin olduğu her bir seminifer tübül yaklaşık 150-250 µm çapında ve 30-70 cm uzunluğundadır (11). Seminifer tübüller bir fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve kompleks bir germinal veya seminifer epitelden oluşur (11). Seminifer epitelinin, destek hücreleri olarak bilinen sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücreler oluşturur. Spermatogenetik hücreler, bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir. Belirli sayıda bölünme geçirdikten sonra bu hücreler farklılaşırlar ve spermatozoayı oluştururlar. Bunlar erkek germ hücrelerinin sürekli farklılaşma sürecindeki çeşitli evrelerini temsil ederler. Başlangıçtan bitişe kadar gerçekleşen bu olay spermatogenezis denir ve 3 evreye ayrılır (11).

1- Spermatogenezis; Spermatogonyanın bölünme esnasında spermatositogenesis (Yunanca, Sperma; tohum+ kytos+genesis) olarak adlandırılan evre, bu bölünmeler sonucunda spermatositler oluşur.

2- Mayoz: Spermatozitlerin arka arkaya 2 bölünme geçirerek kromozom sayılarının ve DNA miktarlarının eşit olarak her hücrede ikiye ayrılması ile oluşan ve spermatidlerin oluşmasını sağlayan evredir.

3- Spermiogenesis: Bu evrede ise, spermatidlerin özenli bir hücre farklılaşması geçirerek spermatozoaları (spermiyumları) oluşturduğu safhadır.

2.1.3 Spermatojenesis

Seminifer tübüllerin enine kesitinde spermatojenetik hücreler bazı özellikleri ile birbirlerinden ayırt edilebilirler. İnsanlarda spermatojenesis ve spermiyogenezis yaklaşık 9 haftada tamamlanır. Herhangi bir tübülde bu dönemde yaşanan bütün aşamaları genellikle görmek mümkün olmaz. Spermatojenesis, bazal laminanın hemen üstüne yerleşmiş spermatojenyum ile başlar. Bu hücre, yaklaşık 12 µm çapında, çekirdeği soluk boyanan kromatin içerir. Seksüel olgunlaşma sırasında, bu hücreler mitoz serisi geçirirler ve yeni oluşan hücreler iki yol izleyebilir (12):

1- Bir ya da daha fazla mitotik bölünmeden sonra farklılaşmamış kök hücreler olan tip A spermatojenyumlar (sperma+Yun, gone, nesil) olarak devam ederler, ya da

2- Süregelen mitotik sikluslar boyunca farklılaşarak tip B spermatojenyumları oluştururlar. Spermatojenyum A'lar spermatojenik serinin kök hücreleri olarak tanımlanırlar. Primer spermatozitlerden farklılaşan öncül (progenitör) hücreler ise Tip B spermatojenyumlardır. Bu hücreler oluşmalarından hemen sonra birinci mayotik bölünmenin profazına girerler. Bu sırada primer spermatozit 46 (44+XY) kromozoma sahiptir ve DNA'sı da 4 N'dir. N, haploid kromozom sayısını (insanlarda 23 adettir) ya da bu kromozomlardaki DNA miktarını belirtmektedir. Bu profaz safhasında, hücreler leptoten, zigoten, pakiten ve diploten şeklinde dört faz geçirerek diakinez safhasına ulaşırlar ve sonuçta kromozomlar ayrılır. Mayozun bu evresinde genler arasında "crossing-over" oluşur. Daha sonra hücre metafaza girer ve metafazı takip eden anafaz safhasında, kromozomlar her bir kutba doğru çekilirler. Bu bölünmede, profazın yaklaşık 22 gün gibi bir süre alması nedeniyle incelenen hücrelerin büyük çoğunluğu bu fazda görülürler.

Spermatojenik seride en büyük olarak görülen hücreler primer spermatozitlerdir (12).

İlk mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatozit denilen ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler meydana gelir. Bu sayıca azalma (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4n'den 2n'e) ile birlikte

olur. Sekonder spermatositlerin testis kesitlerinde gözlenmesi zordur, çünkü bunlar çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren ve interfazda kısa süre kalan hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi spermatidlerin oluşmasına yol açar; spermatidler 23 kromozom (1n) ve normalin yarısı DNA' ya (1n) sahip hücrelerdir. Birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında spermatositlerde S fazı (DNA sentezi) görülmediği için ikinci bölünmeden sonra her bir hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (1n) hücreler meydana gelir. Spermatidler, spermiyogenez olarak bilinen değişim dönemine girerler. Bu hücrelerin normal diploid sayıya dönmeleri fertilizasyon ile gerçekleşir. Hücre bölünmesindeki indirgeyici işlev sebebiyle mayoz bölünme süreci, kromozom sayısının türler için sabit olarak belirli bir miktarda kalmasını sağlar (12).

Spermiyogenez olarak bilinen bu değişim döneminde, spermatidlerin çekirdekleri küçülür, yoğunlaşır. Hücreler kuyruk oluşturarak spermatozoonlara dönüşürler. Spermatid özelliğini kazanan hücreler bir daha bölünme geçirmezler. Olgunlaşarak yine haploid sayıda kromozoma sahip spermiyumlara dönüşürler (Şekil-1). Spermiyogenezde spermatogenetik hücreler gibi seminifer tübüllerde yer alan Sertoli hücreleri önemli role sahiptirler. Değişim süresince, spermatidler Sertoli hücre zarına bağlı kalırlar. Spermiyogenezde hücrelerin yeni özellikler kazanarak değişmesi dört dönemde incelenir (13):

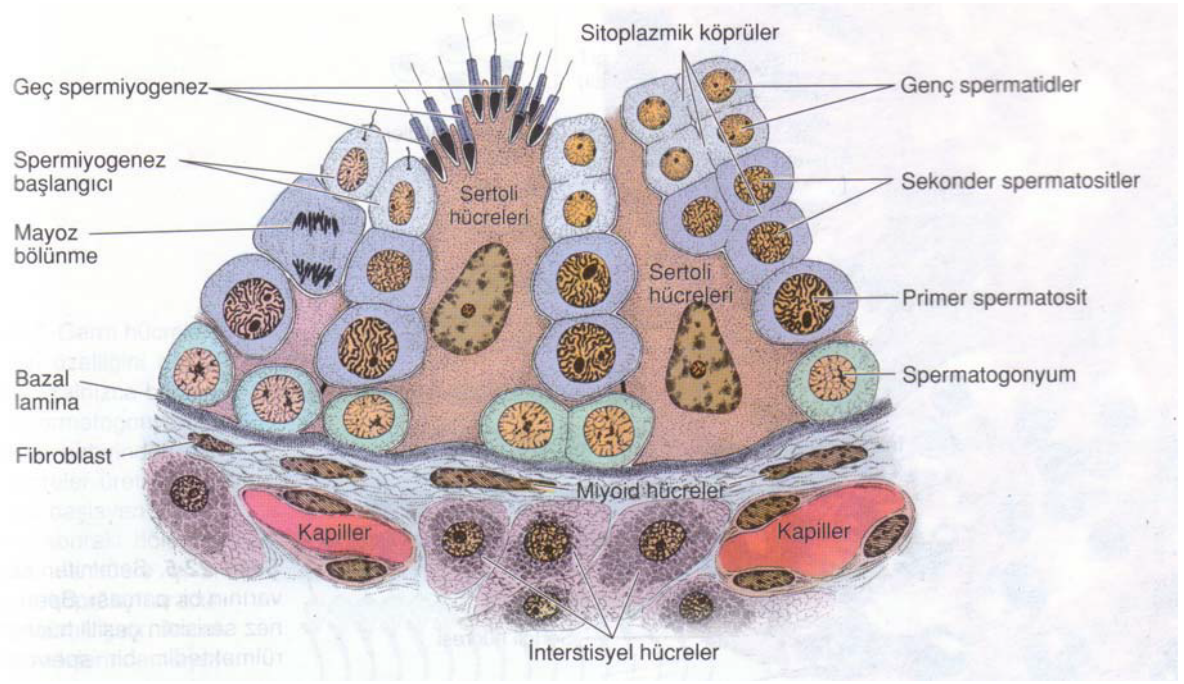
Golgi dönemi: Çok sayıdaki Golgi kompleksinin bulunduğu bölgede PAS (+) granüllerin birikmesi ile karakterize bir dönemdir. Glikoproteinden zengin içerikli bu proakrozomal granüller çekirdek zarı yakınındaki membranla sınırlı akrozomal veziküllerle birleşirler. Akrozomla veziküllerin bulunduğu bölge gelişen spermın ön kutbunu belirler. Bu dönemde sentriyoller de arka kutba doğru hareket ederler. Burada sperm kuyruğunun aksonemini oluşturacak olan mikrotubuller sentriyollerden başlayarak yapılırlar (13).

Kep dönemi: Akrozomal vezikül çekirdeğin ön bölümünü kaplayacak şekilde genişleyip şapka gibi bu bölümü örter (akrozomal kep) (13).

Akrozom dönemi: Bu dönemde belirgin şekil değişikliği yaşanır. Sperm başı Sertoli hücrelerinin sitoplazmasının derinlerine gömülür. Kuyruk flajellumu iyice uzayarak lümende belirgin olarak görülmeye başlar. Yoğunlaşmış çekirdek yassılaşıp uzar. Akrozom, apikal plazma zarına iyice yaklaşır. Sitoplazmik mikrotubuller akrozomun arka yüzünde spermatidin arka kutbuna uzanan silindirik bir kılıf şeklinde organize olurlar.

Sentrioller, immatur sentriollerin çekirdeğe tutunduğu çekirdek arka yüzüne göç ederek gelişmekte olan spermin boyun veya birleştirici parçasını oluşturmak üzere değişime uğrarlar. Nukleusa bağlı olan sentriyolden kaynaklanan 9 adet kalın lif aksonemin mikrotubullerinin periferinde yer alan dış yoğun lifler olarak kuyruk içinde uzanır. Bu lifler çekirdek ve flajellumu birleştirdiklerinden dolayı bağlayıcı parça olarak isimlendirilirler. Plazma zarı flajellum yüzeyini kaplamak üzere arkaya doğru uzarken, silindirik mikrotubul kılıfı kaybolur, mitokondriyonlar sitoplazmanın geri kalan bölümlerine göç ederek boyun bölümünün geniş liflerini sıkı bir kılıf şeklinde sarmalarlar. Bu bölge spermiyumun kuyruğunun orta parçasıdır. Orta parçanın distalinde iki longitudinal fibroz kolon ve çok sayıda bağlayıcı halka içeren fibröz kılıf esas parçanın 9 longitudinal lifini çevreleyerek flajellumun neredeyse ucuna kadar ilerler. Fibröz kılıfın distalinde kalan bu kısa bölüm son parça olarak isimlendirilir (13).

Olgunlaşma dönemi: Sitoplazma miktarının azaldığı son dönemdir. Spermatidler birbirleri ile olan bağlantılarını kaybederler, Sertoli hücrelerinden ayrılarak lümene düşerler (13). Gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalarda, testislere deneysel ³H-timidin enjeksiyonu ile insanda spermatogonyum safhası ile spermatozoon oluşumu arasındaki sürenin yaklaşık 64 gün olduğu gösterilmiştir. Yavaş bir süreç geçirmesine rağmen, spermatogenez, eş zamanlı olarak her seminifer tübülde aynı anda gerçekleşmez; bu olay bir dalgalanma biçiminde olur. Böylece, spermatogenez her bölgede farklı bir safha izleyerek, düzensiz bir görünüm alır. Bu olay da, seminifer tübüllerin bazı bölgelerinde spermatozoonlar bulunurken, diğer bölgelerinde sadece spermatidlerin bulunduğunu açıklamaktadır. Seminifer epitel siklusu germinal epitelde belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan matürasyon değişiklikler dizisini ifade eder. İnsanda her bir siklus yaklaşık 16 ± 1 gün sürer ve spermatogenez 4 siklustan sonra biter (64 ± 4.5 gün) (14).



Şekil 1. Seminifer tübül ve interstisyel bağ dokusunun şematik görünümü (1).

Sertoli hücreleri spermatozoonların desteklenmesinde ve olgunlaşmasında çok önemli rol oynar. Puberteden sonra seminifer tübül epitelindeki hücrelerin yaklaşık % 10'unu Sertoli hücreleri oluşturur. Sınırları güçlükle ayırt edilen bu prizmatik hücreler bazal membrandan seminifer tübül epiteline kadar uzanır. Tepe kısımlarında yeni oluşan spermatozoonlar lümeneye bırakılıncaya kadar spermatidlerin yerleştiği kriptaya benzer girintiler bulunur. Her hücrenin sınırları düzgün olamayan ökromatik bir çekirdeği ve belirgin bir çekirdekçiği bulunur. Sitoplazmada mikrotübüller ve ara filamanlardan oluşan gelişmiş bir hücre iskeletinin yanı sıra, yassı mitokondriyonlar, çok belirgin olmayan bir düz endoplazmik retikulum, çok sayıda lipid damlacığı ve lipofuksin içeren lizozomlar bulunur. Bitişik hücreler taban ve yan yüzeylerindeki sıkı bağlantı kompleksleriyle birbirine tutunur. Bu tutunma kompleksleri epiteli bazal ve adluminal bölmelere ayırır. Bazal kompartman; spermatozonyum ve genç spermatositleri içerirken, Adluminal kompartman, genç spermatositleri ve spermatidleri içerir. Buna bağlı olarak oluşan kan-testis bariyeri spermatozonyumlarla primer spermatositleri daha tepedeki sekonder spermatositler ve spermatidlerden ayırır. Bu seminifer tübül lümeninin içindeki yapılar dolaşım sistemindeki antijenlerden yalıtılır, dolayısıyla spermatositler ve spermatidleri otoimmün bağışıklık reaksiyonlarından ve kanda bulunan maddelerden korur. Sertoli hücreleri spermatid artıklarını fagosite eder ve spermin yaşaması için mutlaka gerekli olan androjen bağlayıcı protein gibi pek çok maddeyi ve sıvıyı salgılar. Hücre bağlantıları

ektoplazmik özelleşmeler olarak adlandırılan bölgelerde aktin filamanları ve endoplazmik retikulumuyla sıkı bir ilişki gösterir. Bu özelleşmeler spermatozoonların lümenine doğru hareketi sırasında bağlantının yapısındaki değişikliklere uyumu sağlayan yapılar olabilir. Sertoli hücrelerinin yaygın hücre iskeleti ağı spermatozoonların hareketinin sağlanmasına yardımcı olur (11).

Sertoli hücreleri insanlarda ve diğer hayvanlarda üreme periyodu süresince bölünmezler. Bunlar özellikle enfeksiyona, kötü beslenmeye, X ışını irradiasyonu gibi kötü koşullara dayanıklıdır ve yaralanmalarda diğer spermatogenetik serisi hücrelere göre daha çok hayatta kalırlar (12).

2.1.4 Testis Histofizyolojisi

Vücut içi sıcaklığı olan 37°C altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin düzenlenmesinde ısı çok önemlidir. Testiküler ısı 35°C'dir, bu durum birkaç mekanizma ile kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus (pampiniform pleksus) her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde önemli olan bir karşı ısı akımı sağlar. Diğer faktörler; skrotumda oluşan terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha düşük bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir (12). Testisin inişindeki bozukluk olan kriptorşidizmde (Yun. kryptos, gizli + orchis, testis), testisler 37°C'de kalır ve spermatogenez inhibe olur. Çok ileri olmayan vakalarda testisler cerrahi operasyon ile skrotuma indirildikleri durumda spermatogenez normal olarak devam edebilir. Testis karın içinde kalırsa, bu ortamdaki sıcaklıkta germ hücrelerinin çoğalması inhibe olur; ancak testosteron sentezi devam eder. Bu da insanların kriptorşid oldukları halde neden kısır olduklarını ve halen sekonder seks karakterlerini geliştirebildiklerini ve ereksiyonu başarabildiklerini açıklar (12). Kötü beslenme, alkolizm ve bazı ilaçların etkisi ile spermatogonyumlarda değişiklikler ve spermatozoa yapımında bir azalma ortaya çıkar. X-ışını ve kadmiyum tuzları spermatogenik seriye ait hücrelerde oldukça toksiktirler ve bu hücrelerin ölümüne sebep olarak hayvanda kısırlığa sebep olurlar. Bisülfan germinal hücreler üzerinde etkilidir, hamile sıçanlara verildiği zaman, bunların erkek yavrularının germinal hücrelerini öldürür. Bu nedenle yavru steril kalır ve seminifer tübülleri sadece Sertoli hücrelerini içerir. Androjen-üreten interstisyel hücre tümörleri de erkeklerde erken puberteye yol açabilir (12). Bununla birlikte spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi hiç şüphesiz endokrin faktörler oluşturur. Spermatogenez, hipofizin folikül stimulan hormon (FSH) ve luteinizan hormonlarının (LH) testiküler hücreler üzerindeki etlilerine bağlıdır. LH, Leydig hücreler

üzerine etki ederek spermatogenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarır. FSH'nin Sertoli hücrelerine etki ederek adenital siklaz yapımını stimüle ettiği ve sonuçta cAMP'nin artmasına sebep olduğu ve aynı zamanda da androjen-bağlayıcı proteinin (ABP) sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve bunu seminifer tübüllerin lümenine taşır. Testosteron spermatogenesizi uyarırken, östrojenler ve progesteronlarla inhibe edilir (12). Spermatozoonlar epididimise, uygun bir medyum olan testiküler sıvı içinde taşınırlar. Testiküler sıvı Sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilir; bu sıvı steroidler, proteinler, iyonlar ve testosteronla birleşmiş androjen-bağlayıcı protein içerir. Spermatogonial hücrelerin farklılaşması sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar (12).

2.1.5 Kan-Testis Bariyeri

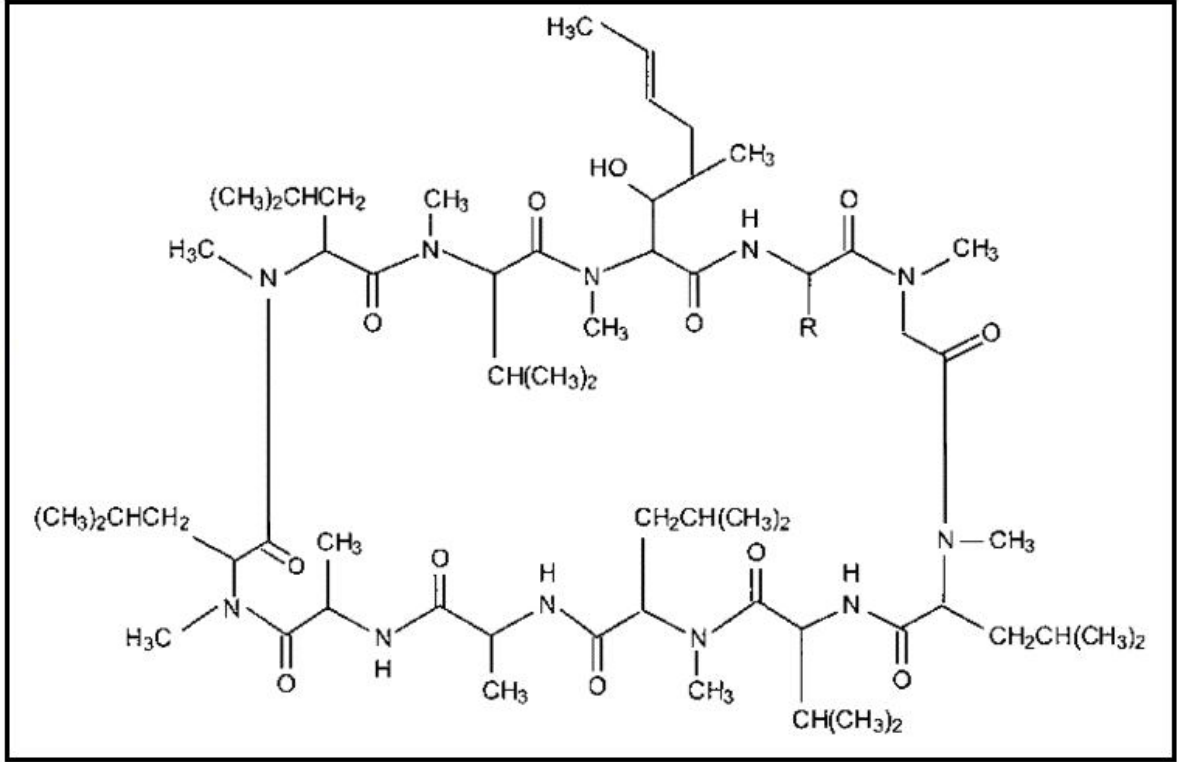
Bu bariyerden Sertoli hücrelerinin arasındaki sıkı bağlantılar (occluding junctions) sorumludurlar ve erkek germ hücrelerini kandan gelen zehirli ajanlara karşı korumak için gereklidirler. Seksüel olgunlaşmanın, immünolojik yeteneğinin gelişmesinden uzun bir süre sonra ortaya çıkması sebebiyle farklılaşmakta olan sperm hücreleri yabancı olarak algılanabilir ve germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir immun yanıt oluşmasına neden olabilirler. Kan-testis bariyeri, gelişen spermler ve immun sistem arasında oluşabilecek herhangi bir etkileşimi ortadan kaldıracaktır. Bu bariyer seminifer tübüllere immunglobulinlerin geçmesini önler ve bu sayede serumlarında çok yüksek düzeylerde sperm antikorları bulunan hastalarda herhangi bir fertilitte bozukluğu görülmez. Sertoli hücre bariyeri, seminifer epiteli bir otoimmun reaksiyonda korumuş olur (12).

2.2. Siklosporin A

Siklosporin hidrofobik, lipofilik özellikte, funguslardan elde edilen 11 aminoasitten oluşmuş siklik bir polipeptittir. İlk olarak 1970 yılında izole edilmiştir (2,15).

Molekül ağırlığı 1202.64 daltondur (11). SsA transplantasyonda ilk kez Calne ve arkadaşları tarafından 1978 yılında kullanılmıştır (15).

Lipofilik, beyaz veya beyazımsı tozudur. Pratik olarak suda çözünmez, ancak etanolde, pek çok organik çözücüde ve lipidlerde oldukça fazla çözünür. Siklik yapısına bağlı olarak çok dayanıklı bir bileşiktir, ancak dayanıklılığı sınırsız değildir (1,2).



Şekil-2. Siklosporin A'nın Kimyasal Yapısı (16).

2.2.1. Siklosporin A'nın Etki Mekanizması

SsA, T hücre stimülasyonunu başlangıç aşamasında birkaç yoldan inhibe eder ancak bilinen en önemli etkisi kalsinörin inhibisyonudur. Özellikle IL 2 yapımını baskılayarak T lenfosit çoğalmasını başlangıç aşamasında inhibe eder (2).

SsA, DNA da IL 2 geni enhancer bölgesine bağlanmaktadır ve IL 2 geni transkripsiyonunu önlemektedir. Siklosporinin bu etkilerine, siklofilin A ve siklofilin D olarak adlandırılan iki sitoplazmik proteine bağlanması aracılık eder (2,17) SsA hücrede siklofilin ile kompleks oluşturur. Siklofilinler, hatalı katlanmış proteinlerin doğru katlanmasını katalize eden şaperonin aktivitesine sahip proteinler olan peptidil-prolil izomerazlardır(17). Kompleks 'kalsinörine' bağlanır aktivasyonu için nükleer faktörü (NF) defosforile eder. Defosforile olmuş nükleer faktör daha sonra nükleusa taşınır, orada T hücre aktivasyonuna katılan bazı protein ürünlerinin gen transkripsiyonunu hızlandırır (18).

Daha sonra gen transkripsiyonuna bağlı olarak IL 2 ve diğer sitokinlerin salınımını engeller. SsA, yardımcı T(Th) hücrelerden IL 2 salınımını selektif olarak önleyerek, immünsüpressif özellik göstermektedir. IL 2'nin yetersiz üretimi sitotoksik T hücrelerin (Tc) oluşumunu da selektif olarak engeller. Ayrıca SsA Tc hücrelerinin üzerinde bulunan IL 2 reseptörlerini de bloke eder. Sonuçta Tc lenfositlerin aktivitesi

durur. Tc hücreleri, organ naklinde transplantın reddedilmesini sağlayan, otoimmün hastalıklarda da asıl hücresele patolojiyi oluşturan temel hücrelerden biridir. SsA supresör T (Ts) hücrelerinin fonksiyonlarını bozmaz. Böylece organizmanın kendisini yanlış algılanmamasını sağlar (19). Siklofilin D'ye siklosporin bağlanması apoptozisi inhibe edici etkisinden primer olarak sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Siklosporin-siklofilin D kompleksi mitokondriyel permeabilite geçiş (MPTP) kanalına bağlanır ve açılmasını önler. Hücresele stres veya hasara yanıt olarak bu kanalın açılması apoptozis kaskadında birinci basamaktır. MPTP kanalı açıldığında mitokondriyel proteinler intermembran aralığından geçerler. DNA'yı parçalayan nükleazlar ve sitokrom c doğrudan apoptoziste etki ederler ve kaspazları aktive ederler (18).

SsA diğer lenfokinlerin oluşumunu da engeller. Böylece başta IL 2 olmak üzere IL 4, Interferon-gama (IFN γ), Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF α)'nın gen transkripsiyonu ve IL 2 reseptör (IL 2R) ekspresyonu engellenmektedir. Bu sayede lenfosit proliferasyonu da engellenmektedir (19).

2.2.2. Siklosporin A'nın Farmakokinetik Özellikleri

SsA, oral, intravenöz ve intramüsküler yolla uygulanabilir. Dar terapötik pencereye sahip SsA ince bağırsağın üst kısımlarından %30 oranında emilir ve absorpsiyonu bireysel farklılık gösterir, bu oran böbrek aktarımı yapılan hastalarda ilk birkaç hafta sonunda %60'a kadar çıkabilir (19).

Alımdan 3-4 saat sonra pik plazma konsantrasyonuna ulaşır ve 14-40 saatlik bir serum yarı ömrü vardır. Oral alındığında emilim yavaş ve kısmidir mutlak biyoyaralanım oranı %4-60 (ortalama %30) arasında değişir (20). Biyoyaralanımı üzerine yiyecek alımının etkisi tartışmalıdır. Suda çözünürlüğünün çok düşük olması nedeniyle oral formları zeytinyağı ve etanolde oluşan solüsyonlarda hazırlanmıştır. SsA'nın kan hücreleri ile plazma arasındaki dağılımı da sıcaklık ve konsantrasyona bağlıdır. Vücut sıcaklığında SsA'nın %70'i eritrositlerde, %20'si ise plazmada bulunur. Sıcaklık düştüğünde eritrosit içi SsA konsantrasyonu artar. SsA'nın dokular arası dağılımını araştıran çalışmalar, SsA'nın en çok yağ dokusunda biriktiğini göstermiştir. SsA'nın %99'u karaciğerde metabolize edilir ve oluşan 17 metaboliti safra yoluyla atılır. Bu nedenle karaciğer ve safra sistemi bozukluklarında atılımı azalır. Eliminasyon yarı ömrü 19-40 saattir. İdrarla atılımı çok azdır (21).

2.2.3. Siklosporin A ile etkileşen İlaçlar

İlaç etkileşiminde temel mekanizma, SsA'nın karaciğerde sitokrom p-450 mikrozomal enzimi aracılığı ile metabolize edilmesine dayanır. Bu enzimi uyaran ilaçlar, SsA'nın metabolizmasını hızlandıracağından kan düzeyini azaltırken, enzimin etkinliğini azaltanlar ise kan SsA düzeyini artırırlar (22)

Tablo 1. Serum SsA seviyesini düşüren ilaçlar (22).

Karbazepin	Rifampisin	Sulfinpirazone	Sulfonamid
Fenobarbiatal	Primidone	Valproik asit	Dipyron
Fenitoin	Pirazinamid	İsoniasid	Metoprolal
Nafsillin	Okreotid		

Tablo 2. Serum SsA seviyesini artıran ilaçlar (22).

Eritromisin	Posinomisin	İmipenem	Levonorgesterol
Ketakonazol	Pristinamisin	Diltiazem	Metilestosteron
Amikasin	Doksisiklin	Metilprednizolon	Amiadarone
Flukonazol	Danazol	Simetidin	Metaklopramide
Itrakonazol	Roksitromisin	Ranitidin	Asetazolamide
Metranidazol	Verapamil	Etanol	Sulindak
Norfloksasin	Varfarin	Nikardipin	Prednizolon
Tikarsilin			

Tablo 3. SsA'nın nefrotoksik etkisini artıran ilaçlar (22).

Amfeterisin B	Seftazidim	İndometazin	Matolazone
Siprofloksasin	Disopramid	Diklofenak	Doksirubin
Gentamisin	Letamoksef	Kolsisin	Digoksin
Tobramisin	Kotrimoksazol	Furasemid	Melfalan
Trimetoprim	Asiklovir		

Yeni bir kolesterol düşüren ajan olan Lovastatin ile SsA beraber kullanıldığında şiddetli miyozis, serum kreatin seviyesinde belirgin yükselme ve bazı vakalarda akut böbrek yetmezliği rapor edilmiştir (22).

SsA kullanan hastalar için antihipertansifler seçilirken dikkatli olmak gerekir. Kalsiyum kanal antagonistlerinden bazıları (diltiazem, nicardipin ve verapamil) SsA'nın kan düzeyinde artış meydana getirmeye yatkındırlar. Ancak nifedipin ve isradipinin böyle bir etkisi yoktur ve SsA alan hastalar için iyi bir seçimdirler. Böbrekler üzerine olan etkileri nedeniyle angiotensin-converting enzim inhibitörleri, loop diüretikleri (bumetanid ve furasemid) ve potasyum tutucu diüretiklerden (amilorid, triamteron, spironolaktan) kaçınılmalıdır. Beta blokerler de dikkatli kullanılmalıdır (23).

SsA'nın ilk olarak 1976 yılında allojenik böbrek transplantasyonunda kullanılmaya başlanmasını izleyerek karaciğer, kalp, akciğer ve pankreas gibi solid organ transplantasyonlarında greft reddinin önlenmesi ve oluşmuş greft reddinin tedavisinde kullanılması hızla artmıştır (24). SsA, hematopoetik kök hücre transplantasyonu yapılan hastalarda greft reddinin ve greft versus host reaksiyonu gelişiminin önlenmesi veya tedavisinde kullanılmaktadır (25). SsA klasik, yavaş etkili anti romatizmal ilaçlarla sonuç alınamayan şiddetli romatoid artritli hastaların tedavisinde etkilidir (26). Otoimmün inflamatuvar dermatozlarda da SsA'nın yeri vardır. SsA'nın psöriazis, atopik dermatit, pyoderma gangrenozum, subkorneal püstüler dermatozis, liken planus, otoimmün büllöz hastalıklar (kortikosteroidlerle kombine olarak), skleroderma, kronik idiyopatik ürtiker, el ve ayaklardaki kronik dermatitlerde SsA'nın etkinliği gösterilmiştir (3). SsA'nın otoimmün hepatitler, primer biliyer sirozda da kullanılabileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (27).

SsA, konvansiyonel tedavi ile sonuç alınamayan Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi otoimmün kökenli inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır (28). Konvansiyonel tedavinin başarısız olduğu veya istenmeyen yan etkilere yol açtığı, non enfeksiyöz orijinli aktif üveit, posterior blefaritis, oküler rosacea, kuru göz, kontakt lens intoleransı, atopik keratokonjunktivit, astım, makrofaj aktivasyonu sendromu gibi immun disregülasyon ile giden hastalıkların tedavisinde SsA kullanılmaktadır (19).

2.2.4. Doz

Oral form erişkinlerde 2- 5 mg/kg/gün olarak ve çocuklarda 3-6 mg/kg/gün olarak kullanılır. Çocuklarda klirens erişkinlere oranla daha çok olduğundan kullanılan doz daha yüksektir (30). Psoriaziste genel olarak 2.5-3 mg/kg/gün dozunda başlanılır. Günde iki kez bölünmüş dozlarda kullanılır. Tedaviye başladıktan sonraki 4-6 hafta içinde yeterli etkinlik saptanmazsa doz maksimum ayda bir 0.5 mg/kg olmak üzere 5 mg/kg/güne kadar artırılabilir. Takip eden 4-6 hafta içinde yanıt alınmazsa tedavi kesilmelidir. Hızlı etkinlik sağlanması gereken durumlarda da başlangıç dozu 5 mg/kg/gün olarak verilebilir. Doz artırılarak ve azaltılarak yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada doz azaltımı protokolündeki hastalarda da iyi klinik yanıt elde edilmiştir. İyileşme sağlandıktan sonra tedavinin dozu yavaşça azaltılarak bir yıl içinde kesilmesi planlanmalıdır. Ani ilaç kesilmesinin yavaş doz azaltımından daha çok relapsa yol açtığı gösterilmiştir. Doz azaltımı yapılırken haftada 1 mg/kg/gün veya 15 günde bir 0.5 -1 5 mg/kg/gün şeklinde azaltım yapılabilir. Rehberler 12 haftalık indüksiyon tedavisinden sonra doz azaltımı yapılmasını ve bu sırada relaps görülürse bir önceki doza çıkılarak idame dozu şeklinde 2 yıla kadar kullanılmasını önermektedir. Siklosporin güçlü immünsüpresif etkisinden dolayı kombinasyondan çok rotasyonel ve ardışık tedavinin temizleme aşamasında tercih edilir (31).

SsA tedavisi sırasında dikkat edilmesi gereken konular ise: hastaların yüksek potasyumlu yiyeceklerden kaçınması ve hastalara potasyum kapsayan ilaçlar ya da potasyum tutucu diüretiklerin verilmemesidir. Tedavi sırasında aşılamanın etkisi azalabilir ve canlı virüs kapsayan aşılar yapılmamalıdır. SsA ile ilgili deneyim halen sınırlıdır (22).

2.2.5. Siklosporin tedavisinin kontrendikasyonları

Rölatif kontrendikasyonları

- 1- Önceki karsinojenik tedaviler (1000 J/santimetre karenin üzerindeki PUVA, arsenik)
- 2- Enfeksiyonlara veya ilaca bağlı psoriazis (beta bloker, lityum)
- 3- Karaciğer hastalığı
- 4- Hiperüresemi
- 5- Hiperkalemi
- 6- Nefrotoksik ilaç kullanımı ile beraber
- 7- Fototerapi ile beraber

- 8- Retinoidlerle beraber
- 9- Uyuşturucu/alkol bağımlılığı
- 10- Uzun dönem metotreksat kullanım hikayesi
- 11- Gebelik/laktasyon
- 12- Canlı aşı ile bağışıklama
- 13- Epilepsi

Kesin kontrendikasyonları

- 1- Böbrek disfonksiyonu
- 2- Kontrol altına alınamayan hipertansiyon
- 3- Ciddi enfeksiyon
- 4- Geçmişte veya halen malignite şüphesi(31).

2.2.6.Yan etkileri

Bulantı-kusma, karın ağrısı, baş ağrısı, diş eti hipertrofisi, tremor, parestezi, hipertrikoz, akne, jinekomasti, dislipidemi, hiperürisemi ve hiperkalemi gibi kısmen tolere edilebilir metabolik komplikasyonlar ve istenmeyen etkilerinin yanı sıra; enfeksiyonlara eğilim, hipertansiyon, malignite gelişimi, hepatotoksisite, nörotoksisite ve nefrotoksisite gibi yaşamı tehdit edebilen önemli yan etkiler de görülebilmektedir (30).

Metabolik komplikasyonlar ve istenmeyen etkiler: Böbrek ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, hipomagnezemi, hipokalsemi, hipofosfatemi ve hiperpotasemi gibi iyon dengesizlikleri ve hiperkolesterolemi ve diyabet gelişim riski bulunmaktadır (32).

Özellikle SsA kullanılan transplant hastalarında LDL oksidasyonunun fazla olduğu bildirilmektedir (33). SsA pankreasta birikim yapmasından dolayı glukokortikoidlerle beraber kullanıldığında veya altta yatan obezite ve ileri yaş gibi durumların varlığında diyabetojenik etki gösterebilmektedir (34). Diğer bir metabolik komplikasyon ise yüksek dönüşümlü kemik hastalığı ve osteoporozdur (35).

SsA'nın pansitopeniye yol açmaması özellikle ilacın hematopoetik kök hücre transplantasyonun'da kullanımı için önemli bir avantajı olarak görülse de nadiren damar endotelinde prostaglandin yapımında azalma, tromboxan A2 üretiminde artış ile karakterize olan trombotik mikroanjyopatiye yol açtığı için trombositopeni nedeni olabilir

(36). SsA'ya bağlı oluşan ve klinik olarak daha az önemli olan istenmeyen etkiler arasında, el ve ayaklarda uyuşma ve karıncalanma, titreme ve kas krampları, tinnitus, hipertrikozis, gingival hipertrofi, jinekomasti, menstrual sikluslarda düzensizlik, ağızda metalik tat, iştah azalması, kendini kötü hissetme duygusu yer almaktadır (37). Bu etkiler arasında sık görölen gingival hipertrofi, TGF- β 'ya bağlı gingivada kollajen birikimi sonucu gerçekleşir. CYP450 3A4 (sikokrom P 450 3A) inhibisyonu yapan ilaçlarla bu durum belirginleşebilir (37).

Sık görölen bir diğer etki olan SsA'ya bağlı hirsutizm, androjen bağımsız olarak her iki cinste de görölebilmekte ve tedavi kesilince düzelmektedir. Bu etki SsA tarafından uyarılan IL-1, TGF- β gibi sitokinlere bağlıdır (37).

SsA'nın hipotalamo-hipofizer aks yoluyla serum prolaktin seviyesinde artışa yol aması jinekomastiye neden olur. Özellikle transplantasyon hastalarında ilk 1-2 ay içinde belirgin olan bu durum doz azaltılması ile kaybolur (36).

Önemli yan etkileri:

a) Enfeksiyonlara Eğilim

SsA özellikle allojenik transplantasyon hastalarında immunsupresyona bağlı olarak enfeksiyon riskinde artışa yol açar. EBV (Ebstein Barr virüs), CMV (Sitomegalovirüs), herpes simplex ve herpes zoster gibi virüsler, listeria, pnömosistis carinii gibi bakteriler ve nokardiya spp. gibi fırsatçı mantar enfeksiyonları sık görölr. Antiviral (3-6 ay) ve SMX-TMP ile (Trimetoprim Sulfometoksazol) (6- 12 ay) yapılan profilaksi önleyicidir. Altı ayın sonunda immunsupresyonun azaltılmasından sonra enfeksiyon riski popölyasyonla benzerdir (38).

b) Malignite Gelişimi

Renal transplantasyon alıcılarında genel popölyasyona göre kanser (kaposi sarkomu, vulva veya vajina, serviks, non-hodgkin lenfoma, karaciğer, böbrek, kolon kanseri gibi) insidansında artış görölmüştür. Malignite gelişiminde onkogenik virüslerin immunsupresyon altında kontrolsüz çoğalması ve bununla ilişkili TGF- β üretimi rol oynamaktadır. SsA malign transformasyonu kolaylaştıran transkripsiyon faktörlerin ekspresyonunu arttırır. SsA pek çok malign hücrenin daha invaziv seyreden fenotipe değişimine neden olur (21).

c) Nörotoksisite

SsA'ya bağlı nörolojik yan etkiler çocuklarda erişkinlere oranla daha nadir görölür. Nörotoksisite patofizyolojisinde, normalde beyin dokusuna az geçebildiği halde altta yatan primer hastalık nedeniyle açığa çıkan nitrik oksit (NO) gibi bazı maddelerin kan beyin bariyerinin yapısını bozması sonucu SsA'ya karşı geçirgenliğin artması bir etkindir. Beyin dokusuna geçtikten sonra SsA'ya bağlı gamma amino bütirik asitin (GABA) inhibisyonu etkilerden sorumludur. Bař ağrısı, uykusuzluk, ekstremelerde tremor, periferik nöropati gibi bulgular sık görölür, bazen daha ağır nörolojik komplikasyonlar da görölabilir. Posterior reversibl ensefalopati sendromu olarak adlandırılan ve genellikle bař ağrısı, kusma, tansiyon dūřüklüęü, hızlı mental bozukluk ve bazen de nöbetler ile seyreden nadiren status epileptikus ve koma tablosuna gidebilen olgular bildirilmiştir (39).

d) Hepatotoksisite

SsA'ya bağlı hepatotoksik etkiler serum bilirubin, ALP (Alkalen fosfataz), GGT (Gama Glutamil Transpeptidaz) ve transaminazlarda artış ile seyreder. Bu değişiklikler genellikle tedavinin ilk iki ayında görölür ve ilaç dozunun azaltılması ile düzelir (21).

d) Nefrotoksisite:

SsA'nın bilinen en ciddi yan etkisi nefrotoksisitedir. Bu durum ilacın kullanılabilirliğini kısıtlayan en önemli faktördür (21,24). Allojenik böbrek transplantasyonu olan hastalarda nefrotoksik etkiler transplante edilen böbrekte olabilirken, diğer allojenik organ ya da kemik iliği transplantasyonu hastaları ve otoimmün hastalıklar için SsA kullanılan hastaların böbreklerinde de görölabilir (40). SsA'ya bağlı nefrotoksik etkiler ilaç kan düzeyi normal sınırlarda olsa dahi görölabilir. Nefrotoksik etkiler akut ve kronik olarak sınıflandırılmaktadır. SsA'nın nefrotoksik etkisi çoğunlukla nonspesifiktir ve tanı için renal biyopsi gerekebilir. Oligo-anüri şeklinde hızlı seyir gösterebildiği gibi bazen de böbrek fonksiyonlarında yavaş fakat ilerleyici bozulma ile de seyredebilir. Akut nefrotoksisite doz bağımlı olup, doz ayarlanması yapıldıktan sonra geri dönüşüm göstermektedir. Akut toksisite başlangıçta fonksiyonel olup tedavinin ilk haftalarında ortaya çıkabilir. Fonksiyonel toksisite, preglomerüler afferent arterioller vazokonstriksiyon sonucu renal kan akımında ve glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma ile karakterizedir ve histolojik olarak yapısal değişiklikler yoktur. GFR'deki azalma potasyum ve sodyum retansiyonuna yol açar. SsA'ya bağlı araşidonik asid metabolizmasında

vazodilatör (PGE2 ve PGI2) ve vazokonstriktör eikosanoidler arasındaki dengeyi değiştirerek (özellikle tromboksan A2 [TXA2] düzeylerini artırarak) proinflamatuvar ve vazokonstriktör etki gösterirler (41). SsA ayrıca renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini (RAAS) aktive ederek nefrotoksik etkili olur. RAAS'ni jukstaglomerüler hücrelere direkt etki ederek veya vazodilatatör faktörlerin azalması ve endotelin seviyesinin artışına sekonder oluşan arterioller vazokonstrüksiyondan dolayı indirekt olarak etkili olur (42).

SsA ayrıca serbest radikal salınımını artırır. Oluşan serbest radikaller pek çok hücre içi molekülle (fosfolipid, glikolipid, gliserid, steroller gibi) reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu ve membran poli ansature yağ asitlerinin hasarını artırarak iyonik gradiyenti ve membran geçirgenliğini artırır. Dolayısıyla çeşitli membran fonksiyonlarını ve metabolik süreci bozar (43).

Serum ilaç seviyesindeki fazlalığa bağlı gelişen toksik tübülopati, nefrotoksisitenin bir diğer nedenidir. Proksimal tübülopati morfolojik olarak endoplazmik retikulumdaki genişlemeye ve lizozom sayısındaki artışa bağlı gelişir. Bununla birlikte afferent arteriollerin etkilenmesi sonucu oluşan akut arteriolopati gelişimi akut allograft disfonksiyonuna yol açar. Serum SsA düzeyi genel olarak yüksektir. Endotelial hücrelerde şişme ve vakuolizasyon, nekrozis ve miyosit hasarı sonrası hyalinozisle karakterizedir. Akut arteriolopati ve toksik tübulopati birlikte olabilir (44). Kronik nefrotoksisite ilacın kullanımını sınırlayan ana unsur olarak görülmektedir. İmmünolojik ve non-immünolojik hasara bağlıdır ve böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozuklukla karakterizedir (45). Kesin mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olsa da kronik nefrotoksisite patofizyolojisinde birçok mekanizma öne sürülmüştür. Düşük dereceli iskemi, RAAS aktivasyonu, nitrik oksit etkisi, peroksidatif hasar, TGF- β etkisi, apoptozis artışı, toll-like reseptör uyarımı, üriner kalsiyum atılımının artışı, idrar konsantrasyon kapasitesinde bozulma, osteopontin gen ekspresyonunun artışı CsA nefrotoksisitesi gelişiminde sorumlu tutulmuştur (46).

e) Gebeliğe etkileri

SsA FDA gebelik kategorisi C olmasına rağmen teratojen değildir ancak transplant olgularında düşük doğum ağırlığı ve prematürite ile ilişkili bulunmuştur. Laktasyon döneminde süte geçiş oranı değişiklik gösterdiğinden kullanımı önerilmez (31).

2.3. Metotreksat

2.3.1. Metotreksat'ın Etki Mekanizması ve Kimyasal Yapısı

Bir folik asit antagonisti olan metotreksat (MTX) (methotrexate: Amethopterin) zayıf bi-karboksilik organik asit yapısındadır (47,48). MTX folik asit sentezinde rol alan ve ara basamakta yer alan dihidrofolatı (DHF) tetrahidrofolata (THF) çeviren dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini kompetitif olarak inhibe etmektedir. Folatlar, tek karbonlu grupların transferinden sorumludur. MTX'ın moleküler yapısı DHF'a benzemektedir (48,49).

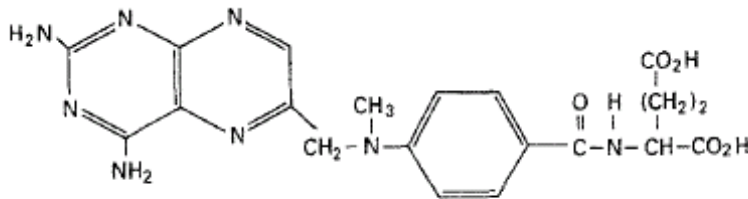
Tetrahidrofolat pürin ve pirimidin sentezinin önemli bir parçası olan timidilatın üretiminde rol oynamaktadır(48,49). Pürin ve pirimidin nükleotidleri deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) sentezinde rol oynamaktadır. Bu nedenle MTX, THF eksikliğine yol açarak pürin, pirimidin metabolizması ve DNA sentezini içeren pek çok metabolik yolu etkilemektedir. Bu metabolik yollar üzerinde yaptığı değişiklikler ile MTX'ın hem tedavi edici etkileri hem de toksik etkileri ortaya çıkmaktadır (49,50).

Son dönemlerde, MTX'ın antimetabolit özelliği dışında, antiinflamatuvar, antiproliferatif, immunosupresif, antipsöriatik etkinlikleri de bulunmuştur (51). MTX'ın etkileri başlıca 3 grupta toplanabilir. Bunlar;

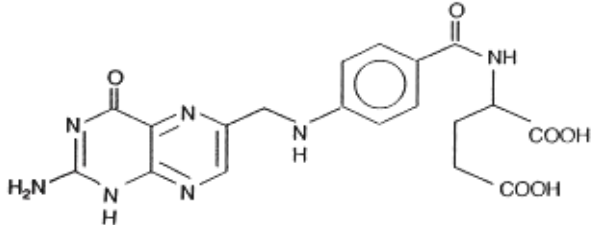
a) Metotreksat'ın antiproliferatif etkisi: MTX, yüksek dozlarda lösemi, lenfoma, osteosarkom, baş ve boyun tümörleri, akciğer kanseri, meme kanseri gibi kanserlerin tedavisinde antiproliferatif olarak kullanılır (52).

b) Metotreksat'ın antiinflamatuvar etkisi: MTX, RA'da ve psöriatik artritin tedavisinde antiinflamatuvar etkisi nedeniyle kullanılmaktadır (53).

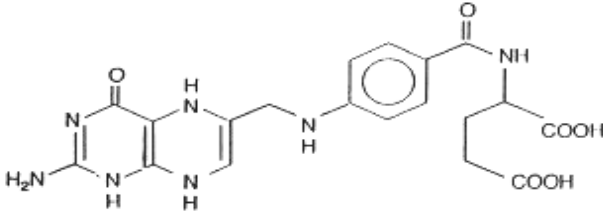
c) Metotreksat'ın immunomodülör etkisi: İmmün mekanizmaların RA'nın patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. B ve T lenfositlerdeki aktivite artışının MTX ile baskılandığı gösterilmiştir (54).



Şekil 3. Metotreksat'ın kimyasal yapısı (52).



Şekil 4. Folik asidin moleküler yapısı (55).



Şekil 5. Dihidrofolatın moleküler yapısı (55).

2.3.2. Farmakokinetiği

Oral metotreksatın absorpsiyon hızı ve miktarı kişiden kişiye büyük farklar gösterir. Ayrıca doz bağımlı ve satüre olabilen bir intestinal absorpsiyonu vardır. İntramüsküler uygulanan metotreksat ise hızlı emilir ve iki saatte kanda en yüksek değere ulaşır (56). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, yetişkinlerde metotreksat emilimi gıdalardan etkilenmemektedir (57). Ancak bir bildiriye, gıdalarla birlikte verilen metotreksatın serum konsantrasyonlarında anlamlı derecede azalma tespit edildiğinden dolayı; yüksek dozlara yetersiz cevap veren hastalar için, metotreksatı aç karnına almak veya intramüsküler uygulamaya geçmek metotreksat etkinliğini arttırabilmektedir (58). Dermatolojide kullanılan dozlarda kanda yarılanma ömrü 6-7 saattir. %50-70 oranında plazma proteinlerine, özellikle de albumine bağlanır (47). Bu yüzden metotreksatı albuminden ayıran ilaçlar, hem metotreksatın etkinliğini hem de toksisitesini arttırabilmektedir. İlacın uygulanmasından 12-24 saat, metotreksat ve 7-OH-metotreksat aktif transport aracılığıyla hücreler tarafından hızlıca alınır. Metotreksatın, hepatik hücreler, myeloid prekürsörleri, eritrositler ve fibroblastlar için özel affinitesi vardır (55). En yüksek doku seviyesine karaciğer ve böbrekte rastlanır (48,49). Hücre içinde metotreksat, uzun süreli etkilerinden ve haftalık kullanımından sorumlu olan aktif formu poliglutamata haline Metotreksat poliglutamaları hücre içinde tutulur ve DHFR enzimine bağlanarak dihidrofolat ile yer değiştirir (55).

Metabolizasyonu başlıca karaciğerde gerçekleşir. Atılımı başlıca böbrek yoluyla. 24 saat içinde 7-OH metotreksat olarak renal filtrasyon, sekresyon ve konsantrasyona bağlı tübüler reabsorbsiyonla atılır. Eliminasyon pek az oranda safra yoluyla tamamlanır (49). Metotreksatın oral kullanımına ek olarak intra vasküler, intramüsküler ve subkutan uygulama alternatifleri de olup, uygulama yollarına göre klinik cevabın düzeyi değişmektedir (59).

2.3.3. Doz ve Uygulama

Metotreksat tedavisi haftada bir kez verilir, bazen de 15 günde bir verilebilirken günlük rejimler tehlikeli olduğundan terkedilmiştir. Metotreksat tedavisinde 2.5 mg/hafta test dozuyla başlanabileceği gibi test dozu uygulanmaksızın da tedavi verilebilmektedir. Metotreksatın dermatolojik uygulamalarda kullanılan doz aralığı 5-30 mg/hafta olup başlangıçta sıklıkla 5- 15 mg/hafta dozda kullanılmaktadır. Ayrıca haftalık 30 mg'ın üzerine çıkılmaması önerilmektedir (60).

Klinik yanıtı göre doz arttırımı veya azaltılması ayarlanmalıdır. İyi tolere edilirse her iki haftada bir 2.5 mg arttırılarak maksimum 30 mg/haftaya kadar çıkılabilmektedir. Metotreksat dozuna yanıt 4-8 haftada ortaya çıkar. Klinik düzelme sağlandıktan sonra doz, aylık 2.5 mg düşülerek tedavi sonlandırılabilir. Metotreksat tedavisinde üzerinde görüş birliğine varılmış tek bir doz şeması olmamasından dolayı, hastalar belli bir kalıba bağlı olarak değerlendirilmemeli, her hasta kendi gösterdiği klinik yanıtı göre değerlendirilmelidir. Hedef hem kümülatif dozu düşük tutmak hem de hastanın tolerasyonunu arttırmaktır. Yaşlı hastalarda azalmış renal klirensine bağlı olarak daha düşük dozlarda tedavi uygulanmalıdır. Haftalık doz 25 mg'ın üzerine çıktığı durumlarda, oral biyoyararlanımın düşmesinden dolayı subkutan veya parenteral uygulamalar tercih edilebilmektedir (59).

Metotreksat haftada bir 12 saatlik aralarla per oral 5 mg'lık 3 doz halinde verilir. Bu rejim haftada bir verilen parenteral doz kadar etkin bulunmuştur(49). Hem tablet hem de solüsyon oral olarak kullanılabilir (61).

Tedavi öncesinde renal, hepatik ve kemik iliği (Kİ) fonksiyonlarının normal olduğu gösterilmelidir. Eğer renal fonksiyonda azalma varsa metotreksat düşük dozlarda ve dikkatli bir şekilde monitörize edilerek verilmelidir. Rutin karaciğer (KC) testleri yapılmalıdır. Gerekirse KC biyopsisi yapılabilir. KC biyopsisine alternatif olarak bazı merkezlerde tip 3 prokollajenin amino terminal propeptidinin (PIIINP) serum düzeyleri ölçülmeye başlanmıştır (62).

2.3.4. Metotreksat Metabolizmasını Etkileyen İlaçlar

Sulfonamid, salisilat, tetrasiklin gibi ilaçlarla birlikte kullanımda plazma düzeyi artarken MTX' in böbreklerden atılımı, glomerüler filtrasyon ve aktif tübüler sekresyonun kombinasyonu ile olur. Bu yüzden, renal kan akımını azaltan, nefrotoksik ya da zayıf organik asit yapısındaki ilaçlarla birlikte kullanımı, renal atılımı azaltarak daha ciddi myelosupresyona neden olabilir (61).

Tablo 4. Metotreksat ile etkileşerek toksisitesini artıran ilaçlar (61).

<u>Etki</u>	<u>İlaçlar</u>
Plazma proteinlerine bağlanmasını engelleyerek serum MTX düzeyini artıran ilaçlar	Salisilatlar Tetrasiklinler Fenitoin Probenesid Sulfoamidler Kloramfenikol
Böbrekte tübüler fonksiyonları engelleyerek renal itrahi azaltarak MTX düzeyini artıran ilaçlar	Salisilatlar Probenesid Penisilinler Askorbik asik Sulfoamidler P-aminobutirik asit Fenilbutazon NSAİİ
Diğer mekanizmalar	Kolsişin Griseofulvin Etreinat Siklosporin Trimetoprim- sulfametaksazol

Folat Desteği

Bazı merkezler bütün hastalara folat desteğini önermektedir. Bazı merkezler ise sadece Kİ toksisitesi veya GİS yan etkileri ortaya çıkan hastalarda folat desteğini gerekli görmektedir. Aslında folat desteği alan hastalarda doz artımı sırasında belirtilen yan etkilere daha az rastlandığı bilinmektedir. Folat desteği için günlük 1 mg folik asit ya da haftalık folinik asit tedavileri verilebilir. Folinik asit uygulaması, son metotreksat dozundan 12 saat sonra başlamak kaydıyla 12 saat arayla 3 doz 5 mg verilmesi şeklindedir. Folat desteği alan hastalarda metotreksat etkinliği değişmeden hepatotoksik, GİS ve Kİ yan etkilerinde azalma kaydedilmiştir (63).

Son dönemde bildirilen bir çalışmada günlük 5 mg folik asit uygulamasıyla tedavi etkinliğinde küçük bir azalma belirtilmiş fakat bu çalışmanın da metodolojisi çok sorgulanmıştır. Sonuç olarak metotreksat tedavisi alan hastalarda folik asit desteğinin etkinliği azaltmadan yan etkileri azalttığı söylenebilmektedir (64).

2.3.5. MTX'in Kullanıldığı Hastalıklar

Başta ocukluk ağı lösemi-lenfomaları olmak üzere meme kanseri, osteosarkom, baş ve boyun kanserleri, akciğer kanseri, üroepitelyal kanserler gibi solid organ tümörlerinin tedavisinde kullanılır (64).

MTX, kanser tedavisi dışında, birçok dermatolojik hastalıkta (tablo 5) romatizmal hastalıklar gibi inflamatuvar olaylar, dermatomyozit, Wegener granülomatozisi, sarkoidoz, HIV ile ilişkili bakteriyel, parazitik enfeksiyonlar ve ektopik gebelik, ilk trimesterde gebelik terminasyonları ve gestasyonel trofoblastik hastalıklar gibi jinekolojik ve obstetrik durumlarda da tercih edilen bir ajan haline gelmiştir (65).

Tablo 5. Metotreksatın dermatolojide kullanımı (7).

FDA onayı aldığı hastalıklar	FDA onayı almadığı hastalıklar
Şiddetli psoriasis (Psoriatik artrit dahil) Mikozis fungoides	Dermatomyozit Kutanöz lupus eritematozus Skleroderma Pemfigus vulgaris Büllöz pemfigoid Kutanöz poliarteritis nodoza Behçet hastalığı Piyoderma gangrenozum Lenfomatoid papülozis PLEVA Sarkoidoz şiddetli atopik dermatit Kronik el egzeması Pitriazis rubra pilaris

Tablo 6. MTX tedavisi kontrendikasyonları (66).

Kesin kontrendikasyonları	Rölatif kontrendikasyonları
<p>1. Gebelik veya laktasyon döneminde olanlar</p> <p>2. Anlamli dercede anemi, lökopeni ya da trombositopenisi olanlar</p>	<p>1. Renal fonksiyonlardaki anormallik</p> <p>2. KC fonksiyonlarındaki önemli anormallikler</p> <p>3. Aktif ya da tekrarlayıcı hepatit</p> <p>4. Siroz</p> <p>5. Düzenli olarak çok miktarda alkol tüketimi</p> <p>6. Hepatotoksik ilaçlar ile birlikte metotreksat kullanımı</p> <p>7. Aktif enfeksiyon durumu yada tedavi edilmemiş aktif tüberküloz, ilerlemiş HIV (Human Immunodeficiency Virus, İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü) enfeksiyonu gibi metotreksatın immunsupresif etkisiyle kötüleşecek kronik enfeksiyonların olması. Aktif enfeksiyonlar sırasında metotreksat tedavisi askıya alınmalıdır.</p> <p>8. İmmunsupresif durumlar</p> <p>9. Metotreksat tedavisi sırasında kontrasepsiyon mutlaka uygulanmalıdır. Erkeklerde tedavi sonrası 3 ay, bayanlarda en az 1 ovulatuvar siklus kontrasepsiyona devam edilmelidir.</p> <p>10. Metotreksat tedavisine başlamadan önce aşılanmış olmak (Özellikle canlı aşı)</p> <p>11. Obesite (vücut kitle indeksi>30)</p> <p>12. Diabetes mellitus</p> <p>13. Uyumsuz hasta</p>

2.3.6. Tedavi Öncesi Değerlendirme

Tedavi öncesi yapılabilecek testler şöyle özetlenebilir (67).

1. Tam kan sayımı ve trombosit sayısı

2. Böbrek fonksiyon testleri (kan üre azotu ve serum kreatinini). Glomerular filtrasyon hızı veya kreatin klirensi gerekli olduğunda hesaplanır (68).

3. KC fonksiyonları ve gerekli olduğunda Hepatit B ve C serolojisine bakılır. Bazı otörler hepatit serolojisine rutin bakılmasını savunurken bazıları da sadece KC fonksiyonlarında yükseklik varsa bakılmasından yanadır.

4. Doğurganlık çağındaki bayanlarda gebelik testi gerekli durumlarda yapılmalıdır.

5. HIV enfeksiyonu riski olanlarda serolojik inceleme yapılmalıdır.

6. Bazı otörler tedavi öncesi purifiye protein derivesi testi (PPD) yapılmasını standart olarak önerirken, bazıları da sadece risk faktörü taşıyanlarda yapılmasını önermektedir. Ama CDC'nin (Centers of Disease Control and Prevention, Hastalıkları Kontrol Etme ve Önleme Merkezi) web sayfasındaki önerilerine göre immunsupresif tedavi öncesinde her hastaya PPD yapılmalıdır (69).

7. Anlamlı derecede KC hastalığı öyküsü olanlar KC biyopsisi ile değerlendirilmelidir (62).

2.3.7. Metotreksat Toksisitesi

Gastro İntestinal Sistemdeki (GİS) Toksik Etkileri

MTX'in sitotoksik etkisi kanser hücrelerine özelleşmiş olmadığı için gastrointestinal mukozada aktif olarak bölünen hücreler gibi hızlı proliferasyonun olduğu normal doku hücreleri de etkilenir (70).

İştahsızlık, mide bulantısı, kusma, ishal, kilo kaybı gibi istenmeyen etkiler hastaların büyük kısmında hafif seyrederek kısa sürer. Ancak hastaların % 2,5'unda ilacı kesecek şekilde olabilir. Yine çeşitli şiddette ağrılı ülser ve eritemden oluşan stomatitler görülebilir (71).

Oluşan intestinal hasar ve enterokolit hastalarda aynı zamanda, epitelyal proliferasyon ve enterosit fonksiyonu baskılanabilir ve mukozal bariyerin bozulmasına bağlı olarak bazen ölüme kadar ilerleyebilen barsak kaynaklı sepsis riski artabilir (70).

Kutanöz Toksik Etkiler

Alopesi, güneş ışığına hassasiyet, eritem, ürtiker ve kutanöz vaskülit olabilir. Ayrıca romatoid nodüllerin sayısında da artış görülebilmektedir (72).

Renal Sistemdeki Toksik Etkileri:

Düşük doz haftalık MTX ile renal toksisite bildirilmemiştir. İlaç böbreklerden atıldığı için renal yetmezlikte kullanılmamalıdır. Renal fonksiyonların düzenli takibi gerekmektedir (73).

Neoplastik Toksik Etkiler

Son yıllarda metotreksat kullanan olgularda lenfoma sıklığında ve hematolojik malignite sıklığında artış saptanmıştır. Romatoid artritli hastalarda düşük doz MTX kullanımı ile ilişkili olabilecek non-Hodgin lenfoma vakaları bildirilmiştir ve tümör hücrelerinde EBV eksprese edilmekte. Non-Hodgin lenfoma kemoterapi almadan tümörün gerilemesi nadirken, bu vakalarda ilacın kesilmesi ile spontan remisyon görülmesi lenfoma ile ilaç arasında bir ilişkiyi düşündürmektedir (73). Metotreksat kullanan hastalarda normal popülasyona göre melanom gelişme riskinde 3 kat, lenfoma gelişme riskinde 5 kat, akciğer (AC) kanseri gelişme riskinde yaklaşık 3 kat artma saptanmış ve genel olarak malignensi gelişme riskinde de %50 oranında artış olduğu bildirilmiştir (74).

Akciğer Üzerine Toksik Etkileri:

En beklenmedik ve hayatı tehdit eden yan etkisi interstisyel pnömonidir (75). MTX ile pulmoner toksisite akut veya kronik olabilmektedir. Pulmoner reaksiyon % 3-5 sıklıkta bildirilmiştir. Akut başlayan öksürük, nefes darlığı, hafif ateş, taşipne, akciğer bazallerinde iki taraflı rallerin ortaya çıkması hekimi uyarmalıdır. Hastanın 60 yaşın üzerinde olması, akciğer ve plevra hastalıklarının varlığı, daha önce başka modifiye edici ajanların kullanılmış olması, albüminde düşüklük, sigara, diyabetes mellitus MTX'ın akciğerlere toksisitesini kolaylaştırmaktadır (73).

Metotreksat kesilir, destek tedavisi ve kortikosteroid tedavisi önerilmektedir (75).

Karaciğer Üzerine Toksik Etkileri

Hepatotoksisite açısından değerlendirilen metotreksat kullanan hastaları kapsayan, son yıllardaki raporlar metotreksata bağlı KC fibrozisi ve sirozun önceden bildirildiği kadar agresif olmadığını göstermiştir (76). Düşük doz uzun dönem MTX tedavisi alan psoriasisli hastalarındaki siroz gelişme riski %7'dir (77).

Dermatoloji yönergelerine göre psoriasislilerde görülen hepatotoksite romatoloji hastalarına oranla daha fazladır ve dermatologların daha temkinli davranması gerekmektedir. Romatoloji hastalarının çoğunlukla bayan olması ve daha az alkol tüketmeleri bu hastalarda daha az görülen hepatotoksityi açıklayabilir. Ayrıca psoriasisli hastalarda obezite, diabet ve alkolizm daha sık görülmektedir (78). Obez, diabetik ve fazla alkol tüketen psoriasisli hastaları metotreksat kullanırken daha fazla risk altındadır. Bu risk faktörleri belkide psoriasisli hastaların fenotipini tanımlamaktadır ve artmış hepatotoksite riski de bundan dolayıdır ve bu hastalarda non alkolik steatohepatitis (NASH) olarak adlandırılan bir paterne benzerlik göstermektedir. Eğer romatoloji hastaları ve psoriasisli hastaların bütün değişkenleri kontrol edilebilseydi KC hasarlanma oranları büyük bir ihtimalle benzer olacaktır (79).

Güncellenen derlemelere göre metotreksat planlanan hastalar KC toksitesi açısından risk faktörlerine göre 2 gruba ayrılırlar (Tablo7). Risk faktörüne sahip olmayan hastalar KC fibrozisi için düşük risk grubundadır ve bazı otörlere göre bu gruptaki hastalar metotreksat tedavisi sırasında Amerikan Romatoloji Birliği (ACR) kriterlerine uygun olarak takip edilebilir (71). Metotreksat kullanan hastanın KC testlerinde 2 kata kadar bir yükselme olduğunda testlerin 2-4 hafta aralıklarla tekrarlanıp, hastanın takibi; 2 kattan daha fazla yükselme olduğunda ek olarak doz düşürülmesi önerilmektedir. Tekrarlanan KC testlerinde düzelme olmaması halinde 1-3 ay sonra tekrarlamak koşuluyla KC biyopsisi yapılmalıdır. Hastanın takibi sırasında, 12 aylık periyotta yapılan 9 AST değerinden 5'i yüksekse veya normal beslenme durumuna rağmen serum albumin seviyesi düşüyorsa 1-3 ay sonra tekrarlamak koşuluyla KC biyopsisi yapılmalıdır. Bu yaklaşım uygulandığında biyopsi sayılarında güvenli bir düşüş gözlenmiştir (80).

Tablo 7. Metotreksat tedavisi sırasında hepatotosisite gelişimi için risk faktörler

Hiperlipidemi
Obezite
KC hastalığı, Hepatit B veya C öyküsü
Tekrarlayıcı anormal KC testleri
Diabetes mellitus
Fazla alkol tüketimi olması veya öyküde bulunması
Folat desteği alınmaması
Anlamli derecede hepatotoksik ilaç veya kimyasal madde maruziyeti öyküsü
Kalıtısal KC hastalığı öyküsü

Bir diğerk kabul gören yaklaşım da herhangi bir KC patolojisi olmayan ve risk faktörü taşımayan hastalarda ilk KC biyopsisinin 1-1.5 gr kümülatif doz yerine 3.5-4 gr kümülatif doz tamamlandığında yapılmasıdır (81).

KC testleri, fizik muayene ve anamnezi normal olan düşük risk grubundaki hastalar için biyopsi kararı verilirken rölatif risk faktörlerini de sorgulayıp her hastayı ayrı değerlendirmek uygundur. Buna benzer hastalar biyopsi alınmadan 3.5-4 gr kümülatif doza ulaştıklarında ya biyopsi alınır, ya metotreksat tedavisi başka bir sistemik ajanla değiştirilir ya da metotreksat tedavisi kesilir. Hepatik fibrozis açısından bir ya da daha fazla risk faktörüne sahip hastalarda ilk yaklaşım başka bir sistemik ajan kullanıp kullanamayacağı yönünde olmalıdır. Eğer hastanın metotreksat kullanmasıyla göreceği fayda alacağı risklerden fazlaysa, öncelikle metotreksat tedavisine başlayabilmek için KC biyopsisi yapılmalıdır. Çok küçük bir hasta grubu 5-6 ay sonrasında itibaren yan etkilerden, klinik etkisizlikten ya da başka nedenlerden dolayı metotreksat tedavisine devam edememektedir. Bu yüzden kısa süreli tedavi alacak hastalarda başlangıç biyopsisi ertelenebilir, eğer uzun süreli tedavi verilecekse, risk faktörlerine sahip hastalara mutlaka biyopsi yapılmalıdır. Eğer tedavi süresi bilinmiyorsa klinik olarak anlamlı KC hastalığı varsa biyopsi yapılmalıdır. KC hastalığı için risk faktörlerine sahip hastalarda kümülatif doz 1-1.5 gr olduğunda biyopsi tekrarı yapılmalıdır. Tekrarlanan KC testlerinde anlamlı bozukluklar saptanan hastalarda da KC biyopsisi endikedir ve her 1-1.5 grlık dozlarda biyopsi

tekrarlanmalıdır. Herhangi bir hastada biyopsinin faydaları risklerini aşıyorsa biyopsi iptal edilebilmekte veya ertelenebilmektedir. KC biyopsisi masum bir işlem olmayıp girişimsel bir olaydır. İlerlemiş fibrozis riski KC biyopsisinin komplikasyonları ile dengelenmelidir. Psoriazisli hastalarda komplikasyon gelişme riski diğer hastalıklardakine (romatoloji hastaları gibi) oranla daha düşüktür. Subkapsüler hemoraji, safra kesesi perforasyonu, pnömotoraks ve hemoperitonyum bu komplikasyonlar arasındadır.

KC fibrozisi için biyopsinin yerini alabilecek etkinlikte ve güvenlikte görüntüleme yöntemleri şimdilik yoktur. Son yıllarda prokollajen'in amino terminal peptidi (PIIINP) potansiyel bir marker olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda sunulan bir çalışmada PIIINP kullanımı sonrasında, KC biyopsisi ihtiyacının 7 kat azaldığı bildirilmiştir (82). Başka bir çalışmada PIIINP'in kararlı bir şekilde kullanılması halinde, KC biyopsisi gereksiniminin tamamen ortadan kalkacağı iddia edilmektedir (83).

İngiltere'deki dermatologların çoğunluğu bu testi KC fibrozisini değerlendirmede kullanırken ABD'de FDA onayı olmadığı için tercih edilmemektedir (84).

Biyopsi yapılan hastalarda bunun sonucuna göre metotreksat tedavisine devam edip etmeyeceğine karar verilmektedir. Roenigk skalası kullanılarak KC biyopsisi derecelendirilir ve hasarın şiddetine göre karar alınır (85).

Grade 1 ve 2 değişiklikleri olan hastalar metotreksat tedavisine devam edebilirler.

Grade 3a değişikliği olan hastalar metotreksat tedavisine devam edebilir fakat yaklaşık 6 ay sonra biyopsi tekrarı yapılmalıdır. Başka bir sistemik ajanda düşünülebilir.

Grade 3b ve 4 değişikliği olan hastalara metotreksat tedavisi kesilmelidir.

Hematolojik toksisite

Lökosit veya trombosit seviyelerindeki anlamlı azalma metotreksat tedavisine ara vermeyi ya da dozu düşürmeyi gerektirebilir. Lökosit ve trombosit sayılarındaki maksimum azalma ilaç uygulananımdan sonraki 7 ve 10. günler arasında olur. Klinik olarak anlamlı lökopeni veya trombositopeni durumlarında oral ya da intravenöz olarak 20 mg folinik asit tedavisi önerilmektedir. Progresif olarak artan 'mean korpuskuler volüm' (MCV) metotreksat tedavisinden dolayı oluşan makrositer aneminin habercisidir ve folik asit desteği almayan hastalarda daha sık görülmektedir (66).

Tablo 8. Metotreksat tedavisi sırasında hematolojik toksisite gelişimi için risk faktörleri (66).

Böbrek yetmezliği	İlaç etkileşimleri
İleri yaş	Hipoalbuminemi
Folat desteği alınmaması	Aşırı alkol tüketimi
Medikasyon hataları	Eş zamanlı çoklu medikasyon

Spermatogenez ve Fertilite Üzerine Etkileri

Metotreksat mutajenik değildir. Bölünen hücreler üzerine ise toksik etkisi vardır (spermatogenez gibi). Metotreksatın erkek fertilitesi üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir (86). Etkileri genellikle ilacın kesilmesiyle geri dönüşümlüdür. Metotreksatın erkek fertilitesi ve spermatogenezini üzerinde bir anlaşmazlık vardır (86). Metotreksatın hormon düzeylerini değiştirmeden ciddi derecede reversible olarak oligospermi yaptığına dair bulgular vardır (87). Bununla beraber metotreksat kullanan babaların çocuklarında anomali sayısında artış saptanmamıştır (88). Oligospermi fertilizasyonu inhibe edecek düzeyde olabilir ya da spermin fertilizasyon yapmasını engelleyecek kadar fonksiyonel kaybı olabilir (89). Spermatogenezin ve sperm sayısının değişmediğine dair yayınlar da mevcuttur (90).

Spermatogenezin 74 günlük bir periyotta tamamlandığı düşünülürse, metotreksata bağlı olası etkilerin tam olarak geçmesi için 3 ay kontrasepsiyon uygulanmalıdır. Son bilgiler doğrultusunda metotreksat tedavisi alan erkeklerin bu dönemde çocuk sahibi olmaları çok uygun olmamakla beraber, olası gebelik durumunda da çocukta anomali riskinde artış beklenmemektedir.

Gebelik Üzerine Etkileri

Metotreksat bilindiği gibi teratojenik ve abortif etkili bir ilaçtır ve FDA gebelik kategorisi 'X'dir. Metotreksata bağlı olarak karakteristik iskelet sistemi, santral sinir sistemi ve kardiyak fetal anomaliler oluşabilir (91).

Doğurganlık döneminde metotreksat kullanan hastalar kesinlikle ek bir kontrasepsiyon yöntemi kullanılmalıdır. Metotreksat kullanan bayanların gebelik planlaması dahi kontrendikedir. Fetal dönemde metotreksat maruziyetinin bildirildiği çok sayıda yayın

vardır. Konsepsiyondan 6-8 hafta sonrasında, haftalık 10 mg veya daha yüksek dozda metotreksat maruziyeti kritik öneme sahiptir. Ancak gebeliğin her döneminde, düşük ya da yüksek dozlarda maruziyetlerle fetal anomaliler bildirilmiştir. Bununla birlikte çok sayıda, ilk trimesterde yüksek doz maruziyeti sonra gelişimsel yada doğumsal anomali gelişmeyen vakada bildirilmiştir (92). Gebelikte metotreksat maruziyetiyle ilgili geniş bir romatolojik hasta grubu değerlendirilmiş ve medikasyon ile risk artışı görülmemiştir (93).

Yalnız haftalık düşük doz metotreksat tedavisi sırasında gebe kalanlarda çok sayıda sağlıklı doğum ve çok sayıda anomalili doğum bildirildiği akılda tutulmalıdır (94).

Eğer metotreksat kullanan bir bayan istemeden gebe kalırsa, genetik uzmanına yönlendirilmesi uygundur. Hastanın maruziyeti kritik dönem olan 6-8 hafta öncesinde sonlanmışsa, gebeliğin devamına yakın takip ile izin verilebilir.

Diğer Toksik Etkiler

Baş ağrısı, kilo kaybı, yorgunluk, ateş, poliartralji, baş dönmesi, grip benzeri semptomlar görülmektedir (95).

Olumlu etkileri

Metotreksatın istenmeyen yan etkilerinden bahsederken beklenmeyen faydalarına da bulunmaktadır. Metotreksat kullanımının kardiyovasküler sistem hastalıklarına karşı koruyucu etkisi bildirilmiştir(96). Metotreksat tedavisinin antiinflamatuvar etkisinin olduğu ve kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu etkilerinin buna bağlı olabileceği vurgulanmıştır (97).

2.3.8.Tedavinin Takibi

1. Tam kan sayımı ve trombosit sayısı tedavi başlangıcından sonra 7-14 günde kontrol edilmeli ve tedavinin ilk birkaç ayında 2-4 haftada bir tekrarlanmalıdır. Sonrasında lökosit sayısının stabilitesine göre 1 ya da 3 aylık periyotlarda tekrarlanabilir.

2. Böbrek fonksiyon testleri: Kan üre azotu ve serum kreatinini 2-3 aylık aralıklarla tekrarlanmalıdır. Fonksiyonlarda azalma olması halinde glomerular filtrasyon hızı hesaplanmalıdır.

3. KC fonksiyonları: Fonksiyon testleri 3-4 haftalık aralıklarla kontrol edilmelidir. Eğer hastada hepatotoksisite riski varsa daha sık aralıklarlada takip önerilebilir.

4. Gerekli durumlarda, doğurganlık çağındaki bayanlarda gebelik testi yapılmalıdır.

5. Eşlik eden başka bir medikasyon veya doz arttırılması gibi durumlarda daha sık aralıklarla takip gereklidir (66).

2.3.9. Doz Aşımı

Renal fonksiyonlardaki bozulma, trimetoprim veya trimetoprim sulfometaksazolun beraber kullanımı ya da medikasyon hatalarından dolayı akut metotreksat toksisitesi oluşabilir. Hematolojik toksisiteye karşı kullanılan tek antidot lökovorin sodyumdur (folinik asit). Herhangi bir nedenden dolayı yüksek doz metotreksat alımı veya toksitesi gerçekleşirse hızlı bir şekilde lökovorin verilmelidir. Acil durumlardaki lökovorin dozu 20 mg (10 mg/m²) olup parenteral veya oral olarak verilmelidir. Sonrasında 6 saat arayla serum konsantrasyonu 10-8 mol/l'ye düşene kadar devam edilir (98). Metotreksat alımıyla lökovorin verilmesi arasındaki süre arttıkça metotreksatın hematolojik yan etkilerine karşı koruyuculuk azalmaktadır (99).

2.4. Retinoidler

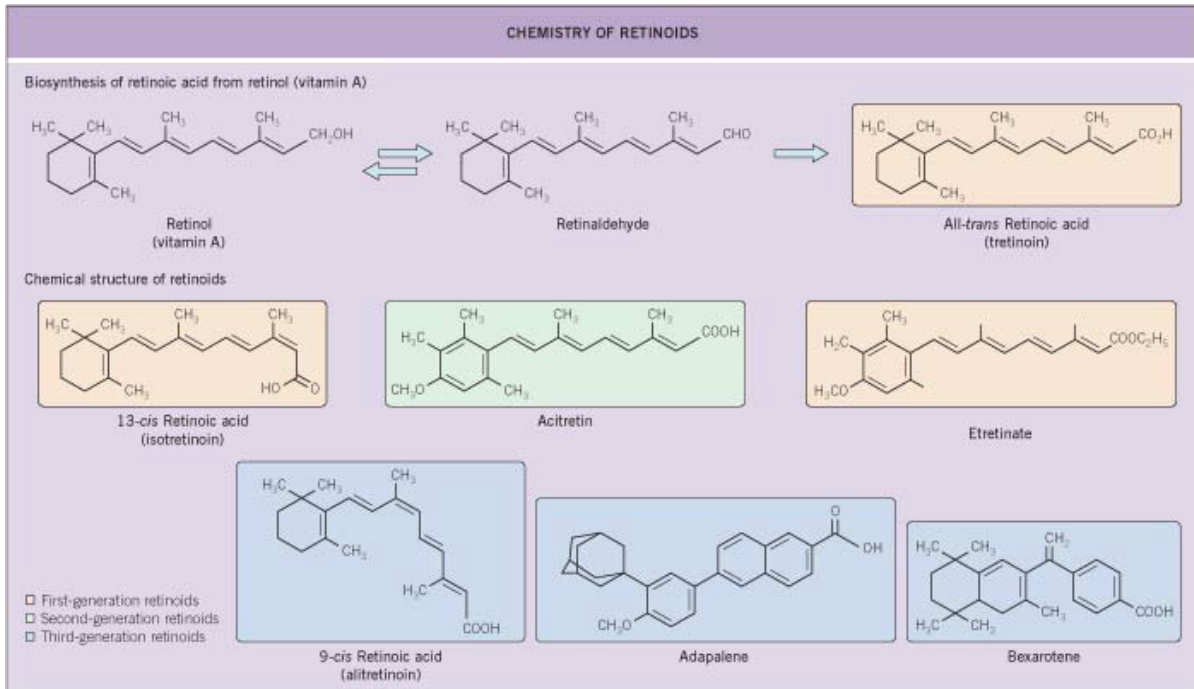
A vitamini, dört izopren molekülünden kurulmuş bir polienalkol olan retinolün biyolojik aktivesini gösteren bir grup bileşiği ifade eden jenerik bir terimdir. (100) “Retinoidler” hem A vitaminin (retinol) doğal diyet metabolitlerini hem de aktif sentetik analoglarını içeren genel bir terimdir (101).

Retinoidler intraselüler nükleer reseptörleri aracılığıyla gen transkripsiyonunu düzenleyerek hücre diferansiyasyonu ve proliferasyonu, immun sistem ve embriyonik gelişim üzerine birçok etkileri olan vitamin A'nın yapısal ve fonksiyonel analoglarıdır (1).

Günümüze kadar en az 2500 yeni retinoid sentez edilerek incelenmiştir (102). Bunlardan halen ilaç olarak kullanılan veya klinik deneme aşamasında olanlar şunlardır (103).

Tablo 9. Sentetik retinoidlerin sınıflandırılması

Retinoid	Örnek	Kullanım şekli
1.kuşak (non-aromatik)	Tretinoin İsotretinoin Alitretinoin	Topikal Topikal ve sistemik Sistemik
2.kuşak (mono- aromatik)	Etretinat Asitretin	Sistemik Sistemik
3.kuşak (poli- aromatik)	Adapalen Beksaroten Tazaroten	Topikal Sistemik Topikal



© 2003 Elsevier - Bologna, Jorizzo and Rapini: Dermatology - www.dermtext.com

Şekil 6: Retinoidlerin kimyasal formülü (1).

2.4.1. Retinoidlerin metabolizması ve etki mekanizması

A vitaminin prekürsörleri α , β , γ karotenlerdir. En etkili ve en fazla bulunanı, sarı renkli bir pigment olan β - karotendir. Lipid peroksidasyonundan hücre membranlarını koruma ve serbest oksijen radikallerini nötralize etmek gibi önemli fonksiyonları vardır (102).

Vitamerlerden vücutta en yaygın olanı retinoldür (A1 vitamini). Diğer bir vitamer, retinolden bir doymamış bağ fazla içeren 3-dehidroretinoldür (A2 vitamini). (104)

A vitamini, saf halde açık sarı kristaller halindedir; suda çözünmez, lipidlerde ve organik çözücülerde çözünür; ısıya karşı az duyarlıdır, UV ışık tarafından harap edilir, oksijene karşı dayanıklıdır. A vitamini molekülündeki çift bağlar ışıkta hava oksijeni tarafından kolaylıkla oksitlenebilir ve aktivitesi kaybolur, doğal besinlerdeki A vitamini antioksidanlar tarafından korunur.

A vitamini, hayvanlarda retinolün uzun zincirli yağ asidi esterleri halinde, bitkilerde ise bir provitamin olan β -karotenler halinde bulunur. β -karoten bir antioksidandır, oksijenin düşük parsiyel basınçlarında serbest peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasında bir rol oynayabilir.

En yüksek A vitamini konsantrasyonu, deniz balıkları karaciğer yağında bulunur. Kolostrum, süt, tereyağı ve yumurta sarısı da önemli A vitamini kaynaklarıdır. Yaz taze sütü kış taze sütünden, yaz tereyağı kış tereyağından daha çok A vitamini içerir

Havuç, otlar, yeşil ve kurutulmuş yonca β -karotenler bakımından oldukça zengindir. Tatlı su balıklarında A vitamini, A2 vitamini şeklindedir (100).

Hayvansal besinler içinde bulunan esterleşmiş retinol (retinol palmitat gibi), barsaklarda pankreas enzimleri tarafından esterin hidrolizasyonundan sonra tamamen absorbe olur. Bitkisel besinler içindeki karotenlerin ise yaklaşık 1/3'üne yakın bir miktarı absorbe edilir ve barsakta moleküler oksijen ve safra asitleri yardımıyla iki molekül retinal'a dönüşür. Barsakta retinalın büyük kısmı retinola indirgenirken az bir kısmı retinoik aside oksitlenir. Retinol ince barsak epitel hücrelerinde kolaylaştırılmış difüzyonla, karotenoidler ise basit difüzyonla absorbe edilirler. Absorbe edildikten sonra kanda şilomikronlar içinde karaciğere taşınır ve karaciğerde depolanır (104).

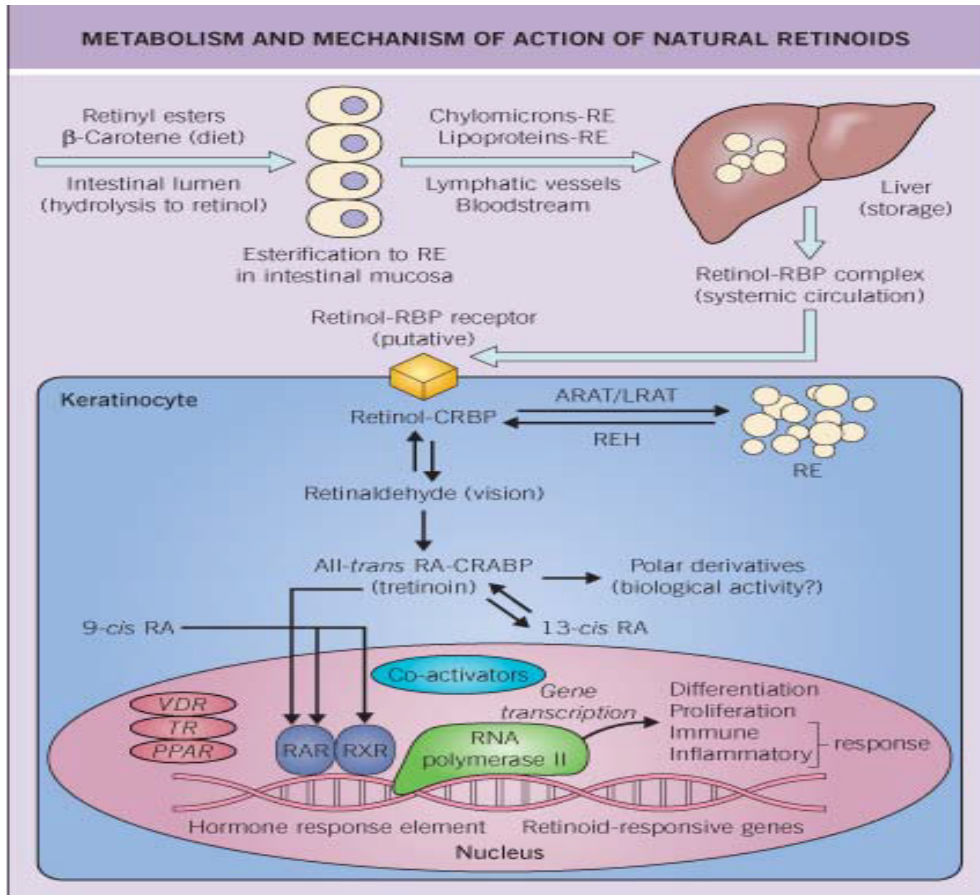
Karaciğerden retinol ester depo formu saldıktan sonra kan dolaşımında retinol, transtretin ve retinol bağlayıcı protein (RBP) kompleksine bağlanarak taşınır. Retinolün nükleer reseptörlere bağlanan biyolojik aktif formu olan at-RA'ya dönüşümündeki temel hücresel yolak iki basamaklı bir süreçten oluşur. Birinci basamak geri dönüşümlü olup retinol (vitamin A'nın alkol formu), retinaldehide (vitamin A'nın aldehid formu) okside olur, ikinci basamak geri dönüşümsüz olup retinaldehid retinoik asite (vitamin A'nın asit formu) dönüşür (1).

Hücresel RBP (HRBP-I) olarak adlandırılan protein retinolu uygun enzimlere aktararak bu enzimatik reaksiyonları kolaylaştırır. İki ayrı hücre içi taşıyıcı olan hücresel retinoik asit bağlayıcı proteinler (HRABP-I ve II) hem retinoik asitin nükleusa

taşınmasında, hem de hücre içi serbest at-RA seviyelerinin tamponlanmasında görev alır. HRABP-I retinoik asiti metabolize eden enzimlerin aktivitelerini direk olarak etkileyerek, HRABP-II ise protein-protein etkileşimi yoluyla retinoik asit reseptörlerinin (RAR) transkripsiyonel aktivitesini belirgin biçimde stimüle ederek retinoik asitlerin metabolizmasını düzenler (105).

A vitaminine ait hedef hücrelerin büyük kısmı retinolü, retinale ve retinoik aside metabolize eder. Retinol, olasılıkla bir hormon olarak işlev görür. Retinal, görme pigmenti rodopsinin gerekli ön maddesidir: Retinoik asit ve metabolitleri, epitel farklılaşması üzerinde etki gösterirler ve glikoproteinlerin sentezinde oligosakkarit taşıyıcıları olarak işlev görebilirler (100).

Retinoik asit proliferasyon, epitelin farklılaşması ve idamesinde retinolün yerine görev yapabilirken üreme faaliyetinde retinolün ve görme faaliyetinde retinalin yerine görev yapamaz (104).



© 2003 Elsevier - Bologna, Jorizzo and Rapini: Dermatology - www.dermtext.com

Şekil 7. Retinoidlerin Metabolizması ve Etki Mekanizması (1).

(RE, retinil esterler; RBP, retinol bağlayıcı protein; CRBP, hücresel retinol bağlayıcı protein; LRAT, lesitin retinol açıl transferaz; ARAT, açıl-CoA:retinol açıl transferaz; REH, retinil ester hidrolaz; RA, retinoik asid; CRABP, sitozolik retinoik asid bağlayıcı protein; RAR, retinoik asid reseptör; RXR, retinoid X reseptör; VDR, vitamin D3 reseptör; TR, tiroid reseptör; PPAR, peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör.)

Retinoidlerin etkilerinin anlaşılmasında retinoidlerin nükleer reseptörlerinin keşfedilmesi büyük buluş olarak gözükmektedir (1). Retinoik asidin ve retinolün aktif metabolitlerinin hedef hücrelerdeki etkilerine aracılık eden iki retinoid reseptör tipi belirlenmiştir. RAR (retinoik asit reseptör) ve RXR (retinoik asit X reseptör) olarak adlandırılan bu nükleer reseptörler DNA transkripsiyonu yoluyla fizyolojik etkilerini gösterirler. RAR ve RXR reseptörleri steroid, vitamin-D3, tiroid hormon reseptörleri ve peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptörler gibi nükleer reseptör süper ailesine ait olup, ligandla aktive olan transkripsiyon faktörü vazifesi görür. RAR ve RXR reseptörlerinin de farklı genler tarafından kodlanan α , β , γ olmak üzere üç tane alt tipi vardır. Ayrıca her bir alt tipin çeşitli izoformları vardır (106).

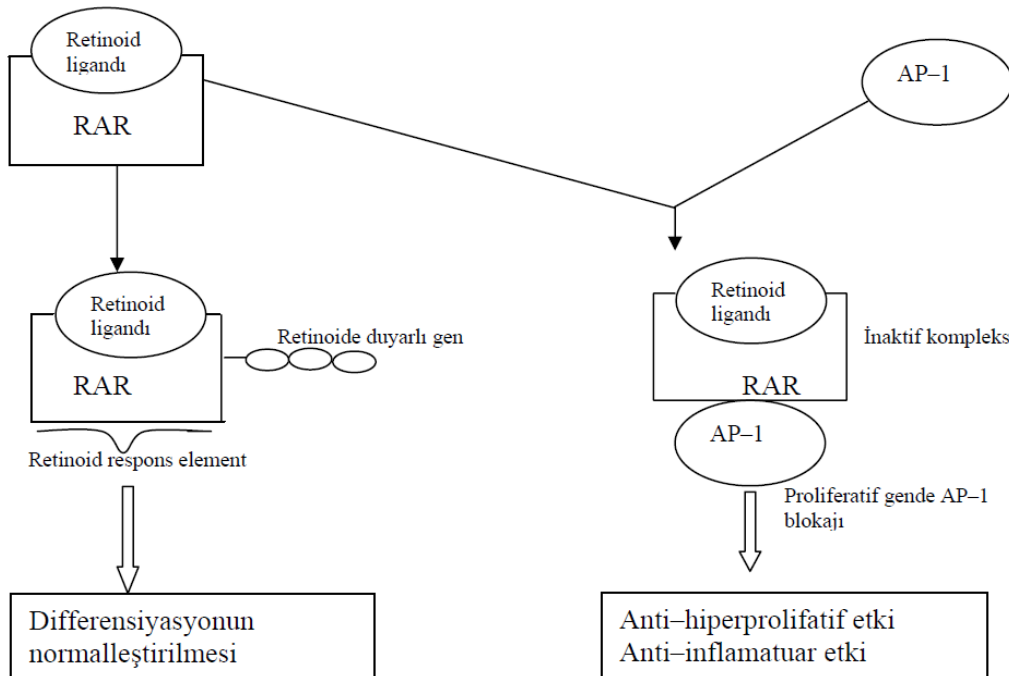
RAR genlerinin hem zamana, hem de hücrelere bağlı olarak değişen bu üç farklı paterninden RAR- α geninin ürünleri embriyonik ve yetişkin dokuların çoğunda bulunur ve retinoidlerin büyüme ve farklılaşma üzerindeki genel etkilerinin bazılarında sorumludur. Buna karşın RAR- β geni yetişkin derisinde az miktarda eksprese edilir, fare embriyosunda programlı hücre ölümü gösteren alanlar ile birliktelik gösterir. RAR- γ geninin ise fare embriyo çalışmalarında kondrojenesis ve deri diferansiasyonu gösteren hücrelerde ekspresyonu görülür (107).

Ayrıca farklı retinoidler farklı reseptörlere bağlanma özelliği gösterirler. at-RA (all trans retinoik asit) yalnızca RAR reseptörüne bağlanırken, 9-cis-RA hem RAR hem de RXR reseptörlerine bağlanır. RAR, her zaman RXR ile heterodimer oluştururken, RXR homodimer olarak bulunur veya diğer nükleer reseptörler ile heterodimer oluşturur. Retinoid reseptörlerinin (RAR/RXR ya da RXR/RAR) dimerleri, nükleusta lokalizedir ve retinoide yanıt veren genlerin promotor bölgelerindeki hormon yanıt elementleri olarak da adlandırılan spesifik DNA regülatör dizilerine ligandsız olarak bile bağlanabilir. Ligandsız reseptörler korepressör moleküllere bağlanırlar ve transkripsiyonu engellerler. Bununla birlikte reseptör liganda bağlandığında koaktivatörlerin toplanmasına ve korepressörlerin

salınımına yol açan yapısal bir değişikliğe uğrar. Sonuçta retinoid reseptör kompleksi genlerin spesifik yapılarının transkripsiyonunu düzenler (1).

Retinoidler gen transkripsiyonunu hem direkt, hem de indirekt olarak etkiler. Direkt etki transkripsiyonu aktive eden hedef genlerin promotor bölgelerinde bulunan retinoid hormon yanıt elementlerine (retinoid asit yanıt elementi; RARE) retinoidlerin bağlanmasıyla gerçekleşir. Diferansiasyon etkilerinin bazıları direkt etki mekanizması aracılığı ile oluşmaktadır. Retinoidlerin indirekt etkilerinde ise tam tersine promotor bölgelerinde RARE içermeyen genlerin down regülasyonu sonucunda olur. Retinoid reseptör kompleksi, proliferatif ve enflamatuar yanıtla ilgili olan aktivatör protein 1 (AP1) ya da nükleer faktör interlökin 6 (NF-IL6) gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon aktivitelerini antagonize edip diğer genlerin ekspresyonunu azaltırlar (106).

Retinoid X reseptörlerinin yapısında, ligantların yüksek ve spesifik bir affinite ile bağlanabileceği küçük bir cep bulunmaktadır. Bu reseptörleri diğer nükleer reseptörlerden ayıran özelliği, transkripsiyon, gen ifadenmesi ve glukoz, yağ asidi ve kolesterol metabolizması gibi metabolik sinyal yollarını düzenleyici etkileridir. Bu nedenle, bu reseptörler Tip-2 diyabet, hiperlipidemi ve ateroskleroz gibi metabolik bozukluklarda önemli rol oynamaktadır (108).



Şekil 8. Retinoid ligand–retinoid reseptör kompleks aktivasyonun gen regülasyonu (107).

2.4.2. Retinoidlerin Biyolojik Etkileri

1-A vitaminin(retinol) fonksiyonları:

- Embriyonik büyüme
- Morfogenez
- Epitelyal dokuların farklılaşma ve idamesi
- Reproduksiyon
- Görme fonksiyonları (retinaldehid)

2-Retinoidlerin biyolojik etkileri:

- Proliferasyon ve farklılaşmanın modülasyonu
- Antikeratinizasyon
- Hücre sel yapışıklığının değiştirilmesi
- Antiakne ve antiseboreik etkiler
- İmmünolojik ve antiinflamatuvar etkiler
- Tümörden korunma ve tedavisi
- Apoptoz indüksiyonu
- Ekstrasellüler matriks komponentleri üzerine etkiler (1).

2.4.3. Tretinoin

All-trans retinoik asit (at-RA, tretinoin) doğal olarak oluşan retinol (vitamin A) metabolitidir(109). Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve embriyonik gelişim üzerine çok yönlü etkileri olan tretinoinin akne tedavisi, keratinizasyon bozuklukları, foto hasarlanmanın geriye döndürülmesi ve çeşitli malignensiler üzerine tedavi edici faydalı etkileri gösterilmektedir (109). Tedavinin ilk haftasında aknede geçici bir kötüleşme yapabilirler(1). Tretinoinin akne tedavisinde kullanılan üç farklı formülasyonu vardır. Bunlar: krem (% 0.025, % 0.05 ve % 0.1), jel (% 0.01 ve % 0.025) ve solüsyon (%0.05) formlarıdır. Fotoyaşlanma tedavisinde ise krem (% 0.05 ve % 0.02) formülasyonları vardır (110).

Eritem ve soyulma ile karakterize lokal deri irritasyonu görülebilir. Yararlı etkileri ise haftalar veya aylar sonra fark edilmeye başlanır. Tretinoin ve diğer topikal retinoidlerin verilmesinde doz, kutanöz irritan reaksiyonların görülmesine bağlı, uygulama

sıklığını veya retinoidin konsantrasyonunu azaltarak ayarlanır. Güneş koruyuculu nemlendiriciler tedavinin ayrılmaz bir parçasıdır. Tretinoin topikal kullanımı için FDA'nın gebelik sınıflandırması C grubu olup, konjenital bozukluğa neden olduğu bildirilmemiştir. Tretinoinin aynı zamanda sistemik tedavide kullanımı da mevcuttur. at-RA, hücrel diferansiasyonu uyararak akut promiyelositik lösemide yüksek oranda klinik remisyon sağlayabilmektedir. Fakat hızlı gelişen bir direnç görülmektedir (1).

2.4.4. İzotretinoin (13-cis retinoik asit)

İzotretinoin, A vitamini metabolizmasında oluşan ve doğal olarak ortaya çıkan fizyolojik bir bileşiktir. 13-cis-RA ve at-RA, yarı ömürlerinde farklılıklar olan birbirine dönüşebilen iki izomerdir. İzotretinoinin gastrointestinal sistemden emilimi değişkendir. Günde iki kez yemekle birlikte alınması durumunda absorpsiyonu artar (111).

Oral izotretinoinin biyoyararlanımı yaklaşık %25'dir. İlaç alındıktan sonra 30 dakika içinde kana geçer ve 2–4 saat içinde en yüksek konsantrasyona ulaşır. Serumdaki etkin eşik değere 1 hafta içinde ulaşır (112). İzotretinoin albumin başta olmak üzere plazma proteinlerine çok yüksek oranda (%99.9'dan fazla) bağlandığından farmakolojik açıdan aktif olan serbest izotretinoin oranı %0.1'den daha düşüktür.

İzotretinoinin ana metabolitleri ilacın oral alınmasından sonra hızla oluşan 4-hidroksi ve 4-okso-izotretinoindir. (İzotretinoinin yarılanma ömrü 10–20 saat, aktif metaboliti 4-oksoizotretinoinin yarılanma ömrü ise 11–50 saat arasındadır.) İlacın vücuttan itrahi karaciğerde meydana gelen konjugasyondan sonra idrar ve feçes ile olur (113). İzotretinoin serum, cilt ve ciltaltı dokuda depolanmaz. Tedavi sonlandırıldıktan sonraki 2–4 hafta içinde serum ve ciltten kaybolur (114). Akneli hastalarda önerilen doz 0.5–2 mg/kg/gün ve süre ise en az 20 haftadır (115). İzotretinoin tedavisinde verilen kümülatif doz tedavi süresinden daha önemlidir. Kümülatif doz 120 mg/kg'dan büyük olduğunda uzun dönem remisyon sağlanması daha olasıdır (116).

İzotretinoin şiddetli komedonal akne, orta derece papülopüstüler akne, nodülökistik akne (akne konglobata), yineleyen ve tedaviye dirençli akne, şiddetli olmamakla birlikte konvansiyonel tedavilere cevap vermeyen inflamatuvar lezyonlu akne, piyoderma fasiyale ve rozase ile şiddetli skarın eşlik ettiği akne vakalarında endikedir (117).

2.4.5. Etretinat

Beta- iyon halkası aromatik halkaya dönüştürülmüş retinoik asit türevlerinden asitretinin etil esteridir. Bu ilaç bir ön ilaçtır ve vücutta hidroliz edilip asitretine dönüşerek etkinlik kazanır (104). Etretinat lipofilik olup dokularda birikme eğilimindedir. Yarılanma ömrü 80-120 gün arasında olup 2 yıl sonra hasta serumunda ilaç tespit edilmiştir. Etretinat psöriazis tedavisinde kullanılmaktadır. Günlük kullanımı 30-35 mg/gündür. Psöriatik hastalarda uzun süren ilaç kullanımı ile eklem ağrılarının azaldığı bildirilmiştir (118).

2.4.6. Asitretin

Asitretin etretinatın major metaboliti olup farmakolojik olarak aktif olan bileşiktir. Etretinat ve asitretinin etkileri eşit olmasına rağmen etretinata göre daha hızlı eliminasyonu nedeni ile asitretin farmakokinetik olarak avantajlıdır (1).

Etretinat güçlü lipofilik yapıdadır. Bu özelliği yağ dokusunda birikmesine ve eliminasyon süresinin uzamasına neden olur (yarılanma ömrü 120 gün). Tedavi bittikten sonraki iki yıl süresince serumda etretinat saptanır. Asitretinin lipofilik özelliği etretinata göre 50 kez daha azdır ve yarılanma ömrü 48 saat gibi kısa bir süredir. Etilalkol varlığında asitretin esterleşerek etretinata dönüşür ve alkol miktarına göre etretinat konsantrasyonu artar (119). Asitretin ve etretinat gıdalarla birlikte alındığında emilimi 2 ila 5 kat artar. Bu yüzden gıdalarla birlikte alınması tavsiye edilir. Plazma retinoid konsantrasyonu bireyler arasında değişiklik gösterir ve bu vücut ağırlığına bağlı değildir (1). Asitretin alkolle birlikte alındığı zaman etretinata re-esterifikasyon olabilir. Bundan dolayı etretinat gibi asitretin kullanan hastalarda da zorunlu kontrasepsiyon süresi 2 yıl olarak belirlenmiştir. FDA (Food and Drug Administration), kontrasepsiyon süresini en az 3 yıl olarak belirlemiştir. Tedavi süresince ve tedaviden sonra 2 ay boyunca alkolden kaçınan bayanlar için asitretinin farmakokinetik avantajı etretinattan fazladır. FDA tarafından Haziran 1997'de aynı endikasyonlar için etretinatın yerine kullanılmak üzere onay almıştır (1). Psoriasis ve keratinizasyon bozukluklarındaki klinik etkinliği proliferasyon ve diferansiasyonu düzenlediğini gösterirken, püstüler psoriasis ve subkorneal püstüler dermatozdaki etkinliği inflamatuvar yanıt ve nötrofil fonksiyonlarını düzenlediğine işaret etmektedir (1). Asitretin, lokalize ve jeneralize püstüler psoriasis, şiddetli ve tedaviye dirençli plak tip psoriasis, eritrodermik psoriasis tedavisinde FDA tarafından onaylanmıştır (120).

Psoriasis tedavisinde asitretin tek başına kullanıldığında klinik yanıt için 0.7-1 mg/kg/gün gibi yüksek dozlarda ve 3-4 ay kullanım gerektirir (121). A vitamini ve

retinoidler direkt olarak spesifik keratinlerin mRNA üretimine etki eder. Normal epidermis için gerekli olan Keratin 5 ve Keratin 15'in sentezini artırırken, hiperproliferatif durumlarda baskın hale geçen Keratin 6 ve Keratin 16 sentezini azaltır (122). Retinoidler polimorf nüveli lökosit göçünde inhibisyon ve lenfositlerde mitojenik yanıt süpresyonu oluşturarak psoriatik derideki inflamatuvar aktiviteyi azaltır. Asitretin ve etretinat tedavisi kesildikten sonra genellikle rebound görülmez ve ilaç yeniden başlanırsa aynı etki elde edilir (1).

Asitretin ve etretinat tedavisine 0.5-1 mg/kg/gün dozunda başlandığında birkaç gün içinde tedaviye ara verilmesine neden olan, lezyonlu alanlarda genişleme ve eritemde artma şeklinde hastalıkta kötüleşme görülebilir. Bunu önlemek için 10 mg/gün şeklinde düşük dozla başlayıp doz kademeli olarak artırılmalıdır (123).

Asitretin kseroderma pigmentozum, immunsupresyon gibi predispozan durumu olan hastalarda yeni deri kanseri gelişimini önler. Asitretinin güçlü teratojen yan etkilerinin yanında doza bağımlı ve geriye dönüşümlü çeşitli mukokutanöz yan etkileri (keilitis, mukoza kuruluğu, kserozis, palmo-plantar soyulma ve saç dökülmesi) vardır. Hastaların % 5-8'inde transaminaz düzeylerinde yükselme görülür fakat akut hepatotoksik reaksiyon nadirdir. Hiperlipidemi sık görülen diğer bir yan etkisidir. Kemikte ligament kalsifikasyonu, osteoporozis, epifizlerde erken kapanma gibi değişiklikleri yapabildiği için büyüme-gelişme çağındaki çocuklar dikkatli izlenmelidir. Asitretinin hepatotoksik ilaçlarla birlikte verilmesi ve intrakranial hipertansiyon riskinden dolayı siklinlerle kombinasyonu kontrendikedir (124).

Beksaroten, RXR'lere selektif bir retinoid (reksinoid) olup RXR'lere RAR'dan yaklaşık 100 kat daha güçlü bağlanır. 1999'da kutanöz T hücreli lenfomaların tedavisinde kullanılmıştır. Yağlı gıda alımıyla emilimi artar. Plazma proteinlerine %99'dan fazla oranda bağlanır. Yarı ömrü 7-9 saattir. Beksaroten sitokrom P-450 3A4 (CYP 3A4) tarafından metabolize edilir ve hepatik CYP 3A4 indüksiyonuyla oksidatif metabolitleri oluşur. Metabolitleri 6/7-Hidroksibeksaroten ve daha az oranda bulunan 6/7-oksobeksarotendir. Beksaroten ve metabolitleri idrar ile atılmazlar, eliminasyonları hepatobilier sistem yoluyla olur. Beksaroten, kutanöz T-hücreli tedavisinde kullanım için FDA onayı almıştır (1).

2.4.7.Tazaroten

Tazaroten, deri esterazları yoluyla hızla aktif metaboliti olan serbest karboksilik asite (tazarotenik asit) dönüşen bir ön ilaçtır. RAR- β/γ reseptörlerine, RAR- α

reseptöründen daha fazla afinite gösterir. RXR'lere afinitesi yoktur. Hızla metabolize olduğu için, düşük sistemik etkiye sahiptir. Tazaroten psoriasisın patogenezini hücre proliferasyonu, diferansiasyonu ve inflamasyonu içeren retinoide yanıt veren genlerin ekspresyonunu düzenleyerek modüle eder. Keratinosit transglutaminaz I (Tgase I)'in dağılımını ve ekspresyonunu normal hale getirir, hiperproliferatif keratin K6 ve K16 ile epidermal growth faktör reseptörü (EGF-R)'nün anormal ekspresyonunu azaltır (1).

Tazaroten hızlı bir şekilde aktif metaboliti olan tazarotenic aside hidrolize olan bir ön ilaçtır. Tazarotenic asit proteinlere yüksek oranda bağlanır. Düşük miktarda tazaroten plazmada tespit edilebilir. Tazaroten ve tazarotenic asit idrar ve fekal yollar ile elemine edilir (125).

Tazarotenin minimal teratojenite potansiyeli olduğu ileri sürülmüştür. FDA, diğer topikal retinoidler olan tretinoin ve adapaleni teratojenite riski açısından C kategorisinde Tazaroteni ise X kategorisinde sınıflandırmıştır (126).

Topikal tazaroten çocuk doğurma potansiyeline sahip olan veya gebeliği düşünenler ile yeterli gebelik önlemleri almak istemeyen kadınlarda kullanmaktan kaçınılmalıdır (125).

Tazarotenin dermatolojide psöriazis, akne vulgaris, konjenital iktiyozisi çeşitli tipleri, darier hastalığı, bazal hücreli karsinom başlıca kullandığı hastalıklardır. Tazarotenin tümör hücreleri için otokrin büyüme faktörü IL-6 sentezini durdurarak, kaposi sarkomunun tedavisinde başarılı olabileceği düşünülmektedir (126).

2.4.8. Retinoidlerin Dermatolojide Kullanım

Tablo 10. Retinoidlerin Dermatolojide Kullanım Alanları (1).

Topikal retinoidler	FDA onaylı endikasyonlar	Akne vulgaris Fotoyaşlanma (kırışıklık, noktasal pigmentasyon, fasial pürüzler) Psoriazis (%20'den az vücut yüzey alanı) Kutane T hücreli lenfoma(Beksaroten) Kaposi sarkomu
	Onaylanmamış bazı endikasyonlar	Bazı keratinizasyon bozuklukları (Darier, iktiyozlar, pitriazis rubra pilaris) Rozase Pigment bozuklukları (melazma, lentigo, postenflamatuvar hiperpigmentasyon) Aktinik keratoz Stria Yara iyileşmesi Likien planus(oral ve kutane)

		Verruka plana Kortikosteroide bağı atrofi Deri kanserinin tedavisi ve korunma (BCC, kseroderma pigmentozum)	
Sistemik retinoidler	FDA onaylı endikasyonlar	Psoriasis (asitretin) Akne (isotretinoin) Kutane T hücreli lenfoma (Beksaroten)	
	Onaylanmamış bazı endikasyonlar	Rozase ve akne ilişkili dermatozlar	Hidradenitis suppurativa Eozinofilik püstüler folikülit AIDS asosiye eozinofilik folikülit Piyderma fasiale (rozase fulminans)
		Keratinizasyon bozuklukları	İktiyozların farklı formları Darier hastalığı pitriazis rubra pilaris keratoderma Papillion –Iefevre sendromu
		Neoplastik gelişimin proflaksisi	Kseroderma pigmentozum Nevoid bazal hücreli karsinom sendromu Solid organ transplant hastalarında deri kanseri
		Neoplastik hastalıkların proflaksisi	Epitelyal preknseröz tablolar Bazal hücreli karisnom İleri evre epidermoid karsinom Keratoakantom Muir torre sendromu Lököplaki Langerhans hücreli histiyositoz
		Diğer tablolar	Atrofodema vermikülatum Uleritema ofriyogenes Confluent and reticulated papüllomatozis of Gougerot and Carteaud Bazex paraneoplastik akrokeratozu Foliküler müsinoz Lupus eritematozus Sarkoidoz Garanüloma anülar Liken planus Liken sklerosus Subkorneal püstüler dermatoz

2.4.9. Retinoid tedavisinin kontrendikasyonları

Topikal Retinoidler

Artan medikolegal sorunlardan dolayı, gebelik ve emzirme dönemi esnasında topikal retinoidler kullanılmamalıdır. Topikal retinoidlerin iritan etkilerinden dolayı, diğer iritan ürünler (örn.abraziv sabunlar, astrenjanlar, kozmetikler, tonikler, soyucular ve diğer potansiyel iritan ajanlar)ile birlikte kullanılmamalıdır (1).

Sistemik Retinoidler

Tablo 11. Sistemik retinoidlerin kontrendikasyonları (127).

Kesin kontrendikasyonlar	Rölatif kontrendikasyonlar
Şiddetli karaciğer disfonksiyonu	Lökopeni
Şiddetli böbrek disfonksiyon	Orta yada şiddetli hiperkolesterolemi veya
Doğurgan çağındaki bayanlar	Hipertrigliseridemi
Gebelik, emzirme,	Küçük çocuklar
2 yıl kontrasepsiyon uygulayamama	İntihar eğilimi
	Psödötümör serebri
	Alkol bağımlılığı
	Diyabet
	Pankreatit hikayesi
	Ateroskleroz
	Metotreksat veya tetrasiklinler ile beraber

2.4.10. Tedavi takibi

Tedavi öncesi geçmiş ve/veya halen mevcut karaciğer ve böbrek hastalığı veya her iki organ için toksisitesi olan ilaç kullanıp kullanmadığı lipid metabolizması bozukluğu, iskelet sistemine ait hastalık öyküsü, diyabet, alkol bağımlılığı ayrıntılı sorgulanmalıdır (127). Retinoid kullanan hastalarda klinik değerlendirme ilk yarı yıl her ay, ondan sonraki dönemde ise üç ayda bir yapılmalıdır. Bu değerlendirmelerde açlık lipid seviyeleri(trigliserit, kolesterol) ve gebelik testleri mutlaka yapılmalıdır (118).

2.4.11. İlaç etkileşimleri

Tetrasiklin grubu antibiyotik verilmemeli, şiddetli baş ağrısı, bulantı, kusma, görme bozuklukları gibi yakınmalarda göz dibi muayenesi yapılmalıdır. Fenitoinle beraber kullanıldığında asitretinin proteine bağlanmasını azaltır. Metotreksat ile kombine edildiğinde toksik hepatit gelişme riski artar. Tetrasiklin, minosiklin, doksisisiklin (kafa içi basıncını ve fototoksosite riskini arttırdığı için) ve alkol ile kullanımdan kaçınılmalıdır (128).

Asitretinin A vitamini ile beraber alınması hipervitaminoza yol açabileceğinden önerilmez. Düşük doz progesteron içeren doğum kontrol haplarının etkinliği de asitretin kullanımı ile düşmektedir. Lipid düşürücülerle beraber kullanıldığında rabdomyoliz görülebilir (129).

Beksaroten ve gemfibrozilin beraber kullanımı beksarotenin plazma konsantrasyonunu arttırır, toksisiteyi arttırır. Bu gemfibrozilin CYP450 üzerindeki inhibe edici etkisinden dolayıdır (1).

Atorvastatin kullanımı beksarotenin plazma seviyesini etkilemez ve antilipemik tedavide beksarotenle birlikte kullanılır. Nadiren diyabet hastaları retinoid alırken glukoz seviyesini kontrol edemezler, fakat buna neden olan mekanizma belirlenememiştir (1).

Retinoid ilaç seviyesi ve toksisitesi azol ve makrolid gibi CYP 3A4 inhibitörleri ile artarken antitüberküloz (rifampisin), antikonvülzan (fenitoin ve karbamezapin) ilaçlar CYP 3A4 induksiyonu ile retinoidlerin ilaç seviyesini azaltabilir. Retinoidler CYP 3A4 metabolizma yolunda yarışarak siklosporin seviyesini arttırır (130). Neomisin malabsorbsiyon sendromunu indükler bu yüzden vitamin A'nın emilimini etkiler (1).

Doz aşımı Tedavisi

Asitretinin akut toksisite olasılığı düşüktür ve yan etkileri ilacın kesilmesi ile geri dönüşlüdür (129).

2.4.12. Retinoidlerin Yan Etkileri

Deri ve Mukozadaki yan etkileri: İzotretinoin ve etretinatın akut mukokütanöz toksik etkileri sıklıkla iyi tolere edilir ve hayatı tehdit etmez. Etkilerin görülmesi doza bağımlıdır ve basit tedavilere yanıt verir. Etkiler doz azaltıldığında ya da tedavi kesildiğinde geri döner (1).

Retinoid hastaların çoğu dudakta, deride ve mukoza membranlarında kuruma ve çatlamadan yakınır. Keilit en sık görülen toksik etki olup, isotretinoin alan hastaların

hemen hemen hepsinde görülür. Bu etki düşük dozlarda bile görülebilir. Keilitin görülmemesi aknenin tedaviye cevap vermemesi ile birlikte (≥ 0.5 mg/kg/gün dozlarda) olursa ilaç etkinliğinin düşük olduğunu ya da nadiren ilacın emiliminin bozuk olduğunu gösterir (133).

Keilit asitretin tedavisine takiben ortaya çıkan, en erken ve en sık görülen tablodur. Bunu takiben blefarokonjonktivit, kuru göz, kuru burun ve kuru ağız görülmektedir. Ağız kuruluğu ile susama hissi, burun mukozası kuruluğu ve frajilite ile epistaksis sıklıkla gözlenir (1). İzotretinoine bağlı bazen deskuamasyon ve özellikle avuç ve ayak tabanlarında soyulma oluşur. Bu durum psoriyazis tedavisinde kullanılan etretinat ve asitretinle ile daha fazla görülür (1). Fotosensitivite isotretinoin ile görülür, nedeni stratum korneum kalınlığının azalmasıdır. Beksaroten daha nadir mukokutanöz ve oküler yan etkilere sahiptir. Eksfoliyatif dermatit en sık görülen yan etkisidir. *S. aerius* kolonizasyonu isotretinoin etkisiyle oluşan sebum üretimi azlığı sonucu ortaya çıkar ve bu durum deri infeksiyonlarına neden olabilir (131). Daha az görülen retinoid dermatiti ise eritemli papüler erüpsiyonlarla psoriyazis, pitriyazis rozea ya da ekzemayı taklit edebilir. Atopik hastalarda oral retinoide bağlı ekzema tablosu kötüleşebilir ve kaşıntı alevlenebilir. Nadiren, lökositoz, poliartralji ve ateşin eşlik ettiği akne fulminansın destrüktif lezyonları, isotretinoin tedavisi sırasında artabilir (132).

Gözde oluşan yan etkiler: Hastaların % 20-50'sinde gözlerde batma, yanma gibi yakınmalara neden olan blefarokonjonktivit ve kuru göz en sık görülen oküler yan etkiler olup, ilaç alımının üçüncü ve dördüncü haftası içerisinde görülmeye başlanır. Meibomit, korneal opasiteler, kontakt lens intoleransı, bulanık görme, papilödem ve psödotümör serebri, gece görüş bozuklukları sistemik izotretinoin tedavisi boyunca görülebilecek diğer oküler yan etkilerdir. İzotretinoine bağlı oküler yan etkilerin doz ile ilişkili olmadan, meibomian bezlerinin disfonksiyonuna bağlı görüleceği çeşitli yayınlarda gösterilmiştir. İzotretinoin kullanımı sırasında korneal opasite oluşumu ve gece görmede azalma nadir görülen yan etkilerdir. Gece görüş bozuklukları izotretinoinin oküler retinol dehidrojenasyonu inhibe edip 11 cis retinal seviyesini azaltmasına bağlıdır. Gece görüş bozuklukları bazen ilaç kesilmesine rağmen devam edebilmektedir. Bu durum idiosinkratiktir ve dozdan bağımsızdır. Düşük ve yüksek doz kullanımında bildirilmiştir. İzotretinoin kullanımı sırasında psödotümör serebri ve papilödem gelişmesi ciddi bir yan etkidir ve izotretinoin tedavisinin kesilmesini gerektirir. Görme bulanıklığı, diplopi, şiddetli baş ağrısı, bulantı ve kusma gibi semptomlarla ortaya çıkar. İzotretinoin ile

tetrasiklinin birlikte kullanımı, psödötümör serebri riskini artırdığı için önerilmemektedir (134).

Saç ve Tırnakta görülen yan etkiler: Diffüz veya lokalize saç kaybı (telojen effluviyum) isotretinoine göre etretinat tedavisi sırasında çok şiddetlidir. Dökülme tedaviye başlandıktan 3–8 hafta sonra ve minimal total dozun 2 gramı aştığı durumlarda görülür. Tedavi kesildikten 6–8 hafta sonra saç dökülmesi durur. Nadiren kalıcı saç dökülmesi rapor edilmiştir (133).

Deri frajilitesinde ve vasküler proliferasyonda artışı nedeni ile tedavi esnasında piyojenik granüloma benzeri lezyonlar görülebilmektedir (135).

Kemik üzerine olan yan etkileri: Kemik toksisitesi keratinizasyon bozukluklarının uzun süreli tedavisinde yüksek doz retinoid kullanan hastalarda görülmektedir. Belirgin bir nedene bağlı olmayan kemik ağrısı retinoid kullanan hastalarda sık görülür. Her ne kadar bu şikâyet uzun süreli patolojik etkilere sahip değilken, çeşitli raporlarda çelişen sonuçlar içeren sistemik retinoidlerle (isotretinion, etretinat) omurgada diffüz hiperostosis formasyonu [diffüz idiyopatik iskelet hiperostozis (DİİH) sendromu benzeri kemik değişiklikler] ve özellikle bileklerde tendon ve ligamentlerde kalsifikasyonlar görülür (136).

Spesifik bulgular arasında anterior spinal ligament kalsifikasyonu, osteofitler, ekstrapinal kalsifikasyon, disk boşluğunu etkilemeyen kemik köprüleri yer alır. Nadiren spinal posterior longitudinal ligament ossifikasyonu rapor edilmiştir (137). Osteoporoz hipervitaminöz A ve uzun süreli etretinat tedavisinde görülürken isotretinoinde görülmez. Ancak 6 ay isotretinoin kullanan hastalarda kontrol grubuna göre, kemik yoğunluğunda kalsiyum metabolizmasına bağlı olmayan %4'lük yoğunluk kaybı görülmüştür (138). Çocuklarda osteoporoz, periostal kalınlaşma, uzun kemiklerin incelmeleri ve epifizlerin erken kapanması gibi birkaç iskelet anormallikleri rapor edilmiştir (139).

Kaslar üzerine olan yan etkileri: Sistemik retinoidlerle kas iskelet ağrıları veya hafif rahatsızlıklar gözlenebilmektedir (140).

İsotretinoin alan hastaların %16–51'inde kas şikâyetleri ve yüksek kreatin fosfokinaz (CPK) düzeyleri bildirilmiştir (141).

Merkezi Sinir Sistemi ve Psikiyatrik yan etkileri: Merkezi sinir sistemi yan etkileri nadirdir. Her ne kadar bireysel kafa içi basınç artışı belirtileri olan baş ağrısı, bulantı ve kusma bazen görülmüşse de papilödem ve görme bozukluğun olduğu

sendromun (psödötümör serebri) tam bulguları nadiren görülür (142). İzotretinoin kullanan hastalarda tetrasiklin, doksisisiklin ve minosiklin kombine kullanılırsa nadiren kafa içi hipertansiyona neden olur, bu psödötümör serebri riskini artırır. İzotretinoin ve kombine tedavisinden kaçınılmalıdır. Retinoid tedavisi alan hastalarda baş ağrısı, bulantı, kusma ve görme değişiklikleri varlığında veya psödötümör serebriden şüphelenilirse papil ödem muayenesi yapılmalıdır (1). Anekdotal raporlarda akneli hastalarda şiddetli depresyon, psikoz ve intihar girişimi ile isotretinoin tedavisi arasında nedensel ilişki olduğu ileri sürülüyor (143).

Ancak, geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalarda isotretinoin maruziyeti ile antibiyotiklerle ilişkili yeni tanımlanan depresyon, suicidal davranışlar, psikoz ya da diğer psikolojik bozukluklar arasında risk artışına yönelik kanıt bulunamamıştır (144).

Pankreatit: Birinci ve ikinci kuşak retinoidlerin aksine akut hemorajik pankreatit beksaroten kullanan hastalarda yaygındır. Pankreatit 300 mg/m²/gün ve üzeri oral beksaroten kullanan üç hastada açlık serum trigliserit seviyesindeki artışla beraber görülmüştür. Güvenlik nedeniyle 300 mg/m²/gün ve daha düşük dozlar önerilir (145).

Hipotiroidizm: Beksaroten ile kutanöz T hücreli lenfoma denemelerinde hastaların %40'ında klinik ve biyokimyasal hipotroidi gözlemlendi. Tedavinin kesilmesi ile herhangi bir klinik sekel olmadan hızlı ve tamamen düzelme sağlanır (145).

Renal: Renal toksisitenin retinoid uygulamasıyla bir ilişkisi yoktur. İzotretinoin hemodiyalize giren ileri aşama böbrek hastalarında güvenle kullanılır (1). Vaka raporlarında etretinat tedavisi sırasında yükselen kreatin seviyesine bağlı olarak bazı renal fonksiyon düşüklüğü açıklanmıştır. Renal bozukluğa sahip olan hastalarda retinoid tedavisi sırasında renal fonksiyon takibi tavsiye edilir (146).

İnflamatuvar Barsak Hastalığı (İBH): İzotretinoin tedavisi ve İBH arasında ilişki bildirilmiştir. Fakat etki ve sebep olarak ilişki henüz tanımlanmamıştır. İzotretinoin nadiren İBH alevlenmesine neden olabilir. Kutanöz glandüler yapılarda görülen histolojik değişiklikler intestinal goblet hücrelerinde görülmemiştir. Bu nedenle isotretinoin İBH olan hastalarda dikkatli bir biçimde kullanılabilir (133).

Laboratuvar anomalileri

Hiperlipidemi: Serum lipid değişiklikleri retinoid tedavisinde en sık görülen laboratuvar anomalisidir (146). İzotretinoin, etretinat ve asitretin hastalarda trigliseritleri

%50, kolesterolü %30 oranında arttırır. Beksarotende bu oranlar sırasıyla %79 ve %48 dir (145).

Retinoid kaynaklı hipertrigliseridemi de ksantoma ve akut hemorajik pankreatit görülebilir. Retinoid kaynaklı hiperlipidemi ve bu uzun süreli tedavi yönetiminde aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların gelişimi bilinmiyor. Plazma trigliseridlerinin ve VLDL düzeylerinin artması doza bağımlıdır ve tedavi kesildikten sonra geri dönüşümlüdür. Retinoid tedavisi, trigliserit ve VLDL düzeyini 4– 6 hafta içinde yükseltir ve serum kolesterolünün HDL fraksiyonunda LDL fraksiyonuna aktarılmasına yol açar. Plazma trigliserid düzeyini normalin üzerine çıkaracak isotretinoin dozu 1 mg/kg/gün ve üzeridir (1).

Retinoid tedavisine başlamadan serum lipid seviyesi tespit edilmeli, değerler sabitleşene kadar her 1–2 haftada değerler ölçülmelidir. Serum değerleri normal olan riskli (şişmanlık, aşırı alkol kullanımı, diyabet) hastalarda 2 aya kadar aylık ve daha sonra 2–3 ayda bir değerler kontrol edilmelidir. Eğer trigliserit seviyesi 800 mg/dL ye ulaşmışsa tedavi kesilmelidir. Daha düşük artışlarda doz azaltma, serum lipid seviyesi normale dönene kadar tedaviye ara verme, sigara ve alkol tüketiminin azaltılması yardımcı olabilir. Bazı durumlarda lipid düşürücü ilaçlar gerekebilir (133).

Karaciğer Toksikitesi: Serum transaminaz seviyelerinde anormal yükselişler etretinat ve asitretin tedavisi gören hastaların % 20'sinde görülürken, bu oran isotretinoin ve beksaroten kullanan hastalarda daha azdır. Alkalen fosfataz, laktat dehidrojenaz ve bilirubin miktarları da anormal olabilir. Tedavi başladıktan 2–8 hafta sonrasında karaciğer fonksiyon testlerinde değişimler başlar. Fakat 2–4 hafta içinde tedavi devam etse de normale döner. Ciddi ve kalıcı hepatotoksik reaksiyonlar hastaların %1'inden azında görülür. Asitretin prospektif çalışmada herhangi bir biyopsi kanıtlı hepatotoksikite olayına sebep olmamıştır. Bu yüzden bu hastalarda karaciğer biyopsisi gerekli değildir. Hiçbir spesifik çalışma retinoid kullanımının, hepatik yetersizlikle ilişkisini gösterememiştir (1).

Retinoidlerin hepatik P450 isoenezimleri (CYP 3A4) tarafından metabolize edilmesi kısmi safra eliminasyonuna maruz kalması nedeniyle hepatik yetmezlik ilacın eliminasyonunu düşürür. Transaminaz artışının normalin üç kat üzerine çıkması retinoid tedavisini kesmeyi gerektirir. İki üç kat artışlarda ise karaciğer fonksiyon testi verilerine göre tedaviye ara verilmelidir (130).

Hematolojik Toksikite: Bekсарotenin 2–4 hafta arasında kullanımı ile %28 gibi yüksek bir oranda dozla ilişkili lökopeni bildirilmiştir (145).

Retinoidlerin yan etkileri önlenebilir ve kontrol altına alınabilir. Bunun için uygun hasta seçimi, doz seçimi, tedavi kesimi, potansiyel toksisitenin kontrolü gerekmektedir. Kontendikasyonlar hamilelik, hamile kalma riski, kontrasepsiyona uymamak, süt verme, parabenlere (asitretin kapsülündeki koruyucu madde) aşırı duyarlılıktır (1). İlişkili kontendikasyonlar: lökopeni, kolesterol ve trigliserit artışı, önemli hepatik (özellikle beksaroten) veya renal disfonksiyonlar ve hipotroidizm (bekсарoten). Hastalar diğer vitamin A türevlerini almamaları konusunda uyarılmalıdır (133).

Teratojenite

İsotretinoin ve etretinat potent teratojenlerdir (1). Maruz kalan fetüslerin 1/4'ünde doğumsal hasar saptanmıştır. Retinoid kaynaklı doğum deformiteleri (retinoik asit embriyopati) şunlardır: işitme ile ilgili (konjenital kulak yokluğu, dış kulak yokluğu ya da hipoplazisi), kardiyovasküler (ventriküler–atrial septal defekt), göz (mikroftalmus), aksiyel ve akral iskelet, merkezi sinir sistemi (hidrosefali, mikrosefali) ve timik bez (ektopi, hipoplazi, aplazi) anomalileri, Dandy– Walker kisti, nazal köprü çöküklüğü, yarı damak, kortikal körlük, büyük damarların transpozisyonu, aort kavsi anomalileri, fallot tetralojisi, hipoplastik adrenal korteks, küçük ağız ve çene (147). Bazen anomaliler ölümlere, spontan düşüklere (%15) ve prematür doğumlara neden olur. Hamileliğin 4. haftasında ilaca maruz kalan annelerde, nöral krest hücreleri üzerinde toksik etki görülmektedir. Retinoik asit embriyopatisi retinoidlere göre farklılık gösterebilir. Etretinat kardiyovasküler anomalilere daha az neden olurken akral iskelet anomalilerine daha sık neden olur. Retinoik asit embriyopatisinin oluşması retinoidlerin retinoik asit nükleer reseptörlerine bağlanmasına bağlı olabilir. Retinoide bağlı doğumsal bozuklukların çeşidi ve ağırlığı retinoidin hangi RAR (α , β , γ) reseptörüne bağlandığına göre değişir. Farelerde RAR– α ' ya bağlanan retinoidler en fazla teratojenik olup, RAR– γ ' ya bağlananlar en az teratojenik olanlardır (148). Ek olarak farelerde RAR– α antagonistleri RAR– α agonistlerine bağlı görünen büyük malformasyonların sıklığında ve ağırlığında etkili bir azalmaya sebep olmuştur. isotretinoin ve etretinat hamile kadınlarda ve hamile kalması muhtemel kadınlarda kontrendikedir. Uygun gebeliği önleyici tedbirleri kabul etmeyenlere ve bu yöntemlere uyumunun zor olacağı düşünülen hastalara bu ilaçlar başlanmamalıdır (1).

Erkeklerde spermatogenezde, sperm morfolojisinde veya motilesinde bu ilaçların etkisi yoktur (146). Fakat normal embriyogenezi etkileyecek faktörlerin semende taşınıp taşınmadığını kanıtlayan bulgu yoktur. Erkek paternin asitretin almasının, hamilelikte retinoid embriyoti malformasyonlarına neden olduğu görülmemiştir. Bu belirsizlik yüzünden, güvenlik açısından çocuk sahibi olmak isteyen babaların sistemik retinoid tedavisinden kaçınması önerilir (1).

Oral retinoid tedavi sırasında ve sonrasında kontrasepsiyon süresi retinoid çeşidine ve farmakolojik profiline göre değişkenlik gösterir (yarı ömür, yağ hücresinde depolanma). İnsanlarda sentetik retinoidlerin teratojenik eşiği, A vitamini aksine belirlenememiştir. Bu yüzden gebelik süresinde verilebilecek bir güvenli minimal emniyet dozdan bahsedilemez; tedavi süresince ve tedaviden sonraki bir ay boyunca iki farklı ve etkili gebelikten korunma yöntemi kullanılmalıdır. Ayrıca hastalara tedavi başlayabilmek için tedaviden önce iki kez negatif gebelik testi olmalı ve tedavi süresince her ay gebelik testi tekrarlanmalıdır (1).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler:

Çalışma grupları

Çalışma için Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından B.08.6.YÖK.2.YY.0.05.0.06/300 sayı numarası ile etik kurul izni alınmış olup bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2012-TF-U038 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında, ağırlıkları 150-300 gram arasında değişen standart laboratuvar yemi ile beslenen, yaklaşık 4 haftalık olan 40 adet Wistar Albino türü erkek ratlar üzerinde yapıldı. Deney hayvanlarına normal su gibi uygun diyet verilerek ve 12 saatlik aydınlık-karanlık siklüsleri oluşturularak, oda sıcaklığında tutularak yaşamaları sağlandı. Her grupta 10 adet rat olacak şekilde 4 grup oluşturuldu.

Deneyel çalışmada ratların gruplandırılması

1. Grup (n=10): 5 mg/kg/gün asitretin verilen erkek rat
2. Grup (n=10): 20 mg/kg/gün siklosporin verilen erkek rat
3. Grup (n=10): 20 mg/hafta metotreksat verilen erkek rat
4. Grup (n=10): Sadece standart yem ve su verilen erkek rat kontrol grubu



Resim 1. Çalışmaya alınan ratlar

İlaçların verilmesi

1. gruba: Asitretin (Neotigason capsule[®], Actavis, Portekiz) 10 mg ve 25 mg kapsül içinde piyasada mevcuttur Asitretin 5 mg/kg/gün dozda olacak şekilde deiyonize su içinde seyreltilerek cam şişede hazırlandı, UV den muhafaza etmek için alimünyum folyo ile sarıldı. İnsülin enjektörü kullanılarak asitretin günde bir kez oral verildi.

2. gruba: Siklosporin (Sandimmun Neoral kapsül[®], Novartis, İsviçre) Sandimmun Neoral 100mg 50 yumuşak jelatin kapsül şeklinde piyasada mevcuttur. 20 mg/kg/gün dozda olacak şekilde gliserin içinde seyreltilerek cam şişede hazırlandı. İnsülin enjektörü kullanılarak Siklosporin günde bir kez oral verildi.

3. gruba: Metotreksat (Methotrexate Ebewe tablet[®], A-Unterach, Avusturya) 2.5 mg tablet şeklinde piyasada mevcuttur. Metotreksat 20 mg/hafta dozda olacak şekilde deiyonize su içinde seyreltilerek cam şişede hazırlandı. İnsülin enjektörü kullanılarak Metotreksat haftada bir kez oral verildi.

4. grup: Kontrol grubu olup sadece standart yem ve su verildi.



Resim 2. Siklosporin, metotreksat, asitretin ilaçlarının hazırlanması



Resim 3. Ratlara ilaçların verilmesi

3.2. Çalışmanın Yapılması

Çalışmaya başlama ve takip:

25.02.2013 tarihinde çalışmaya başlandı ve 24.03.2013 tarihinde toplamda 1 ayda tamamlandı. Tedavi ve takip sırasında, siklosporin grubundaki ratlardan bir tanesinde burun kanaması sonrasında ve metotreksat grubundaki ratlardan ikisi 2.doz, biri 3.doz ve biri 3.doz sonrası şiddetli stomatit ve buna bağlı aşırı zayıflama sonrasında çalışma tamamlanmadan öldü. Toplamda 35 ratla çalışma tamamlandı. Ratların hiçbirinde saldırgan davranış tespit edilmedi.

Kan ve Testislerin alınması

Çalışmanın 29. gününde tüm ratlara sıra ile ketamine-HCL (hidroklorür) (100 mg/kg; Ketanest 100 mg/ ml) intraperitoneal olarak uygulandı böylece ratlarda kan alma ve sakrifikasyon sırasında anestezi sağlandı. 5 cc'lik enjektör ucu ile intrakardiyak girilip 2-3 cc kan alındı ve boş camlı biyokimya tüplerine aktarıldı. Kanlar 4.500 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant, ependorf tüplerine konulup folyo ile kapatıldı. Rat serumları çalışılması için Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderildi. Hayvanlar kanın vücuttan uzaklaştırılması (eksanguinasyon) suretiyle sakrifiye edildi. Daha sonra testisleri eksize

edildi, asitretin, siklosporin, metotreksat ve kontrol grubu yazılı kutulara konularak %10 formaldehit içinde bırakıldıktan sonra Yüzüncü Yıl Üniversitesi Patoloji Laboratuvarında çalışılmak üzere saklandı.



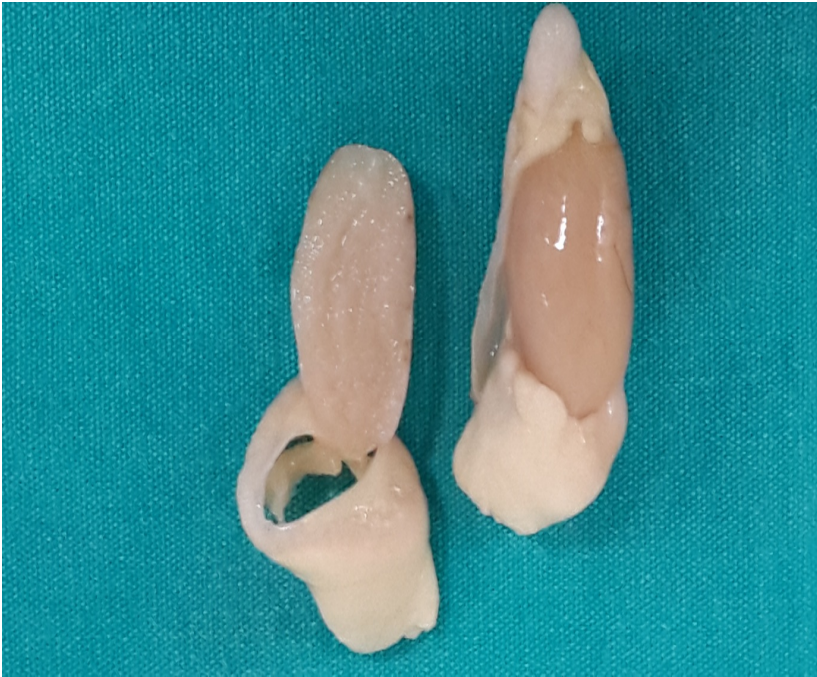
Resim 4. Anestezi yapılan rat



Resim 5. Kan alınması



Resim 6. Testis dokusunun alınması



Resim 7. Alınan testis dokusu

Serum değerlerinin biyokimyasal ölçülmesi

Serum testesteron (T), luteotropik hormone (LH), folikül stimulan hormon (FSH) ELISA testleri için ELISA yıkama cihazı (BioTek, USA 0211-3030 ELX50/8), ELISA reader (BioTek 0211-3030 ELX808, USA) cihazları kullanıldı. Rat T ELISA Kit CSB-E051100r numaralı Cusabio marka ELISA kiti (Japan) ile çalışıldı. Rat FSH ELISA

Kit CSB-E06898r numaralı Cusabio marka ELISA kiti (USA) ile çalışıldı. Rat LH ELISA kit CSB-E12654r numaralı Cusabio marka ELISA kiti (USA) ile çalışıldı

3.3. Testis Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi

Makroskopide testis dokusu uygun ölçülerde kesilerek kasetlere konuldu. Kasetler doku takip cihazında 12 saat bekletildi. Sonra dokular kasetlerde parafin bloklar haline getirildi. Parafin bloklardan mikrotomla 4–5 mikron kalınlığında kesitler yapıldı. Kesilen doku parçaları lamların üzerine alındı ve deparafinize edilerek hematoksilin–eozin ile boyandı. En sonunda lamların üzerine lamel kapatılarak ışık mikroskobu altında incelemeye alındı.

Yapılan histopatolojik incelemede, seminifer tübüllerde spermatogenik hücrelerin matürasyonu göz önüne alınarak her preparatta seminifer tübülünün spermiogenesi, intertisyer yapılar ve lümen içi incelendi. Histopatolojik kriterler kullanılarak Johnsen'in 1970'de oluşturduğu puanlama sistemine göre tübüli seminiferi kesitleri incelenerek aşağıdaki kriterlere göre her tübülüne verilen puanların toplamı sayılan tübül sayısına bölünerek ortalama puan hesaplandı (150).

Johnsen Skoru

10: Germ epiteli çok tabakalı, açık santral lümen, çok miktarda spermatozoa,

9: Germ epiteli çok tabakalı ancak disorganize, lümendeki epitel hücreleri spermatozoonlarla karışmış,

8: Germ epiteli çok tabakalı, lümeninde 10'dan daha az spermatozoa,

7: Çok miktarda spermatid, ancak hiç spermatozoon yok,

6: Hiç spermatozoon yok, spermatid sayısı 10'dan daha az,

5: Bir kaç tane spermatosit, spermatid veya spermatozoon yok,

4: Spermatozoon ve spermatid hiç yok, spermatosit sayısı 5'den az,

3: Sadece birkaç spermatogonya,

2: Birkaç sertoli hücresi, germ hücresi hiç yok,

1: Seminifer tübülde hiç hücre yok,

3.4. Yöntem (uygulama ve istatistiksel analiz)

Üzerinde durulan özellikler bakımından tanımlayıcı istatistikler; medyan, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değer olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından grupları karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Vakuolizasyon için oranları karşılaştırmada Z testi kullanılmıştır. Gruplarda özellikler arası ilişki için Spearman rank korelasyonu hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver:13) istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Biyokimyasal bulgular: Gruplar arasında biyokimyasal olarak FSH, LH ve T değerlerine bakıldı. FSH değeri kontrol grubu ile SsA, MTX ve asitretin grupları arasında $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunurken MTX ve SsA grubunda düşük, asitretin grubunda yüksek olarak bulundu. LH değerleri kontrol grubu ile SsA, asitretin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmazken, MTX grubunda $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Testesteron değerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında asitretin ve SsA grubunda anlamlı bir fark bulunmazken MTX grubunda $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Johnsen skorunun gruplar arasındaki median değerleri sırasıyla kontrol grubunda 9.8, siklosporin grubunda 9.6, asitretin grubunda 9.7, MTX grubunda 9.6 olarak değerlendirildi. Normal testiste bu oranın 9.39 olması bekleniyordu (149). Johnsen skoru SsA ve MTX grubunda değerleri birbirine benzer olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.01$ değerine göre istatistiksel olarak farklı bulundu (Tablo12).

Tablo 12. Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin gruplar arasında tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

	Grup	Medyan	Ort.	St. Sap	Min.	Mak.	P
FSH (mikroU/MI)	Kontrol grubu (n=10)	82,10 ^b	71,09	39,21	6,19	133,74	,040
	Siklosporin grubu (n=9)	48,14 ^c	70,54	47,74	26,55	143,74	
	Asitretin grubu (n=10)	109,79 ^a	99,94	36,58	13,84	136,37	
	Metotreksat grubu (n=6)	9,94 ^d	31,12	42,17	5,22	104,62	
LH (mikroU/mL)	Kontrol grubu (n=10)	42,67 ^a	41,75	4,57	31,21	49,19	,009
	Siklosporin grubu (n=9)	41,82 ^a	42,72	4,28	38,40	49,99	
	Asitretin grubu (n=10)	45,54 ^a	44,81	3,76	36,01	49,19	
	Metotreksat grubu (n=6)	34,30 ^b	35,93	5,31	30,27	43,23	
Testosteron (ng/mL)	Kontrol grubu (n=10)	3,83 ^a	4,31	3,71	,03	10,23	,049
	Siklosporin grubu (n=9)	3,25 ^{ab}	3,94	2,45	1,10	8,63	
	Asitretin grubu (n=10)	1,38 ^{ab}	3,50	4,13	,28	11,20	
	Metotreksat grubu (n=6)	,31 ^b	0,46	,26	,21	,81	
Johnsen Skoru	Kontrol grubu (n=10)	9,80 ^a	9,82	,08	9,70	9,90	,001
	Siklosporin grubu (n=9)	9,60 ^c	9,66	,07	9,60	9,80	
	Asitretin grubu (n=10)	9,70 ^b	9,70	,07	9,60	9,80	
	Metotreksat grubu (n=6)	9,60 ^c	9,46	,24	9,20	9,70	

Farklı harfi alan gruplar arası fark anlamlıdır.

Gruplar arasında vakuolizasyon açısından değerlendirildiğinde kontrol grubunun %100'ünde vakuolizasyon yokken, siklosporin grubunun %69.2'sinde, asitretin grubunun %23.1'inde ve metotreksat grubunun %2.9'unda fokal vakuolizasyon istatistiksel olarak tespit edildi.

Tablo 13. Vakuolizasyon'un gruplara göre dağılımının istatistiksel olarak karşılaştırılması

Grup		Vakuolizasyon		Genel
		Yok	Fokal	
Kontrol	Sayı	10	0	10
	Grup içi yüzde	100,0	,0	100,0
	Vakuolizasyon içi yüzde	47,6	,0	29,4
	Genel yüzde	29,4	,0	29,4
Siklosporin	Sayı	0	9	9
	Grup içi yüzde	,0	100,0	100,0
	Vakuolizasyon içi yüzde	,0	69,2	26,5
	Genel yüzde	,0	26,5	26,5
Asitretin	Sayı	7	3	10
	Grup içi yüzde	70,0	30,0	100,0
	Vakuolizasyon içi yüzde	33,3	23,1	29,4
	Genel yüzde	20,6	8,8	29,4
Metotreksat	Sayı	4	1	5
	Grup içi yüzde	80,0	20,0	100,0
	Vakuolizasyon içi yüzde	19,0	7,7	14,7
	Genel yüzde	11,8	2,9	14,7
Genel	Sayı	21	13	34
	Grup içi yüzde	61,8	38,2	100,0
	Vakuolizasyon içi yüzde	100,0	100,0	100,0
	Genel yüzde	61,8	38,2	100,0

Kontrol grubunda LH, FSH arasında $p < 0.01$ değerine göre pozitif bir korelasyon mevcut olup %93.6 olarak tespit edilirken diğer parametreler arasında bu ilişki istatistiksel olarak tespit edilmemiştir.

Tablo 14. Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin kontrol grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.

	FSH mikroU/mL	LH mikroU/mL	Testosteron ng/mL	Johnsen Skoru
FSH (mikroU/mL)	1,000			
LH (mikroU/mL)	,936**	1,000		
Testosteron(ng/mL)	,079	-,030	1,000	
Johnsen Skoru	,350	,221	-,039	1,000

** : $p < 0.01$

Özellikler arası Spearman korelasyon katsayıları

SsA grubunda $p < 0.01$ değerine göre LH, FSH arasında istatistiksel olarak pozitif bir korelasyon mevcut olup (%88.3) LH değerindeki bir birim değişime karşılık FSH'da bir birim değişim gözlenmiştir.

Tablo 15. Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin siklosporin grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.

	FSH (mikroU/mL)	LH (mikroU/mL)	Testosteron (Ng/mL)	Johnsen skoru
FSH (mikroU/mL)	1,000			
LH (mikroU/mL)	,883**	1,000		
Testosteron(ng/mL)	,300	,283	1,000	
Johnsen skoru	,000	-,149	-,075	1,000

** : $p < 0.01$

Özellikler arası Spearman korelasyon katsayıları

Asitretin grubunda $p < 0.01$ değerine göre LH, FSH arasında istatistiksel olarak pozitif bir korelasyon mevcut olup LH değerindeki bir birim değişime karşılık FSH'daki değişim %100'dür.

Tablo 16. Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin asitretin grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.

	FSH(mikroU/mL)	LH(mikroU/mL)	Testosteron(Ng/mL)	Johnsen skoru
FSH(mikroU/mL)	1,000			
LH(mikroU/mL)	1,000**	1,000		
Testosteron(ng/mL)	,539	,539	1,000	
Johnsen skoru	,000	,000	-,220	1,000

** Korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlı (2-tailed).

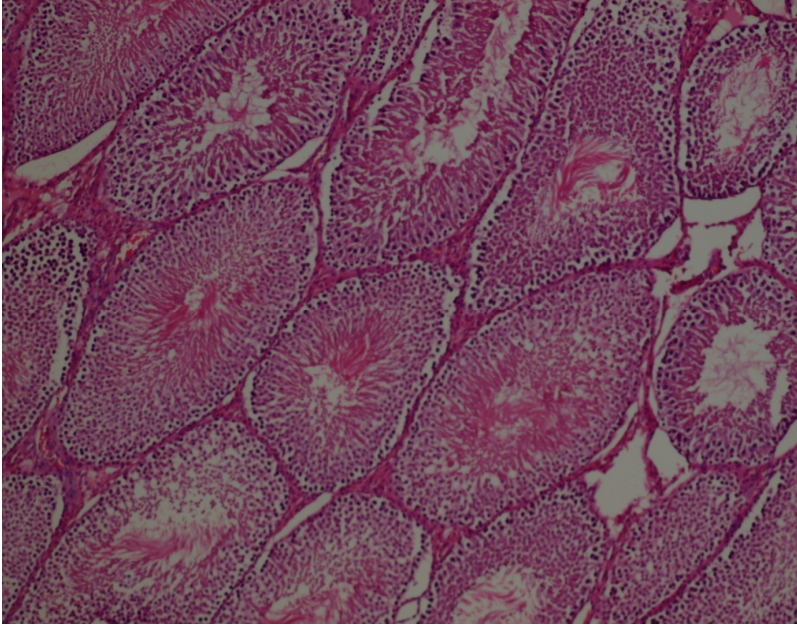
Özellikler arası Spearman korelasyon katsayıları

Mtx grubunda LH ile FSH arasında $p < 0.01$ değerine göre istatistiksel olarak %100 pozitif bir korelasyon mevcut iken Johnsen skoru ile FSH ve LH arasında negatif bir korelasyon mevcut olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ve bu fark %94.9 idi.

Tablo 17. Biyokimyasal parametreler ve histopatolojik incelemenin Metotreksat grubunda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.

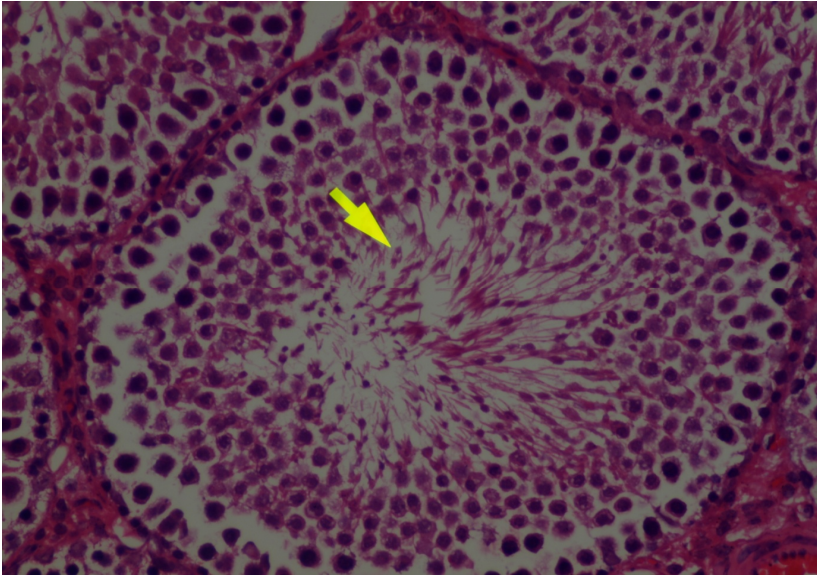
	FSH (mikroU/mL)	LH (mikroU/mL)	Testosteron (ng/mL)	Johnsen skoru
FSH (mikroU/mL)	1,000			
LH (mikroU/mL)	1,000**	1,000		
Testosteron (ng/mL)	-,500	-,500	1,000	
Johnsen Skoru	-,949*	-,949*	,632	1,000

** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$



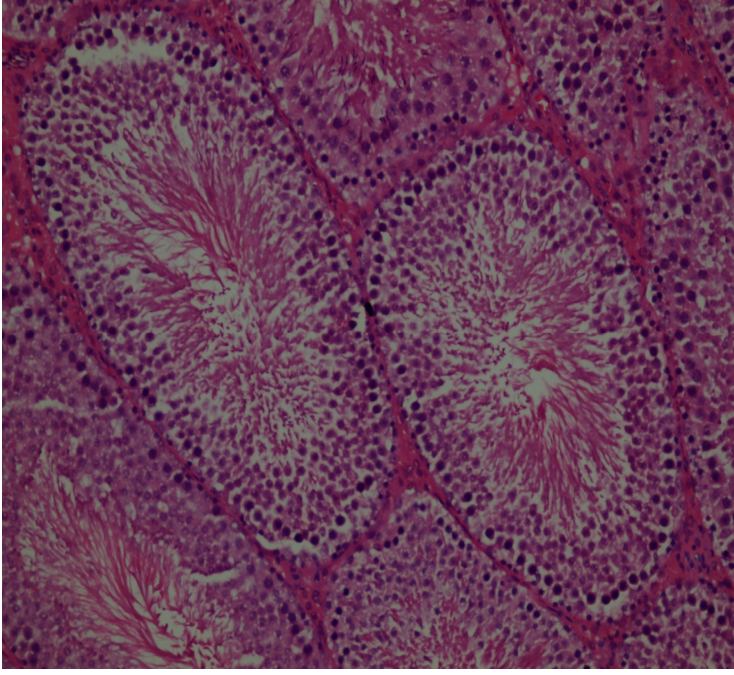
Resim 8: Kontrol grubundaki erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax10)

Spermatidle dolu seminifer tübüller



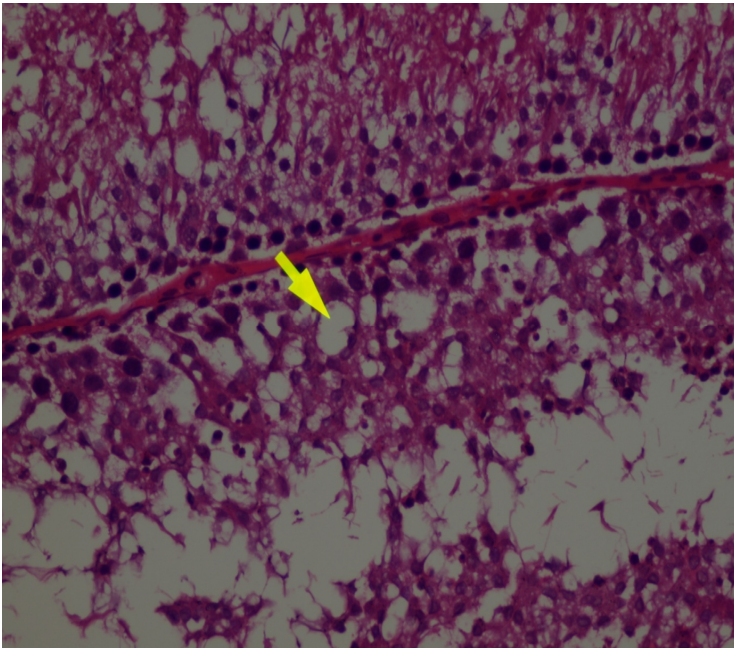
Resim 9: Kontrol grubundaki erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax40)

Sarı ok: Seminifer tübülde düzenli dizilmiş spermatidlerin baş ve kuyuklarını göstermekte.



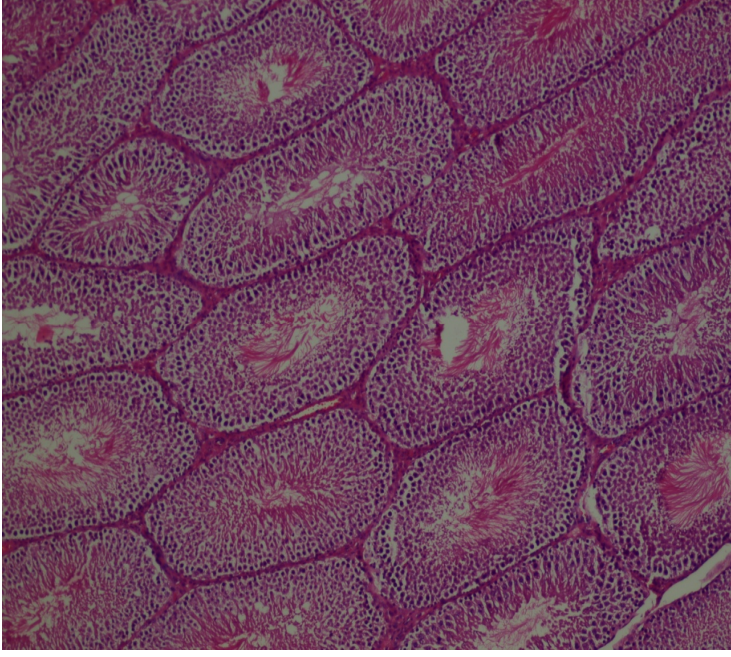
Resim 10: Siklosporin verilen erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax20)

Spermatidle dolu seminifer tübül



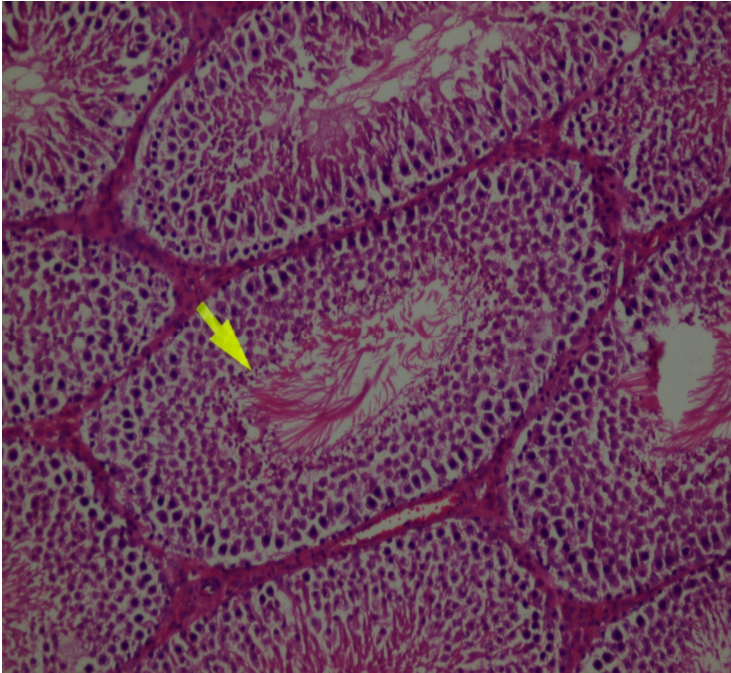
Resim 11: Siklosporin verilen erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax40)

Sarı ok: stoplazmik vakuolizasyonu göstermekte olup spermatid sayısı diğer gruplara göre azalmıştır.



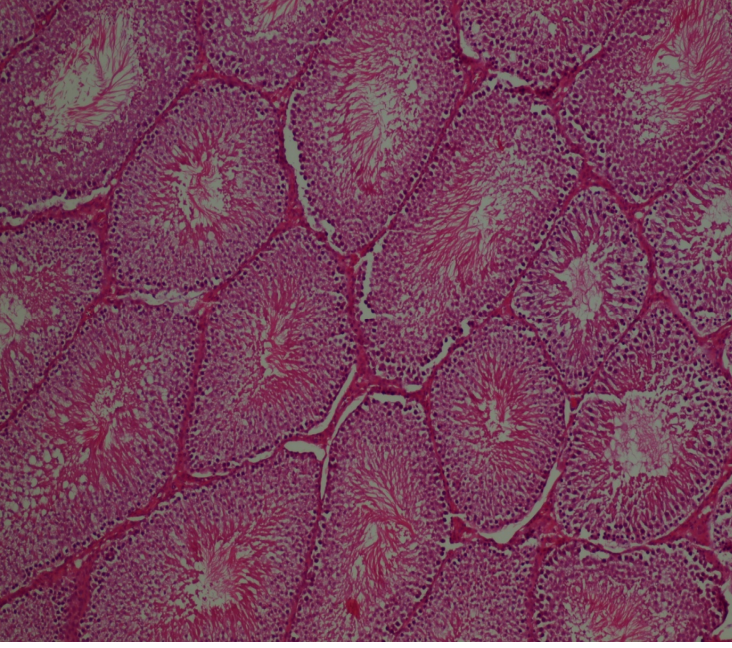
Resim 12: Asitretin verilen erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax10)

Spermatidle dolu seminifer tübül



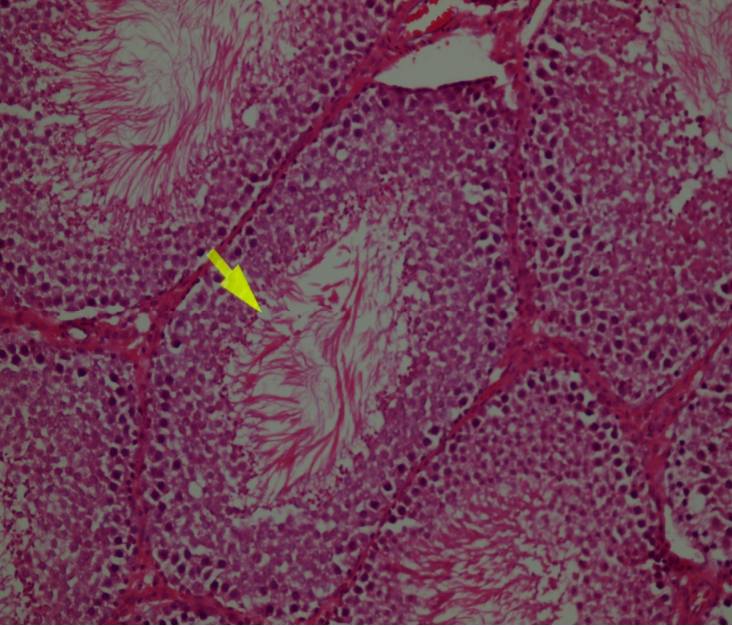
Resim 13: Asitretin verilen erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax20)

Spermatidler düzenli dizilmiş. Spermatogenezisin her aşaması düzenli görünümde



Resim 14: MTX verilen erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax10)

Spermatidle dolu seminifer tübül



Resim 15. MTX verilen erkek rattan alınan testis dokusu, (Hematoksilen eozin ile boyamax20)

Sarı ok: Spermatidlerin olduğu seminifer tübül

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

İlaç endüstrisinin hızlı gelişimi ile birlikte özellikle kronik deri hastalıklarında kullanılmak üzere her geçen gün yeni ilaçlar (ve/veya bunların klasik tedavi yöntemleri ile yeni kombinasyon tedavileri) dermatologların kullanımına sunulmaktadır. Sperm hücrelerine geçici veya kalıcı zarar verebilecek sistemik tedaviler giderek artan oranda kullanılmaktadır. Bunlar arasında sitostatik kemoterapi ilaçları, immunsupresanlar, immun modülatör ilaçlar ve biyolojik ilaçlar yer alır. Genelde bir ilacın erkek üremesine olan potansiyel etkisi, spermatogenezle ilgili genel bilgiler ve ilacın farmakolojik ve farmakodinamik etkileri temel alınarak dolaylı yoldan tahmin edilebilir (151).

Seminifer tübüllerde spermatogenik hücrelerin matürasyonu şu şekilde gelişmektedir (152):

1- En primitif spermatogenik hücre spermatogonia olup Tip A ve B olmak üzere iki tiptedir. Spermatogonia b'nin bölünmesi ve farklılaşması sonucunda, oluşan primer spermatozoid, spermatogonianın yanında ve lümeneye yakın yer alır. Bu hücrelerin nüveleri, farklı kromatin aktivitelerine bağlı olarak değişik görünümündedirler. Bu dönemde ilk ilk maturasyon safhasını ifade eden mayotik bölünmesi sonucu oluşur. Bunlar primer spermatozoidten daha küçük ve nüve kromatinleri daha az yoğundur. Sekonder spermatozoidler oluşuktan hemen sonra bölünür ve nedenle testiküler dokuda sıklıkla görülmezler. Sekonder maturasyon bölünmesi sonucunda iki spermatit oluşur. Spermatitler metamorfozla spermatozoa formuna dönerler. Kemirgenlerde, spermatogenesis tubulus boyunca dalgalı tarzdadır. Bu nedenle seminifer tubulusların enine kesitlerinde spermatogenesisin değişik safhaları izlenir. Çalışmamız sırasında bu özelliği dikkate aldık.

2- Hipospermatogenesis (spermatogenik hipoplazi): Seminifer tubuslarda spermatogenesisin beklenen düzende olmayışı ve germ hücre popülasyonunun azalma göstermesiyle karakterizedir. Nonspesik olmakla beraber hipospermatogenesis disorganizasyonla birlikte olabilir. Çalışmamızda hipospermatogenesis tespit edilmedi.

3-Disorganizasyon: Germ hücrelerinin düzensiz şekilde lümen içine dökülmesi ve dökülen immatür germ hücrelerinin lümeni doldurmasıdır. Çalışmamızda disorganizasyon tespit edilmedi.

4-Spermatositik arrest: Genellikle primer spermatosit döneminde, maturasyonun durmasıyla karakterizedir ve tubuluslarda spermatid veya spermatozoa görülmez. Çalışmamızda spermatositik arrest tespit edilmedi.

5-Dejenerasyon: Tubuluslarda boyutça küçülme, şekil bozuklukları spermatogenik hücrelerde nekroza varan değişiklikler bulunur. Dejenere olan tubuluslar yalnızca sertoli hücreleri ile döşelidir, bir kısmında spermatogonialar da gözlenir. Bu kriterleri göz önünde bulundurup hesaplanan Johnsen skoru siklosporin ve MTX grubunda birbirine benzer olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.01$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı olup kontrol grubuna göre orlaması aha düşük olarak bulundu.

Leydig hücreleri, germinal epitel hücrelerine göre toksik etkilere daha dirençlidir. Germinal epitel hasarı oligospermi hatta azospermi kadar şiddetlidir ve artan FSH seviyesi, azalan inhibin-B serum konsantrasyonu ile karakterize endokrinolojik bulgularla kendini göstermektedir (153). Sertoli hücresinden salgılanan ve spermatogenez için gerekli olan inhibin-B, aynı zamanda hipofizden FSH üretimini inhibe eder. Leydig hücresine verilen hasar düşen testosteron seviyesinden çok, artmış LH konsantrasyonu ile belirlenmektedir (151). Çalışmamızda FSH değeri kontrol grubuna göre MTX ve SsA grubunda düşük, asitretin grubunda yüksek olarak bulunurken, LH değerleri kontrol grubuna göre MTX grubunda istatistiksel olarak düşük bulundu. Testesteron değerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında asitretin ve SsA grubunda anlamlı bir fark bulunmazken MTX grubunda $p < 0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Bir ilacın spermatogenez üzerine toksik etkisi; sperm üretiminde duraklama, Leydig ve Sertoli hücrelerinde dejenerasyon, sperm hareketlerinde bozulma ya da testosteron üretiminde baskılama şeklinde olabilir. Gonadotoksik etki moleküler düzeydeki mekanizmalara bağlıdır ve her zaman iyi şekilde açıklanamayabilir ya da ön görülemeyebilir (89).

Dermatolojide sıkça kullanılan ilaçlardan biri olan SsA, lipofilik olup suda çözünmeyen ancak etanolde ve pek çok organik çözücüde, lipidlerde oldukça fazla çözünen ve siklik yapısına bağlı olarak çok dayanıklı bir bileşiktir (2,15).

SsA'nın seks hormonları üzerindeki etkileri hakkında çelişkili raporlar mevcuttur. Seethalakshmi ve arkadaşları sterilityle sonuçlanabilen testiküler fonksiyonda bozulmayı bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, erişkin olgunluktaki erkek ratlara 14 gün süre ile 10-20-30 mg/kg dozlarda subkutan orta toksik dozda SsA uygulayarak testiküler histolojide ve spermiojenesisde bozulma olduğunu, vücut ve seks organ ağırlıklarının azaldığını,

testesteronda azalma, LH'da yükselme, spermatogenetik arrest ve sterilite geliştiğini göstermiş ve bu etkilerin direkt testiküler toksik etki ile olduğunu ileri sürmüşlerdir (154). Çalışmamızda ratlara 20 mg/kg/gün oral olarak 1 ay süre ile SsA verildi. FSH değeri istatistiksel olarak düşük tespit edilirken LH ve testesteronda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmadı. Histopatolojik olarak bakılan Johnsen skoru SsA grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak düşük tespit edildi.

Rajfer ve arkadaşları da SsA ile testiküler fonksiyonda bozulmayı göstermişlerdir. Ratlara oral SsA verilmesi sonucu hipofizden LH salınımının inhibe edilerek testosteron sentezinin bozulduğunu ileri sürmüşlerdir (155). Cavallini ve arkadaşları, 30 gün süre ile 20 mg/kg/gün dozunda erişkin ratlara SsA vermişler ve SsA'nın periferik kanda hem bazal hem de HCG'(human koryonik gonadotropin)nin stimüle ettiği testosteron düzeyini azalttığını göstermişlerdir. Leydig hücrelerinde şüpheli bir atrofi geliştiğini, SsA'nın Leydig hücrelerindeki patolojik etkisinin SsA'nın, hipofizden gonadotropin salınımını inhibe edip indirekt ya da direkt etkiyle olabileceğini ileri sürmüşlerdir (156).

Sikka ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada erişkin ratlarda SsA'nın hipoadrojenizmi nasıl oluşturduğunu araştırmışlardır. SsA'yı 0-50-500 ve 5000 ng/ml konsantrasyonda olacak şekilde in vitro hazırlamışlardır. Leydig hücrelerini, 0-0.1-0.3-10.0 ng/ml konsantrasyonda HCG ile beraber bu ortama ekleyerek inkübasyona almışlar, sonuçta SsA'nın yüksek dozlarında testosteron üretimini azaltmasıyla beraber rat leydig hücrelerinde sitotoksik etkisi oluşturduğunu saptamışlar, düşük dozlarda ise direkt inhibitör etkisini göstermişlerdir. Tüm bunların sonucu olarak ratlarda in vivo SsA'nın hipoandrojenik etkisinin, direkt testiküler yoldan olmadığını ileri sürmüşlerdir (157). Sikka ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada da erişkin erkek ratlara oral yoldan 4 hafta süreyle 30 mg/kg/gün SsA uygulamışlar, 4 hafta sonra serum testosteron ve LH düzeylerinde düşme, aksesuar seks organlarının ağırlıklarında azalma görmüşlerdir. 4 hafta bekleddikten sonra, bu bulguların gerileyerek kontrol grubuyla aynı düzeylere geldiğini göstermişlerdir. Bunun sonucu olarak erişkin ratlarda SsA'nın oluşturduğu hipotalamo-hipofizo-testiküler aks inhibisyonunun tamamen reverzibl olduğunu ileri sürmüşlerdir (158). Seethalaxmi ve arkadaşları başka bir çalışmada 40 mg/kg/gün SsA'yı subkutan uygulamışlar ve belirgin testiküler toksiste oluştuğunu, bunun sonucunda testosteron düzeyinde azalma, spermiogenesisite arrest, infertiliteye gidış olduğunu göstermişlerdir. Bu etkilerin HCG verilmesiyle düzeldiğini, testosteron düzeyinde yükselme olduğunu ortaya

koymuşlardır. Bu etkilerin HCG'nin (human koryonik gonadotropin) endojen testosteron sentezinin stimülasyonu sonucu oluştuğunu ileri sürmüşlerdir (159).

Tek taraflı nefrektomili ratlarda uzun süreli terapötik dozlarda immunsupresanların erkek üreme sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada SsA verilen ratlarda seminifer tüplerde değişik derecelerde atrofi, sperm ve spermatidlerde kayıp, germ hücre tabaklarında düzensizlik veya kayıp, spermatositlerde azalma, kapillerlerde tıkanıklık, interstisyel ödem ve fibrozis gözlenmiş. Spermatositlerin ve Sertoli hücrelerinin ultrastrüktürel olarak transmisyon elektron mikroskopuna incelenmesi sonucunda değişik derecelerde boşluk oluşumu, mitokondrial şişme, endoplazmik retikulumun genişlemesi ve nükleer membran ile intramembranöz alan arasındaki mesafede genişleme SsA verilen ratlarda gözlemlenmiştir (160).

Masuda ve ark'ları spermatogenez üzerine SsA'nın sitotoksik etkisini ultrastrüktürel olarak inceledikleri çalışmada ratlara 2 hafta boyunca 40 mg/kg/gün subkutan olarak SsA verilmiş. Spermatidlerde deskuamasyon ile birlikte residüel kalıntıların olduğu gözlemlenmiş. Sertoli hücrelerinin fagositoz yeteneğinin etkilenmesi nedeni ile de bu atık maddelerin epididimal kanalda biriktiğini göstermişlerdir. Spermde kuyruk başının ayrılmasının nadir görüldüğünü ancak flagellarda çeşitli anormallikler olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmayla SsA'nın spermatogenez üzerine direk sitotoksik etki yaptığını göstermişlerdir (161).

Bu çalışmaların aksine böbrek nakli nedeni ile SsA verilen başka bir çalışmada dokuz erkek hastanın sekizinde normal semen analizi ve testis hormonal fonksiyonları gösterilmiştir. Ayrıca hastaların eşlerinde başarılı gebelik oluşumu dört erkek hastanın üçünde bildirilmiştir (162). Spermatogenez ve testisin endokrin fonksiyonu üzerine siklosporinin etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada Sprague-Dawley türü ratlara 2 grup halinde subkutan olarak SsA uygulanmış. Dört ve altı hafta boyunca (40 veya 60mg/kg) SsA verilen ratlarda seminifer tübül çapının azaldığı gözlenirken altı hafta boyunca SsA (20-60 mg/kg) uygulanan ratlarda ise spermatozoa ile tübül yüzdesinin azaldığı gözlemlenmiş. Serum LH ve testosteron düzeylerinde değişiklik olmazken serum FSH hormon düzeyi uygulanan SsA dozuna bağlı olarak artmıştır. Çalışma sonunda SsA'nın Leydig hücre fonksiyonunu bozmadan, spermatogenez ve sertoli hücre fonksiyonunu bozduğunu bildirmişlerdir (163).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada SsA verilen ratlarda sperm konsantrasyonu ve hareketliliğinin azaldığı ve ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anormal sperm oranında artış olduğu bildirilmiştir (164).

Ertürk ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 14 gün boyunca SsA 10'ar grupluk ratlara sırasıyla 10/mg/kg, 10 mg+klomifen sitrat, 30 mg/kg +klomifen sitrat şeklinde verilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 10 mg/kg verilen grupta kontrol grubuna göre, spermiogenesisde bozulma ve belirgin hipospermatogenesis geliştiğini, tubuli seminiferlerde belirgin dejenerasyon, serum T ve LH düzeyinde azalmanın geliştiğini, klomifen sitratla bu etkilerin düzeldiğini, daha yüksek dozda (30 mg/kg) SsA verilen grupta spermiogenesisin daha fazla bozulduğunu ve spermatositik arrest geliştiğini, T ve LH düzeyinde daha belirgin azalma olduğunu ve klomifen sitrat eklenmesine rağmen etkilerin geriye dönüşümünün daha az olduğunu tespit etmişlerdir (152).

Çalışmamızda sonuç olarak SsA verilen grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında FSH değeri $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı olup düşük olarak değerlendirildi. LH ve testesteronda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmadı. Histopatolojik olarak bakılan Johnsen skoru siklosporin grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.01$ değerine göre anlamlı olarak farklı bulundu ve kontrol grubuna göre belirgin bir düşüklük tespit edilmedi. Hücrede vakuolizasyonla tanımlanan apoptozisle hücre ölümü grubun %69.2'sinde fokal olarak tespit edildi.

Işık mikroskopisinde tubuli seminiferi duvarlarında, bazal membranlarında, kalınlaşma germ hücrelerinde maturasyon ve sıralanma bozukluğu, lümende spermatozoonda oluşan anormallikler (149) gibi spermatogeneziste bozulmayı gösteren patolojiler ise tespit edilmedi. Çalışmamızda SsA grubu laboratuvar bulguları diğer çalışmaları desteklerken histopatolojik inceleme diğer çalışmalarla belirgin paralellik göstermedi. Siklosporinin optimum dozda gruplar arasında Johnsen skorunda istatistiksel olarak farklılık oluşturması söz konusuydu. Ancak SsA verilen erkek ratlardaki tespit ettiğimiz Johnsen skoru değerinin 9.6 olması ve normal testiste de bu oranın 9.39 olması beklenmesinden dolayı SsA'nın spermatogenezis üzerine direk sitotoksik etki yapmadığını, ancak hormonal parametreleri düşürmesinden dolayı spermatogeneziste oluşturabileceği patolojinin sekonder hipotalamik yolla olabileceğini düşündük.

Sistemik retinoid tedavisi akut ve kronik toksisiteye neden olabilir. Mukokutanöz, nörolojik, mukoskeletal, hematolojik ve teratojenik etkileri yanında spermatogenezis üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır (165).

Sentetik retinoidlerin spermatogenezis üzerine etkileri açısından çalışmalar arasında çelişkili sonuçlar bulundu (166). Hayvanlar üzerinde retinoidler ve spermatogenezisi konu alan bazı deneysel araştırmalar, spermatogeneziste geri dönüşümlü bozulma olduğunu ileri sürerken (166, 167) bazıları da hiçbir değişiklik olmadığını ortaya çıkarmıştır (168). Bir hayvan çalışmasında A vitamininin hem düşük hem de yüksek dozlarda spermatogenezis üzerinde süpresif etki gösterdiği bulunmuştur (166). Biyolojik ve kimyasal yünden A vitaminine benzeyen retinoidlerin spermatogenezisi de etkilediği iddia edilmiştir (166, 167).

Thomas ve ark.'nın 6 hafta süre ile 41 guinea domuzuna 25 mg/kg/gün dozunda etretinatın oral olarak verildiği çalışmalarının sonucunda hayvanların 23'ünde seminifer tübülün çapında azalma, deskuamasyon ve disorganizasyonla beraber spermatogenetik aktivitede azalma ve matür elementlerin yokluğunu tespit etmişlerdir. Kalan 18 hayvan retinoid tedavisinin tamamlanmasından sonra 6 hafta daha takip edilmiş ve kontrol grubu 13 hayvanla karşılaştırılma yapıldığında herhangi bir değişiklik tespit edememişlerdir. Çalışmada yüksek dozda etretinatın spermatogenezis üzerinde oluşturduğu değişikliklerin ilacın kesilmesinden sonra reversibl olduğunu göstermişlerdir (167).

Çalışmamızda asitretin verilen grupta seminifer tübül çapında ve spermatogenetik aktivitede değişiklik, deskuamasyon ile matür elementlerde değişiklik saptanmayıp ortalama Johnsen skoru 9.7 olarak tespit edildi.

Birkaç klinik çalışmada ise retinoidlerin semen parametreleri üzerine olumsuz etkilerinin olmadığı gösterilmiştir. Lauharant ve ark. asitretin ve spermatogenezis ilişkisini değerlendiren ilk çalışmayı yapmışlardır (169). Bu çalışmada in vitro olarak etretinat, asitretin, isotretinoin ve retinoik asit gibi sentetik retinoidlerin insan ejakulatında sperm motilitesinde oluşan fruktolizisin doz bağımlı olduğunu, belirgin bir inhibisyonu sadece çok yüksek konsantrasyonda bildirmişlerdir (169).

Yapılan başka bir çalışmada 30 rata 40 mg/kg/gün izotretinoinin toksik dozu verilerek kontrol grubu 20 rat ile spermatogenezis üzerine izotretinin etkileri karşılaştırılmıştır. Çalışmada 8 hafta boyunca izotretinoin verilen 15 hayvanda spermatogeneziste herhangi bir değişiklik gözlenmezken, 15 hayvana ek olarak 8 hafta

daha asitretin verilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırma sonucunda spermatogenezis üzerinde değişiklik yapmadığı saptanmıştır (168).

Sadek ve ark ayrıca adult erkek gerbillerde izotretinoinin spermatogenezis üzerine etkilerini ışık ve elektron mikroskopisi altında incelemişlerdir 6 haftalık uygulama sonrası spermatogeneziste tam durma ve Leydig hücrelerinin stoplazmasında değişiklikler bulunduğunu, tüm değişikliklerin tedavinin kesilmesinden 12 hafta sonra kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düzeldiğini bildirdiler. Yazarlar uzun vadede vitamin A asitlerinin gerbillerde spermatogenetik prosesi etkilediği sonucuna vardılar (166). Sentetik retinoidlerin spermatogenezis üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada, ejakulat volümünde artış saptanırken, sperm morfolojisi ve motilitesinde bir değişiklik saptanmamıştır (170). Daha sonra yapılan çalışmalarda bu çalışmayı destekler veriler sunmuştur (170,171).

All-trans-retinoik asitin günlük olarak 2 hafta boyunca erkek kertenkelelere verildiği bir çalışmada retinoik asitin seminifer epitelyumda ciddi azalmaya neden olduğu ve retinoik asitin spermatogenezis üzerine önemli bir etkisinin olduğu gösterildi (172).

Schill ve ark. hem etretinatın hem de isotretinoin toröpatik dozlarda insanlarda spermatogenezisi inhibe etmediğini göstermenin yanı sıra (171) sentetik retinoidlerin semen parametreleri üzerine bazı yararlı etkileri olabileceğini bildirdiler. Onların sonuçlarına göre, sperm sayısı, sperm hareketliliği ve morfolojisindeki önemli artış sırasıyla etretinat ve izotretinoin tedavisi sonunda tespit edildi. Benzer başka bir klinik çalışmada 12 haftalık etretinat tedavisinden sonra toplam sperm sayısında bir artış ortaya konmuştur (170).

A vitamini ve onun aktif biyolojik türevi olan retinoik asitin germ hücre farklılaşması üzerinde etkisinin olduğu açık bir şekilde bilinmektedir (173,174).

Bir çalışmada rodent seminifer epitelyumunda dağılımı gösteren testisin önemli predominant gap junction proteininden biri olan konnexin 43 incelenmiştir. Retinoid X reseptör beta eksikliği bulunan farelerde konnexin 43 ekspresyonunda belirgin azalma ve anormal spermatogenez tespit eden yazarlar retinoidlerin sertoli hücreleri ve gap junctionlardaki iletişimler ile ilişkili olabileceği sonucuna varmışlardır (175).

Ayrıca RAR (retinoik asit reseptörü) alfa'nın genetik olarak ablasyonunun erkek sterilitesine neden olduğu ileri sürmüştür (174). Kastner ve arkadaşları retinoid X reseptör

beta genleri mutant olan farelerde sterilite meydana geldiği ve spermatid oluşum sürecinde anormal spermatozoa ve hata oluştuğunu göstermişlerdir (176).

Tüm bu çalışmalar farklı moleküler mekanizmalarla A vitamininin normal testis fonksiyonlarının düzenlenmesi için gerekli olduğunu açıkça göstermektedir. Ayrıca, A hipervitaminozunun testiste lezyonlara ve spermatogenetik bozukluklara; A hipovitaminozunun ise spermatogenezde erken duraksamaya ve testesteron inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir (175).

Sengör ve ark. tarafından 14 rata 0.75 mg/kg/gün ve 16 rata, 1.5 mg/kg/gün dozlarında 8 ve 16 hafta boyunca asitretin verilerek, 9 rat da kontrol grubu olacak şekilde toplamda 250-300 gr ağırlığında 39 adet erişkin ratla bir çalışma yapılmıştır. Çalışma sonunda Johnsen skoru açısından yapılan değerlendirme neticesinde asitretinin terapötik dozlarda uygulandığında ratlarda spermatogenez üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir (169).

İlaçla indüklenen spermatogenezde ve hipotalamus-hipofiz-gonadal aksa bozulmayı incelemek için 3 ay boyunca oral asitretinin verildiği bir çalışmada tedavi öncesi ve sonrası semen ve kan değerleri analiz edildikten sonra asitretinin terapötik dozda spermatogenez, sperm morfolojisi, sperm motilitesini ve hipotalamus-hipofiz-gonadal aksını etkilemediği gösterilmiştir (177).

Genotoksik tahlillerini içeren prelinik veri incelemeleri ve erkek rat üreme toksikoloji çalışmaları göstermiştir ki asitretin (Neotigason)/Soriatane) kullanan erkeklerle evlenen kadınlarda üreme etkilememektedir. Teratojenik riski veya fertilitedeki azalmayı göstermek için insanlarda prospektif çalışmalar yapmak etik değildir. Ancak asitretin içeren bir ejakülatta herhangi bir fetal malformasyon olma olasılığı son derece düşüktür (178).

Çalışmamızda 5 mg/kg/gün optimum dozda asitretin verdiğimiz ratlarda bakılan FSH, LH ve T parametrelerinden FSH, $p < 0.05$ değerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Apoptozisle hücre ölümü olarak tanımlanan vakuolizasyon (149) grubun %23.1'inde fokal olarak tespit edildi. Asitretin grubundaki bulgularımız yapılan klinik çalışmaların çoğu ile benzer olup optimum dozda asitretin verildiğinde spermatogenezisi etkilemediği sonucuna vardık. Yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar olmasına rağmen optimum dozda asitretinin spermatogenezis üzerine direkt toksik etki yapmadığı ve değişen

hormonal parametrelerin de spermatogenezis üzerinde değişiklik yapacak kadar patolojik olmadığını düşündük.

Metotreksat (methotrexate:Amethopterin) folik asit antagonisti olan zayıf bi-karboksilik organik asit yapısındadır. MTX folik asit sentezinde rol alan ve ara basamakta yer alan dihidrofolatı (DHF) tetrahidrofolata (THF) çeviren dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini kompetitif olarak inhibe etmektedir. MTX, THF eksikliğine yol açarak pürin, pirimidin metabolizması ve DNA sentezini içeren pek çok metabolik yolu etkilemektedir. Bu metabolik yollar üzerinde yaptığı değişiklikler ile MTX'ın hem tedavi edici etkileri hem de toksik etkileri ortaya çıkmaktadır (48,49). Timidilat, serin, metionin sentezini inhibe ederek DNA, RNA ve protein sentezini bozar ve hücre ölümüne yol açar. Spermatozoa üretim süreci boyunca bölünen hücreleri hasara uğratar veya öldürür.

Metotreksat mutajenik değildir. Bölünen hücreler üzerine ise toksik etkisi vardır (spermatogenezis gibi). Metotreksatın erkek fertilitesi üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir (86).

Bugüne kadar, konsepsiyon öncesi metotreksata maruz kalan erkeklerin partnerlerinde gebelikle ilgili olumsuz bir yayın bildirilmemiştir. Metotreksatın erkek fertilitesi üzerine etkileri üzerine literatürlerde farklı düşünenler bulunmaktadır (179). Etkileri genellikle ilacın kesilmesiyle geri dönüşümlüdür. Metotreksatın erkek fertilitesi ve spermatogenezis üzerinde bir anlaşmazlık vardır (86). Metotreksatın hormon düzeylerini değiştirmeden ciddi derecede reversible olarak oligospermi yaptığına dair bulgular vardır (87). Bununla beraber metotreksat kullanan babaların çocuklarında anomali sayısında artış saptanmamıştır (88).

Oligospermi fertilizasyonu inhibe edecek düzeyde olabilir ya da spermin fertilizasyon yapmasını engelleyecek kadar fonksiyonel kaybı olabilir (89). Spermatogenezin ve sperm sayısının değişmediğine dair yayınlar da vardır (90). 1970'te yayımlanan hem tedavi öncesi ve hem de uzun süreli tedavi sırasında semenin analiz edildiği bir vaka serisi çalışmasında metotreksat ile tedavi edilen 11 erkek hastanın sperm konsantrasyonunda, motilitesinde veya morfolojisinde değişiklik olmadığı bildirilmiştir (180). Grunnet ve ark. 1 ila 9 yıl boyunca şiddetli psöriazisi olan 10 erkek hastaya metotreksat ve aynı endikasyonla 10 erkek hastaya sadece topikal kortikosteroid uyguladıktan sonra birbiri ile karşılaştırmıştır. Sperm parametreleri üzerine metotreksatın herhangi bir olumsuz etkisini gözlemlenmeyip aslında metotreksat ile tedavi edilen

erkeklerin kortikosteroid ile tedavi edilen erkeklerden normal semen açısından daha şanslı olduğunu bildirmişlerdir (179). De Luca ve ark ayrıca metotreksat tedavisinin spermatogenesis üzerindeki supresyon etkisinin minimal olduğunu bildirmişlerdir (181).

Osteosarkomlu erkeklerde postoperatif yüksek doz metotreksat uygulaması boyunca ve uygulamadan kısa bir süre sonrasında hastaların yarısında oligospermi, azospermi ve gonadotropin düzeylerinde artışların olduğu bildirilmiştir (182). Çalışmamızda oligospermi, azospermi tespit edilmedi.

İlaç kesilmesi ile sperm sayı ve kalitesi normal değerlerine geri dönmektedir. Tavşanlarda yapılan bir başka çalışmada ise uzun süreli (14 hafta) düşük doz (6mg/kg) MTX uygulamasından sonra spermatogonyum sayısında bir azalma tübüler bazal membranlarda bir kaç tübülde kalınlaşmalar, pek çok spermatogonyumda hücre büyüklüğünde artma ve sitoplazmada şişme gözlenmiştir (183).

Son dönemlerde yapılan bir çalışmada ise günlük tek doz verilen MTX grubundaki ratlarda negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MTX hareketli seminifer tübül ve primer spermatosit çapının yüzdesini önemli oranda azaltırken testosteron, spermatit ve leydig hücre çapında önemli bir fark gözlenmemiştir (184).

Van Scott ve Reinertson 12 ila 14 gün süre ile mtx'in tek bir intravenöz enjeksiyonu sonrasında sperm sayısında azalmanın gözlendiğini ancak bu etkinin geçici olup olmadığını belirlemek için hastaların yeterince takip edilmediğini bildirmiştir (185). Işık ve ark bir çalışmada da kümülatif düşük dozlarda (0.7 mg/kg, haftada bir, 6 hafta süreyle) kullanılan MTX'in, rat testis germinal epiteli üzerindeki morfolojik etkilerini incelemişlerdir. Özellikle spermatosit ve spermatidlerde öldürücü hasar olduğunu ve germinal epitelin kök hücrelerini oluşturan spermatogonyumların ise en az etkilenen hücre grubunu oluşturduğunu ve sonuçta, MTX'in testis dokusu üzerindeki etkilerinin geri dönüşümlü olduğu sonucuna vardılar (149). Shamberger ve arkadaşları da spermatozoa üzerine etkilerinin geri dönüşümünün yaş ile ilişkisini incelemişler ve 40 yaşından küçük erkeklerin daha avantajlı olduğunu gözlemlemişlerdir (182). Bacci ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada osteosarkom için kombine kemoterapinin uzun vadeli etkileri araştırıldı (186). Bütün kemoterapi rejimleri metotreksat ve diğer kemoterapötik ajanları içermekteydi. Azospermi spermatografi uygulanan 12 erkeğin 10'unda gösterilirken erkeklerin 9'una kemoterapi rejimlerinin bir parçası olarak ifosfamide ve etoposide MTX ile birlikte verildi. İfosfamid bir alkile edici madde olup alkilleyici

ajanların da birkaç dozda kalıcı azospermiye neden olabileceği öne sürülmüştür. Siimes ve arkadaşları osteosarkom için yüksek doz metotreksatın kemoterapi amacıyla verildiği 18 erkeklik bir olgu serisi yayınladı (187). Erkeklerden 7'si sisplatin alırken 11'i sisplatin almadı. Sisplatinin etki mekanizmasının DNA alkilizasyonunun olduğuna inanılmaktadır. Yazarlar, düşük sperm sayısı ve testis hacminin sisplatin almış grupta, almamış gruba göre daha fazla düştüğünü bildirmişlerdir. Çocukluk çağı lenfoması nedeni ile 20 çocuğa metotreksatın diğer kemoterapötik ajanlarla beraber verildiği bir çalışmada üç çocukta normospermi, oligospermi (100 000-2000000 sp / ml), ikisinde şiddetli oligospermi (1 - 100 000 sp/mL) ve bir tanesinde azospermi gözlemlendi (188).

Metotreksat'ın toksik dozda kullanıldığı bir çalışmada yüksek (100-300 mg./kg.) tek doz I.V. olarak verilen MTX'a bağlı oluşan testiküler hasarın kısa dönemde (5 gün) önemli olduğu ortaya konmuş spermatozoon sayısı azalmış olarak bulunmuştur ancak rat testis germ epitelinin spermatojenik siklus süresi beklendikten sonra yapılan tubuli seminiferi kontorti incelemelerinde iyileşme tesbit edilmiştir. Bu durum MTX'ın toksik etkisinin dihidrofolat redüktaz inhibitörü olmasından kaynaklandığı ve genotoksik mekanizmalarla toksisitesini göstermediği şeklinde yorumlanmıştır (189). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada 20 mikrog/kg dozda bir grup rata iki gün diğer gruba 4 gün süre ile MTX verilmiş ve sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada MTX bağımlı germ hücre dejenerasyonunun iki gün sonra spermatogenezde ilk düşüklüğe neden olduğu gözlemlendi. Johnsen skorunda önemli düşüş, germinal epitel hücre tabakalarının ortalama sayısında azalmaya doğru bir eğilim olması yanında programlanmış hücre ölümün göstergesi olarak MTX uygulandıktan sonra germ hücre apoptoz ölçümü 48 saat içinde üç kat artış gözlenmiştir ve apoptotik hücre sayısının ve apoptotik hücre içeren tübül sayısının her ikisi de MTX uygulamadan 48 saat sonra pik değerine ulaşmıştır. MTX ile tedavide germ hücre apoptoz oranında kademeli bir düşüş 96 saat takipte gözlenmiştir. 4. günde hücre apoptoz oranlarının bir kademeli azalma olmasına rağmen, MTX ile tedavi edilen ratlar, hem kontrol grubu hem de iki gün MTX verilen gruptaki ratlara kıyasla germ hücre katmanlarının sayısı ve ortalama testis skorunda çok daha önemli bir düşüş gösterilmiştir (190).

Metotreksatın apoptozis üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda apoptozisin son dönemlerde MTX uygulamasından sonra germ hücre turnoverini regüle ettiği gösterilmiştir. Alam ve arkadaşları metotreksat ve tamoksifenin germ hücrelerinde sperm

sayısı, hareketliliği ve morfolojisini değiştirdiğini, ayrıca kromozom anomalilerinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir (191).

İki farklı dozda (25 ig ve 50 ig) intraperitoneal olarak MTX verilen bir çalışmada doza bağımlı olarak, seminifer tübül çapında azalma ve deney grubunda leydig hücre morfolojisinde bozulma olarak anlamlı değerlendirilmiştir. Bu nedenle, erkek gonadlardaki bu nitelik ve nicelik değişikliklerinin hayvanların üreme performansını değiştirebildiği söylenebilir (192).

Seminifer tübüllerin germinal ve non-germinal elementlerinin hücre proliferasyonunu değerlendirmek amacıyla ratlara 1-17 gün 12.5 mikrogram MTX verilen çalışmada Interstisyel alanındaki artış ve seminifer tübül çapında anlamlı bir azalma olması yanında sertoli ve leydig hücrelerinin boyutunda önemli ölçüde azalma tespit edilmiş olup bunu MTX'in spermatogenezis sürecinde oluşan doz bağımlı testiküler hasarına bağlanmıştır (193).

Vardi ve ark. yakın zamanda yapılan bir çalışmada ratlarda metotreksata bağlı testiküler hasarın germ hücre apoptozisi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (194).

Öte yandan French ve ark.'nın yazmış olduğu derlemede de metotreksatın bazı araştırmacılar tarafından erkek fertilitesi üzerinde etkisiz kaldığı, bazıları tarafından da geçici steriliteye neden olduğu gibi zıt bilgiler sunulmaktadır (88).

Çalışmamızda spermatozoid ve spermatogonyumların hiç birinin histopatolojik olarak etkilenmediği görüldü, ancak istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; FSH, LH ve T değeri ile Johnsen skoru MTX grubunda düşük bulundu. Bu da MTX'in spermatogenezisi hem sekonder hipotalamik yolla hem de spermatidlerin morfoloji ve hareketlerini bozarak etkileyebileceğini düşündürdü. Spermatogenezin 74 günlük bir periyotta tamamlandığı düşünülürse, metotreksata bağlı olası etkilerin tam olarak geçmesi için 3 ay kontrasepsiyon uygulamak gerekmektedir. Son bilgilerin ışığında, metotreksat tedavisi alan erkeklerin bu dönemde çocuk sahibi olmaları çok uygun olmamakla beraber, olası gebelik durumunda da çocukta anomali riskinde artış beklenmemektedir.

Çalışmamız sonucunda FSH değeri kontrol grubu ile SsA, MTX ve asitretin grupları arasında $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunurken MTX ve SsA grubunda düşük, asitretin grubunda yüksek olarak bulundu. LH değerleri kontrol grubu ile SsA, asitretin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmazken, MTX grubunda $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Testesteron değerinin

gruplar arasında karşılaştırılmasında asitretin ve SsA grubunda anlamlı bir fark bulunmazken MTX grubunda $p<0.05$ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Johnsen skoru SsA ve MTX grubunda değerleri birbirine benzer olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.01$ değerine göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

Sonuç olarak her üç ilaçla yapılan çalışmada ilaçların optimum tedavi dozunda verildiğinde çoğu spermatogonyumun sağlam görünmesi nedeniyle bunların mitozla çoğalıp ilaçların etkisini geri döndürebileceği sonucuna varıldı. SsA, asitretin ve MTX'in spermatogenezis üzerine çelişkili literatürleri netleştirmek için elektron mikroskobu veya spermatogram parametreleri ile daha çok denek ile ve daha uzun süreli çalışmaların yapılması gerekmektedir.

ÖZET

Taş Demircan Y, Ratlarda optimum dozdaki asitretin, siklosporin ve metotreksatın spermatogenez üzerine olan etkilerinin endokrinolojik ve histolojik olarak değerlendirilmesi

Giriş: Sperm hücrelerine geçici veya kalıcı zarar verebilecek sistemik tedaviler giderek artan oranda kullanılmaktadır. Asitretin, siklosporin (SsA) ve metotreksat (MTX) tedavileri dermatolojide en sık kullanılan ilaçlardan olup bu ilaçların spermatogenez üzerine etkileri hakkında çelişkili bulgular sunan çalışmalar mevcuttur.

Amaç: Bu çalışmada her üç ilacın spermatogenez üzerine etkilerinin histopatolojik ve endokrinolojik incelemesi ile yeni ve güncel veriler ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlıkları 150-300 gram arasında değişen standart laboratuvar yemi ile beslenen 40 adet Wistar albino türü erkek rat kullanıldı. Her grupta 10 adet rat olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. 1. gruba (n=10 erkek): 5 mg/kg/gün asitretin, 2. gruba (n=10 erkek): 20 mg/kg/gün siklosporin, 3. gruba (n=10 erkek): 20 mg/hafta metotreksat verildi. 4. Gruba (n=10 erkek): sadece standart yem ve su verildi. 4.hafta sonunda tüm gruplar kurban edildi. Daha sonra testisleri eksize edildi. Testisler histopatolojik kriterler kullanılarak değerlendirildi. Serumda FSH, LH ve Testesteron bakıldı.

Bulgular: FSH değeri kontrol grubu ile SsA, MTX ve asitretin grupları arasında $p<0.05$ değerine göre anlamlı olarak farklı bulunurken MTX ve SsA grubunda düşük, asitretin grubunda yüksek olarak bulundu. LH değerleri kontrol grubu ile SsA, asitretin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmazken, MTX grubunda $p<0.05$ değerine göre anlamlı olarak düşük bulundu. Testesteron değerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında asitretin ve SsA grubunda anlamlı bir fark bulunmazken MTX grubunda $p<0.05$ değerine göre anlamlı olarak düşük bulundu. Histopatolojik olarak bakılan Johnsen skoru siklosporin grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.01$ değerine göre anlamlı olarak farklı bulunmasına rağmen kontrol grubuna göre belirgin bir düşüklük tespit edilmedi. Hücrede vakuolizasyonla tanımlanan apoptozisle hücre ölümü grubun %69.2'sinde fokal olarak tespit edildi. Johnsen skoru SsA ve MTX grubunda birbirine

benzer olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.01$ değerine göre anlamlı olarak farklı bulundu.

Sonuç: Çalışmamızda her üç ilaçla asitretin, siklosporin ve asitretinle spermatosit ve spermatogoniumların hiçbirinin histopatolojik olarak etkilenmediği görüldü. Hormonal parametrelerdeki değişiklikler spermatogenezi etkileyecek düzeyde farklılığa yol açmadı. Her üç ilacın optimum tedavi dozlarında verildiği zaman histopatolojik olarak spermatogonyumların çoğunun sağlam görünmesi nedeniyle tedavi sonrası spermatogonyumların mitozla çoğalıp ilaçların etkisini geri döndürebileceği düşünülmektedir. SsA, asitretin ve MTX'in spermatogenezis üzerine etkisini kesinleştirmek için elektron mikroskopik daha ileri düzey çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar sözcükler: Asitretin, siklosporin, metotreksat, spermatogenezis, rat

Endocrinological and histological evaluation of the effects of optimum dose acitretin, cyclosporine and methotrexate on spermatogenesis in rats.

Abstract

Introduction: Systemic therapies that can be temporarily or permanently harmful for sperm cells are increasingly being used. Acitretin, cyclosporine (SsA) and methotrexate (MTX) are the most commonly used drugs for therapy in dermatology. There are some studies that are providing contradictory findings about the affects of these drugs on spermatogenesis.

Aim: In this study, detecting of new updated data with investigation of histopathological effects of all three drugs on spermatogenesis was aimed.

Materials and Methods: In this study 40 male Wistar albino rats were used and their weight were ranging from 150 to 300 grams and fed with standard laboratory chow. The all rats were divided into 4 groups and each group was included 10 rats. Group 1 (n = 10) was take 5 mg / kg / day acitretin, group 2 (n = 10) was take 20 mg / kg / day cyclosporin and group 3 (n = 10) was take 20 mg / week methotrexate. Only standard chow and water were given to group 4 (n=10). All rats were sacrificed at the end of 4. week. Then testes were excised. Testes were evaluated according to histopathological criteria. Serums levels of FSH, LH, T were analysed.

Results: FSH levels were significantly different in between control group, MTX, SsA and acitretin groups statistically ($p < 0,05$). FSH levels were higher in acitretin group, while MTX and SsA were lower than control group. LH levels in SsA and acitretin groups were not different according to control group, but MTX group levels were significantly lower than control group ($p < 0,05$). The value of testosterone in the acitretin and SsA groups had no significant difference according to control group, on the other hand MTX group levels were significantly lower ($p < 0,05$). Johnsen score which is evaluated histopathological, was significantly different between cyclosporine group and control group ($p < 0,01$) but not significantly lower than control group. Cell death by apoptosis which was characterized with vacuolization was found focally in 69.2% of cyclosporine group. Johnsen score values of SsA group was similar to the MTX group and both of them were significantly different when compared with the control group ($p < 0,01$).

Conclusion: Our study showed that spermatocytes and spermatogonia were not affected histopathologically with all three drugs acitretin, cyclosporine and MTX. Changes

in hormonal parameters were not affect spermatogenesis. Due to appearing of vast majority spermatogonia as healthy, It was considered that spermatogonia can return the effects of drugs by mitotic proliferation after treatment if all three drugs administered in optimum therapeutic doses. To as certain the effects of MTX, Ssa and acitretin on spermatogenesis electronmicroscopic further studies are needed.

KAYNAKLAR

- 1- Kuenzli S, Saurat J-H. Retinoids. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Dermatology. 2nd. ed. Edinburgh, Mosby. 2008. p.1935-1948.
- 2- Yamauchi PS, Rizk D, Kormeilli T, Patnaik R, Lowe NJ. Current systemic therapies for psoriasis: Where are we now? J Am Acad Dermatol 2003;49: 566-567.
- 3- Madan V, Griffiths CE. Systemic cyclosporine and tacrolimus in dermatology. Dermatologic Theraphy 2007; 20(4): 239-250.
- 4- Nisar M, Gawkrödger D, Bax D. Cyclosporin A in the treatment of rheumatoid associated pyoderma gangrenosum. Br J Rheumatol. 1995; 34(2):182.
- 5- Seethalakshmi L, Flores C, Carboni AA, Bala R, Diamond DA, Menon M. Cyclosporine: its effects on testicular function and fertility in the prepubertalrat. J Androl. 1990;11(1):17-2.
- 6- Panetta JC, Sparreboom A, Pui CH, Relling MV, Evans WE. Modeling mechanisms of in vivo variability in methotrexate accumulation and folate pathway inhibition in acute lymphoblastic leukemia cells. PLoS Comput Biol. 2010;6(12).
- 7- High WA, Fitzpatrick JE. Cytotoxic and Antimetabolic Agents. In: Klaus W, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, (eds). Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine Vol 1. 7th edition. New York. The Mc Graw Hill Companies. 2008:2163-2181.
- 8- Dutz JP, Ho VC. Immunosuppressive agents in dermatology. An update. Dermatol Clin. 1998;16(2):235-51.
- 9-Ozan H. Ozan Anatomi. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 2004: 307-310.
- 10-Snell RS. Tıp Fakültesi Öğrencileri için Klinik Anatomi, Yıldırım M (Çeviri Editörü), 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 1998: 151-152.

- 11- Ovalle WK, Nahirney PC. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörleri), Ankara: Güneş Tıp Kitapevi, 2009: 386-38.
- 12- Janqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S (Çeviri Editörleri), 7. Baskı, İstanbul: Barış Kitapevi, 1993: 498-508.
- 13- Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. Malatya: Medipress Yayıncılık Tic. Ltd. Şti., 2009: 254-258.
- 14- Janqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji, Aytekin Y, Solakoğlu S (Çeviri Editörleri), 10. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2006: 431-442.
- 15- Çamsarı T, Karakuzu M. Siklosporine Bağlı Nefrotoksisite. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences. 1988; 8(5): 368-72.
- 16- Laupacis A, Keown PA, Ulan RA, McKenzie N, Stiller CR. Cyclosporin A: a powerful immunosuppressant. Can Med Assoc J. 1982;126(9):1041-6.
- 17- Foulks GN. Topical cyclosporine for treatment of ocular surface disease. Int Ophthalmol Clin. 2006;46(4):105-22.
- 18- Clarke SJ, McStay GP, Halestrap AP. Sanglifehrin A acts as a potent inhibitor of the mitochondrial permeability transition and reperfusion injury of the heart by binding to cyclophilin-D at a different site from Cyclosporin A. J Biol Chem 2002; 277(38):34793-9.
- 19- Ayna TK, Çiftçi Hg. immunsupresif ilaçların Etki Mekanizmaları. Gaziantep Tıp Dergisi. 2009; 15(3): 42-7.
- 20-Yarış E. Siklosporin A'nın vasküler ve nonvasküler düz kaslı yapılardaki etkileri. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, sağlık bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji A.D. 1993.
- 21-Gölbaşı Z, Aydoğdu S. Siklosporin A. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri 1991; 11: 171-176.
- 22- van den Borne BE, Landewé RB, Goei The HS, Mattie H, Breedveld FC, Dijkmans BA. Relative bioavailability of a new oral form of cyclosporin A in patients with rheumatoid arthritis. Br J Clin Pharmacol. 1995;39(2):172-5.

- 23- Forslund T, Hannonon P, Reilamo S, Fyhrquist. Hypertension in cyclosporine A a treated patients is indepent of circulating endothelin levels. *J:Intern Med.* 1995;238(1):71-75.
- 24- Mohapatra N, Vanikar AV, Patel RD, Trivedi H. Modifying Cyclosporine Associated Renal Allograft Dysfunction. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation* 2009; 20(5): 770-774.
- 25- De Jonge H, Kuypers DR. Pharmacogenetics in solid organ transplantation: current status and future directions. *Transplantation Reviews* 2008; 22(1): 6-20.
- 26- Langford CA, Klippel JH, Balow JE, James SP, Sneller MC. Use of Cytotoxic Agents and Cyclosporine in the Treatment of Autoimmune Disease. *Annals of Internal Medicine* 1998; 128(12): 1021-1028.
- 27- Czaja AJ. Progress in the diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Minerva Medical* 2008; 99(6): 549-568.
- 28- Çat H, Sophani I, Lemann M, Modigliani R, Solue JC. Cyclosporin treatment of anal and perianal lesions associated with Crohn's disease. *Turkish Journal of Gastroenterology* 2003; 14(2): 121-127.
- 29- Donnenfeld E, Pflugfelder SC. Topical ophthalmic cyclosporine: pharmacology and clinical uses. *Survey of Ophthalmology.* 2009;54(3): 321-338.
- 30- Hamasaki Y, Yoshikawa N, Hattori S, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Matsuyama T, Ishikura K, Yata N, Kaneko T, Honda M. Cyclosporineand steroid therapy in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology* 2009; 24: 2177–2185.
- 31- Başkan Bülbül E. Psoriyazisde Sistemik Konvansiyel Tedaviler. *Turkiye Klinikleri J Dermatol* 2012;5(3):51- 64.
- 32- Güvence N, Duranay M, Altay M, Üre M, Abuşoğlu C, Ecemiş ZA. Siklosporin-A'ya bağlı ciddi hiperpotasemi: bir olgu sunumu. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2009; 7(1): 54 -56.
- 33- Varghese Z, Fernando R, Turakhia G, Psimenou E, Fernando O, Sweny P, Powis S, Moorhead JF. Calcineurin inhibitors enhance low-density lipoprotein oxidation in transplant patients. *Kidney international* 1999; 56(71): 137-140.

- 34- Gönenç F, Dalva İ, Güneş Z, Akbay E, Dalva K, Çetin S. Siklosporinin Diabetojenik Etkisi. *Türkiye Klinik Araştırmalar Dergisi* 1991; 9: 439-42.
- 35- Bozkaya G, Nart A, Uslu A ve ark. Impac of calcineurin inhibitors on bone metabolism in primary kidney transplant recipients. *Transplantation Proceedings* 2008; 40: 151-155.
- 36- Zakarija A, Bennett C. Drug-induced thrombotic microangiopathy. *Seminars in Thrombosis Hemostasis* 2005; 31: 681-90,
- 37- Taylor AL, Watson JC, Bradley JA. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: mechanisms of action and therapeutic efficacy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2005; 56: 23–46,
- 38- Magee CC, Pascual M. Update in Renal Transplantation. *Archives of Internal Medicine*.2004;164: 1373-1388,
- 39- Mag nasco A, Rossi A, Catarsi P, Gusmano R, Ginevri F, Perfumo F, Ghiggeri GM. Cyclosporin and Organ Specific Toxicity: Clinical Aspects. *Pharmacogenetics and Perspectives Current Clinical Pharmacology* 2008;3:166-173,
- 40- Bączkowska T, Durlík M. Calcineurin inhibitor sparing immunosuppressive regimens in kidney allograft recipients. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 2009;119(5): 318-324.
- 41- Parra Cid T, Conejo García JR, Carballo Alvarez F, de Arriba G. Antioxidant nutrients protect against cyclosporine A nephrotoxicity. *Toxicology* 2003;15(189): 99-111.
- 42- Macunluoglu B, Arikan H, Atakan A, Tuglular S, Üfler G, Çakalağaoğlu F, Özener C, Akoğlu E. Effects of Spironolactone in an Experimental Model of Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity *Transplantation Proceedings* 2008; 40: 273–278.
- 43- Ural M, Özgüner M, Şenal D, Sütçü R, Delibaş N. Siklosporin A'nın sıçanlarda oluşturduğu nefrotoksisiteye Vitamin C ile Vitamin E'nin ve verapamilin etkilerinin ışık mikroskopunda değerlendirilmesi *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 12(4): 28- 35.
- 44- Charney DA, Bhaskaran M, Molmenti E. Calcineurin inhibitor toxicity in a renal transplant recipient. *Neoprolgy Dialysis Transplantation Plus* 2009; 2: 175–176.

- 45- Liptak P, Ivanyi B. Primer: histopathology of calcineurin-inhibitor toxicity in renal allografts *Nature Clinical Practice Nephrology* 2006; 2(7): 398-404
- 46- Yoon HE, Yang CW. Established and Newly Proposed Mechanisms of Chronic Cyclosporine Nephropathy. *Korean Journal of Internal Medicine* 2009; 24: 81-92.
- 47- Camisa C:Psoriasis Oxford, Blackwell Scientific publications 1994;p:285-300.
- 48- Olsen EA:The pharmacology pf metotreksat *J Am Acad dermatol* 1991;25:306-318.
- 49- Gibson LE, Perry Ho: Papulosquamous eruption and exfoliative dermatitis: *Dermatolog.* 3. baskı. Moschella SL, Hurley HJ(eds) WB Saunders, Philadelphia 1992;S:607
- 50- Bertino JR, Romanini A Folat antagonists: *Canser medicine: 3. Baskı Holland JF, Frei III E Bast RC JR, Kufe DW Morton DL, Weichselbaum RR (eds) philadelphia* 1993;S:698-711
- 51- Fiehn C. Methotexate in rheumatology. *Z Rheumatol.* 2009 Nov; 68(9): 747-56; quiz 757
- 52- van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, De Abreu RA, van de Putte LB. Methotrexate in rheumatoid arthritis: an update with focus on mechanisms involved in toxicity. *Semin Arthritis Rheum.* 1998 Apr;27(5):277-92.
- 53- Kane D, Gogarty M, O'leary J, Silva I, Bermingham N, Bresnihan B, Fitzgerald O. Reduction of synovial sublining layer inflammation and proinflammatory cytokine expression in psoriatic arthritis treated with methotrexate. *Arthritis Rheum.* 2004;50(10):3286-95
- 54- Kimura E, Nishimura K, Sakata K, Oga S, Kashiwagi K, Igarashi K. Methotrexate differentially affects growth of suspension and adherent cells. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004; 36(5):814-25.
- 55- Rubino FM. Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;764(1-2):217-54.

- 56- Systemic tacrolimus (FK 506) is effective for the treatment of psoriasis in a double-blind, placebo-controlled study. The European FK 506 Multicentre Psoriasis Study Group. *Arch Dermatol.* 1996;132(4):419-23.
- 57- Swierkot J, Szechinski J. Methotrexate in rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rep* 2006; 58:473-492.
- 58- Godfrey C, Sweeney K, Miller K, Hamilton R, Kremer J. The population pharmacokinetics of long-term methotrexate in rheumatoid arthritis. *Br J Clin Pharmacol.* 1998;46(4):369-76.
- 59- Arthur V, Jubb R, Homer D. A study of parenteral use of methotrexate in rheumatic conditions. *J Clin Nurs* 2002;11:256–63.
- 60- Roenigk HH Jr, Auerbach R, Maibach H, Weinstein G, Lebwohl M. Methotrexate in psoriasis: consensus conference. *J Am Acad Dermatol.* 1998;38(3):478-85.
- 61- Warren RB, Griffiths CE. Systemic therapies for psoriasis: methotrexate, retinoids, and cyclosporine. *Clin Dermatol* 2008;26(5):438-47.
- 62- Zachariae H, Sogaard H, Heickendorff L. Serum aminoterminal propeptide of type III procollagen. *Acta Derm Venereol (Stockh)* Boffa MJ, Smith A, Chalmer RJG. Serum type III procollagen aminopeptide for assessing liver damage in methotrexate-treated psoriatic patients. *Br J Dermatol* 1996;135:538–44.
- 63- Strober BE, Menon K. Folate supplementation during methotrexate therapy for patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2005;53:652-9.
- 64- Salim A, Tan E, Ilchyshyn A, Berth-Jones J. Folic acid supplementation during treatment of psoriasis with methotrexate: a randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *Br J Dermatol* 2006;154:1169-74.
- 65- Turesson C, Matteson EL. Genetics of rheumatoid arthritis. *Mayo Clin Proc.* 2006; 81(1):94-101.

- 66- Kalb RE, Strober B, Weinstein G, Lebwohl M. Methotrexate and psoriasis: 2009 National Psoriasis Foundation Consensus Conference. *J Am Acad Dermatol* 2009;60(5):824-37.
- 67- Bangert CA, Costner MI. Methotrexate in dermatology. *Dermatol Ther* 2007;20(4):216-228.
- 68- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.
- 69- <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4906a1>. June 09, 2000;49(RR06);1 - 54.
- 70- Chabner B, Wilson W, Supko J. Pharmacology and toxicity of antineoplastic drugs. Editorial: Lichtman MA, Beutler E, Seligsohn U, Kipps TJ, Kaushansky K. In Williams Hematology. 7th Edition. Mc Graw Hill Company, United States. 2007;249-51.
- 71- American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. *Arthritis Rheum.* 2002;46(2):328-46.
- 72- Chabner BA, Amrein PC, Druker BJ, Antineoplastic agents. In Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th edn, edited by. Laurence L. Brunton, John S. Lazo and Keith L. Parker. McGraw Hill, New York, NY, 2006, pp 1315–35.
- 73- Weinblatt, M.E.: Metotrexate. In: Wilicam N. Kelley, *Textbook of Rheumatology*. 1993;4: 767-778.
- 74- Buchbinder R, Barber M, Heuzenroeder L, Wluka AE, Giles G, Hall S, Harkness A, Lewis D, Littlejohn G, Miller MH, Ryan PF, Jolley D. Incidence of melanoma and other malignancies among rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Arthritis Rheum.* 2008;59(6):794-9.
- 75- Bannwarth B, Labat L, Moride Y, Schaefferbeke T. Methotrexate in rheumatoid arthritis. An update. *Drugs.* 1994;47(1):25-50.
- 76- Berends MA, Snoek J, de Jong EM, van de Kerkhof PC, van Oijen MG, van Krieken

JH, Drenth JP. Liver injury in long-term methotrexate treatment in psoriasis is relatively infrequent. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24(5):805-11.

77- Uraz S, Tahan V, Aygun C, Eren F, Unluguzel G, Yuksel M, Senturk O, Avsar E, Haklar G, Celikel C, Hulagu S, Tozun N. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver toxicity. *Dig Dis Sci.* 2008;53(4):1071-7.

78- Herron MD, Hinckley M, Hoffman MS, Papenfuss J, Hansen CB, Callis KP. Impact of obesity and smoking on psoriasis presentation and management. *Arch Dermatol* 2005;141:1527-34.

79- Langman G, Dela M, Hall P, Todd G. Role of nonalcoholic steatohepatitis in methotrexate induced liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:1395-401.

80- Erickson A, Reddy V, Vogelgesang S, West SG. Usefulness of the American College of Rheumatology Recommendations for Liver Biopsy in Methotrexate Treated Rheumatoid Arthritis Patients. *Arthritis Rheum* 1995;38:1115-9.

81- Thomas JA, Aithal GP. Monitoring liver function during methotrexate therapy for psoriasis: are routine biopsies really necessary? *Am J Clin Dermatol* 2005;6:357-63.

82- Chalmers RJ, Kirby B, Smith A, Burrows P, Little R, Horan M, Hextall JM, Smith

CH, Klaber M, Rogers S. Replacement of routine liver biopsy by procollagen III

aminopeptide for monitoring patients with psoriasis receiving long-term methotrexate: a multicentre audit and health economic analysis. *Br J Dermatol.* 2005;152(3):444-50.

83- Maurice PD, Maddox AJ, Green CA, Tatnall F, Schofield JK, Stott DJ. Monitoring patients on methotrexate: hepatic fibrosis not seen in patients with normal serum assays of aminoterminal peptide of type III procollagen. *Br J Dermatol* 2005;152:451-8.

84- Khan S, Subedi D, Chowdhury MM. Use of amino terminal type III procollagen peptide (P3NP) assay in methotrexate therapy for psoriasis. *Postgrad Med J* 2006;82:353-4.

85- Berends MA, van Oijen MG, Snoek J, van de Kerkhof PC, Drenth JP, Han van

Krieken J, de Jong EM. Reliability of the Roenigk classification of liver damage

after methotrexate treatment for psoriasis: a clinicopathologic study of 160

liver biopsy specimens. *Arch Dermatol*.2007;143(12):1515-9.

86- Green DM, Zevon MA, Lowrie G, Seigelstein N, Hall B. Congenital abnormalities in children of patients who received chemotherapy for cancer in childhood and adolescence. *N Engl J Med* 1991;325:141-6.

87- Sussman A, Leonard JM. Psoriasis, methotrexate and oligospermia. *Arch Dermatol* 1980;116:215-7.

88- French AE, Koren G. Effect of methotrexate on male fertility. *Can Family Phys* 2003;49:577-8.

89- Grunewald S, Paasch U, Glander HJ. Systemic dermatological treatment with relevance for male fertility. *J Dtsch Dermatol Ges* 2007;5:15-21.

90- Estop AM, Ciepły K, Van Kirk V, Levinson F, Buckingham R. Sperm chromosome studies in patients taking low dose methotrexate. *Am J Hum Genet* 1992;51:314.

91- Lloyd ME, Carr M, McElhatton P, Hall GM, Hughes RA. The effects of methotrexate on pregnancy, fertility and lactation. *QJM* 1999;92:551-63.

92- Aviles A, Diaz-Maqueo JC, Talavera A, Guzman R, Garcia EL. Growth and development of children of mothers treated with chemotherapy during pregnancy: current status of 43 children. *Am J Haematol* 1991;36:243-8.

93- Skomsvoll JF, Ostensen M, Irgens LM, Baste V. Perinatal outcome in pregnancies of women with connective tissue disease and inflammatory rheumatic disease in Norway. *Scand J Rheumatol* 1999;28:352-6.

94- Donnenfeld AE, Pastuszak AP, Salkoff-Noah J, Schick B, Rose NC, Koren G. Methotrexate exposure prior to and during pregnancy. *Teratology* 1994;49:79-81.

95- James, R.: Metotrexate use in rheumatoid arthritis. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.*, 1997;23: 779-96.

- 96- Prodanovich S, Ma F, Taylor JR, Pezon C, Fasihi T, Kirsner RS. Methotrexate reduces incidence of vascular diseases in veterans with psoriasis or rheumatoid arthritis. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:262-7.
- 97- van Halm VP, Nurmohamed MT, Twisk JW, Dijkmans BA, Voskuyl AE. Disease-modifying antirheumatic drugs are associated with a reduced risk for cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a case control study. *Arthritis Res Ther* 2006;8(5):R151.
- 98- Cather J, Menter A. Novel therapies for psoriasis. *Am J Clin Dermatol* 2002;3(3):159-73.
- 99-Griffiths CEM, Camp RDR, Barker JNWN. Psoriasis. In:Tony Burns, Stephen Breathnach, Neil Cox, Christopher Griffiths, (eds). *Rook's Textbook of Dermatology*. Vol 2. 7th edition. Oxford: Blackwell Science Limited 2004;35.1-35. 69.
- 100- Akkan G. A, "Vitaminler" İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı ilaç Kullanımı Sempozyumu, İstanbul, 1999;45-57.
- 101- Germain p, Chambon P, Eichele G, Evans MR, Lazar M.A., Leid M, De Lera AR, Lotan R, Mandelsdrof DJ and Gronemeyer H. International union of pharmacology. LX. Retinoic acid receptors. *Pharmacological Reviews*. 2006; 58:712-725.
- 102- Nicolaidou E, Katsambas AD. Vitamins A, B, C, D, E, F, trace elements and heavy metals: unapproved uses or indications. *Clin Dermatol*. 2000;18(1):87-94.
- 103- Ianhez M, Fleury LF Jr, Miot HA, Bagatin E. Retinoids for prevention and treatment of actinic keratosis. *An Bras Dermatol*. 2013 Jul-Aug;88(4):585-93.
- 104- Kayaalp OS, Yağda çözünen vitaminler, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 11.baskı, Ankara, Hacettepe Taş Kitapçılık ltd.şti. 2005;1307-1332.
- 105- Budhu AS, Gillilan R, Noy N. Localization of the RAR interaction domain of cellular retinoic acid binding protein-II. *Mol Cell Biol* 2001;305(4):939-49.
- 106- Johnson A, Chandraratna RAS. Novel retinoids with receptor selectivity and functional selectivity. *Br J Dermatol* 140 (Supp54):1999;12-17.

- 107- Peck GL, Olsen TG, Yoder FW, Strauss JS, Downing DT, Pandya M, Butkus D, Arnaud-Batandier J. Prolonged remissions of cystic and conglobate acne with 13-cis-retinoic acid. *N Engl J Med* 1979;300:329-33.
- 108- Ahuja , H.S ,Szanto, A. Nagy,L.Davies, P.J.A.The retinoid X receptor and ligands: versatile regulators of metabolic function, cell differentiation and cell death. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2003;17:29-45.
- 109- Shapiro SS, Latriano L. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations of retinoids: tretinoin. *J Am Acad Dermatol*. 1998;39(2 Pt 3):S13-6.
- 110- Kang S, Voorhees JJ. Topical retinoids: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Eds. Feedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI. 6. baskı. New York, McGraw-Hill: 2003; Bölüm 244, 2328-2334.
- 111- Tüzün Y, Dolar N; Güncel akne tedavisi, *Dermatose* 2004;4:220-9.
- 112- Almond-Roesler B, Blume-Peytavi U, Bisson S, Krahn M, Rohloff E, Orfanos CE. Monitoring of isotretinoin therapy by measuring the plasma levels of isotretinoin and 4-oxo-isotretinoin. A useful tool for management of severe acne. *Dermatology*. 1998;196(1):176-81.
- 113- Orfanos CE, Ehlert R, Gollnick H. The retinoids. A review of their clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs*. 1987;34(4):459-503.
- 114- Rolmann O, Vahlquist A; Oral isotretinoin (13-cis retinoic acid) therapy in severe acne drug and vitamin A concentrations in serum and skin, *J Invest Dermatol* 1986; 86:384-9.
- 115- Cunliffe WJ, van de Kerkhof PC, Caputo R, Cavicchini S, Cooper A, Fyrand OL, Gollnick H, Layton AM, Leyden JJ, Mascaró JM, Ortonne JP, Shalita A. Roaccutane treatment guidelines: results of an international survey. *Dermatology*. 1997;194(4):351-7.
- 116- Habif TP: *Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnosis and Therapy*. 4th edition, Mosby, New York, 2004, 162-92.

- 117- Zouboulis CC, Piquero-Martin J; Update and future of systemic acne treatment, *Dermatology* 2003; 206:37–53.
- 118- Christophers E, Sterry W. Epidermis: Disorders of cell Kinetics and Differentiation. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg MI, Austen KF, eds. *Dermatology in General Medicine*. 4th ed. New York: Mc-Graw-hill Book Company, 1993; 489-514
- 119- Alper S, Akyol M, Atakan N, Başkan Bülbül E, Gürer M A, Onsun N, Özarmağan G, Şentürk N, Yaylı S *Türkderm-Türkiye Psoriasis Tedavi Kılavuzu-2012*; 46: 1-36.
- 120- Arechalde A, Saurat JH. Unapproved uses or indications. *Clin Dermatol* 2000; 18:63-76.
- 121- Gollnick HP. Oral retinoids: efficacy and toxicity in psoriasis. *Br J Dermatol* 1996; 135(Supp49):6-17.
- 122- Alp A, Anadolu R. Retinoidler ve karsinogeneziste etkileri. *Türkiye Klin Dermatol* 1996;(6)1:50 56.).
- 123- Geiger JM, Saurat JH. Acitretin and etretinate. *Dermatol Clin* 1993; 11: 117-129.
- 124- Berbis P. Acitretine. *Ann Dermatol Venereol* 2001; 128(6-7):737-45.
- 125- Epstein EL, Stein Gold L. Safety and efficacy of tazarotene foam for the treatment of acne vulgaris. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2013 May 14;6:123-5.
- 126- Özcanlı Ç, Baysal V. Tazaroten ve Dermatolojide Kullanım Alanları *Türkderm*, 2000;30: 197-201.
- 127- Dogra A, Sachdeva S. Biologic therapy in psoriasis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2006;72(4):256-64.
- 128- Katz HI, Waalen J, Leach EE. Acitretin in Psoriasis. An overview of adverse effects. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:584–8.
- 129- Nast A, Boehncke WH, Mrowietz U, Ockenfels HM, Philipp S, Reich K, Rosenbach T, Sammain A, Schlaeger M, Sebastian M, Sterry W, Streit V, Augustin M, Erdmann R, Klaus J, Koza J, Müller S, Orzechowski HD, Rosumeck S, Schmid-Ott G, Weberschock T,

Rzany B. [S3-guidelines for the treatment of psoriasis vulgaris Update 2011]. J Dtsch Dermatol Ges. 2011;9 Suppl 2:S1-104.

130- Nguyen E-Oh, Wolverton SE Systemic retinoids, in Comprehensive Dermatologic Drug Therapy, edited by SE Wolverton. Philadelphia. Saunders. 2000;Sayfa 269.

131- Egger SF, Huber-Spitzy V, Böhler K, Raff M, Scholda C, Barisani T, Vecsei VP. Ocular side effects associated with 13-cis-retinoic acid therapy for acne vulgaris: clinical features, alterations of tearfilm and conjunctival flora. Acta Ophthalmol Scand. 1995;73(4):355-7.

132- Charles NE, Kent JK. Uses and complications of isotretinoin therapy. J Am Acad Dermatol 2001; 45:150-7.

133- Peck GL, Di Giovanna JJ .The retinoids. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K editors. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. New York. McGraw-Hill. 1999; Bölüm 256. Sayfa 2810-20.

134- Metin Doğan S, İzotretinoin kullanılan olgularda Oküler yüzey değişiklikleri ve konfokal mikroskopi bulguları, uzmanlık tezi, Başkent Üniv.Tıp Fak.Göz hastalıkları ABD,2009; papyrus.ankara.edu.tr/web/catalog ,Ankara.

135- Çıkım Çiler A, Seyhan M, Efficiency and side effects of isotretinoin usage in the treatment of acne vulgaris. Turkderm. 2008; 42(2): 51.

136- Carey BM, Parkin GJ, Cunliffe WJ, Pritlowe J. Skeletal toxicity with isotretinoin therapy: a clinico-radiological evaluation. Br J Dermatol 1988;119:609-14.

137- Tfelt-Hansen P, Knudsen B, Petersen E, Sorensen EB . Spinal cort compression after long-term etretinate. Lancet 1989;2:325-6.

138- Leachman SA, Insoqna KL, Kantz L, Ellison A, Milstone LM. Bone densities in patients receiving isotretinoin for cistic acne: Arc Dermatol 1999;135:961-5.

139- Nishimura G, Mugishihima H, Hirao J, Yamato M. Generalized metaphysealmodification with cone-shaped epiphyses following long-term administration of 13-cis-retinoic acid. Eur J Pediatr 1977;156:432-5.

- 140- Mills C, Marks R. Adverse reactions to oral retinoids. *Drug Safety* 1993;9: 280–290.
- 141- Layton AM, Knaggs H, Taylor J, Cunliffe WJ. Isotretinoin for acne vulgaris:10 years later: A safe and successful treatment: *Br J Dermatol* 1993;129:292–6.
- 142- Bonnetblanc JM, Hugon J, Dumas M, Rupin D. Intracranial hypertension with etretinate. *Lancet* 1983;22:2:974.
- 143- Chu A, Cunliffe WJ . The inter-relationship between isotretinoin/acne and depression. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1999;120:263.
- 144- Jick SS, Kremers HM, Vasilakis-Scaramozza S. Isotretinoin use and risk of depression, psychotic symptoms, suicide, and attempted suicide: *Arch Dermatol* 2000;136:1231–6.
- 145- Duvic M, Hymes K, Herald P, Breneman D, Martin AG, Myskowski P, Crowley C, Yocum RC Bexarotene is effective and safe for treatment of refractory advanced-stage cutaneous T-cell lymphoma: Multinational phase II/III trial result. *J Clin Oncol* 2001; 19:2456–71.
- 146- Koo J, Wquyen Q, Gambla C. Advances in psoriasis therapy. *AdvDermatol* 1997;12:47-72.
- 147- Lammer EJ, Chen DT, Hoar RM, Agnish ND, Benke PJ, Braun JT, Curry CJ, Fernhoff PM, Grix AW jr, Lott IT. Retinoic acid embryopathy. *N Engl J Med* 1985; 313:837–41.
- 148- Elmazar MM, Reichert U, Shroot B, Nau H. Pattern of retinoid-induced teratogenic effects: Possible relationship with relative selectivity for nuclear retinoid receptors RAR alpha, RAR beta, and RAR gamma. *Teratology* 1996;53:158–67.
- 149- Işık A, Işılai L, Atabenli Erdemli E, Akbay C, Anafarta K, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Cilt 50, Sayı 3, 1997;125.
- 150- Damjanov Ivan. Clinical evaluation of the infertile couple. *Pathology of Infertility*. 1st edition Mosby; 1993: 7-42.

- 151- Gündüz K, Gençoğlan G. Dermatolojide kullanılan sistemik tedavilerin erkek üremesi üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri J Dermatol* 2010;20(1):7-13.
- 152- Ertürk M, Dönmez T, Işıksoy S, Özyürek Y, Kale M. Siklosporin A'nın Testiküler toksisitesi ve Klomifen Sitratın Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, *Türk Üroloji dergisi*, 1993; 19(1): 21-28.
- 153- Buchanan JD, Fairley KF, Barrie JU. Return of spermatogenesis after stopping cyclophosphamide therapy. *Lancet*. 1975;26;2:156-7.
- 154- Seethalakshmi L, Menon M, Malhotra RK, Diamond DA. Effect of cyclosporine A on male reproduction in rats. *J Urol*. 1987;138:991-5.
- 155- Rajfer J, Sikka SC, Lemmi C, Koyle MA. Cyclosporine inhibits testosterone biosynthesis in the rat testis. *Endocrinology*. 1987;121(2):586-9.
- 156- Cavallini L, Malendowicz LK, Mazzocchi G, Belloni AS, Nussdorfer GG. Effects of prolonged cyclosporine-A treatment on the Leydig cells of the rat testis. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1990;58(3):215-20
- 157- Sikka SC, Coy DC, Lemmi CA, Rajfer J. Effect of cyclosporine on steroidogenesis in rat Leydig cells. *Transplantation*. 1988;46(6):886-90.
- 158- Sikka SC, Koyle MA, Swerdloff RS, Rajfer J. Reversibility of cyclosporine-induced hypoandrogenism in rats. *Transplantation*. 1988;45(4):784-7.
- 159- Seethalakshmi L, Folders C, Khauli RB, Diamond DA, Menon M. Evaluation of the effect of experimental cyclosporine toxicity on male reproduction and renal function. Reversal by concomitant Human chorionic gonadotropin administration. *Transplantation*. 1990; 49(1): 17-19.
- 160- Chen Y, Zhang Z, Lin Y, Lin H, Li M, Nie P, Chen L, Qiu J, Lu Y, Chen L, Xu B, Lin W, Zhang J, Du H, Liang J, Zhang Z. Long-term impact of immunosuppressants at therapeutic doses on male reproductive system in unilateral nephrectomized rats: a comparative study. *Biomed Res Int*. 2013; 2013:690382.

- 161- Masuda H, Fujihira S, Ueno H, Kagawa M, Katsuoka Y, Mori H. Ultrastructural study on cytotoxic effects of cyclosporine A in spermiogenesis in rats. *Med Electron Microsc.* 2003;36(3): 183-91.
- 162- Millsop JW, Heller MM, Eliason MJ, Murase JE. Dermatological medication effects on male fertility. *Dermatol Ther.* 2013;26(4):337-46.
- 163- Iwasaki M, Fuse H, Katayama T. Histological and endocrinological investigations of cyclosporine effects on the rat testis. *Andrologia.* 1995;27(3):185-9.
- 164- Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Abdurrauf Y, Çeribaşı AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology* 2007; **67**: 778–785.
- 165- Lee A, Griffiths W. Side effects of retinoids. *Retinoids* 2001;17:103–107.
- 166- Sadek IA, Abdul-Mohsen MH. Long-term administration of vitamin A and the process of spermatogenesis. *East Mediterr Health J* 1999;5:123–129
- 167- Tsambaos D, Hundeiker M, Mahrle G, Orfanos CE. [Reversible impairment of spermatogenesis induced by aromatic retinoid in guinea pigs]. *Arch Dermatol Res.* 1980;267(2):153-9
- 168- Kuhlwein A, Schütte B. [Light microscopic studies of spermatogenesis in rats following the administration of a high dose of 13-cis-retinoic acid]. *Z Hautkr.* 1985;60(3):245-8
- 169- Sengör B, Bayramgürler D, Müezzinoğlu B, Altintas L, Bilen N, Apaydin R. Effects of acitretin on spermatogenesis of rats. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2006;20(6):689-92.
- 170- Török L. Spermatological examinations in males treated with etretinate. In: Cunliffe WJ, Miller DH, eds. *Retinoid Therapy*. MTP Press, Lancaster, 1984: 161–164
- 171- Schill WB, Wagner A, Nikolowski J, Plewig G. Aromatic retinoid and 13-Cis-Retinoic Acid: spermatological investigations. In: Orfanos CE, ed. *Retinoids*. Springer-Verlag, Berlin, 1981: 389–395

- 172- Comitato R, Esposito T, Cerbo G, Angelini F, Varriale B, Cardone A. Impairment of spermatogenesis and enhancement of testicular germ cell apoptosis induced by exogenous all-trans-retinoic acid in adult lizard *Podarcis sicula*. *J Exp Zool A Comp Exp Biol*. 2006;305(3):288-98
- 173- Livera G, Rouiller-Fabre V, Pairault C, Levacher C, Habert R. Regulation and perturbation of testicular functions by vitamin A. *Reproduction*. 2002;124(2):173-80.
- 174- Chung SS, Wolgemuth DJ. Role of retinoid signaling in the regulation of spermatogenesis. *Cytogenet Genome Res* 2004; 105:189-202
- 175- Batias C, Siffroi JP, Fénichel P, Pointis G, Segretain D. Connexin43 gene expression and regulation in the rodent seminiferous epithelium. *J Histochem Cytochem*. 2000;48(6):793-805
- 176- Kastner P, Mark M, Leid M, Gansmuller A, Chin W, Grondona JM, Décimo D, Krezel W, Dierich A, Chambon P. Abnormal spermatogenesis in RXR beta mutant mice. *Genes Dev*. 1996;10(1):80-92.
- 177- Parsch EM, Ruzicka T, Przybilla B, Schill WB. Andrological investigations in men treated with acitretin (Ro 10-1670). *Andrologia*. 1990;22(5):479-82
- 178- Geiger JM, Walker M. Is there a reproductive safety risk in male patients treated with acitretin (neotigason/soriatane?) *Dermatology* 2002; 205: 105–107.
- 179- Grunnet E, Nyfors A, Hansen KB. Studies of human semen in topical corticosteroid-treated and in methotrexate-treated psoriatics. *Dermatologica* 1977;154:78-84.
- 180- Gunther E. Andrologic examinations in the antimetabolite therapy of psoriasis. *Dermatol Monatsschr* 1970;156:498-502.
- 181- De Luca M, Ciampo E, Rossi A. Study of the seminal fluid in subjects treated with methotrexate. *G Ital Dermatol Minerva Dermatol* 1971;46:247-9.

- 182- Shamberger RC, Sherins RJ, Ziegler JL, Glatstein E, Rosenberg SA. Effects of postoperative adjuvant chemotherapy and radiotherapy on ovarian function in women undergoing treatment for soft tissue sarcoma. *J Natl Cancer Inst.* 1981;67(6):1213-8.
- 183- Koehler M, VValdherr R, Ludvvig RI. Effects of MTX on Rabbit Testes. Part 1: Morphological Changes. *Pediatric Hematology Oncology.* 1986; 3(4):335-41.
- 184- Oufi HG, Al-Shawi NN. The effects of different doses of silibinin in combination with methotrexate on testicular tissue of mice. *Eur J Pharmacol.* 2014;730C:36-40
- 185- Van Scott EJ, Reinertson RP. Morphologic and physiologic effects of chemotherapeutic agents in psoriasis. *J Invest Dermatol* 1959;33:357-69.
- 186- Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, Ruggieri P, Picci P, Longhi A, Casadei R, Fabbri N, Forni C, Versari M, Campanacci M. Long-term outcome for patients with nonmetastatic osteosarcoma of the extremity treated at the istituto ortopedico rizzoli according to the istituto ortopedico rizzoli/osteosarcoma-2 protocol: an updated report. *J Clin Oncol.* 2000;18(24):4016-27.
- 187- Siimes MA, Elomaa I, Koskimies A. Testicular function after chemotherapy for osteosarcoma. *Eur J Cancer* 1990;26:973
- 188- Ben Arush MW, Solt I, Lightman A, Linn S, Kuten A. Male gonadal function in survivors of childhood Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Pediatr Hematol Oncol.* 2000;17(3):239-45
- 189- Johnson FE, Farr SA, Mavvad M, Sun Woo YC. Testicular Cytotoxicity of Intravenous Methotrexate in Rats: *Journal of Surgical Oncology* 1994; 55 :175-8.
- 190- Sukhotnik I, Nativ O, Roitburt A, Bejar D, Coran AG, Mogilner JG, Nativ O. Methotrexate induces germ cell apoptosis and impairs spermatogenesis in a rat. *Pediatr Surg Int.* 2013;29(2):179-84
- 191- Alam SS, Hafiz NA, Abd El-Rahim AH Protective role of taurine against genotoxic damage in mice treated with methotrexate and tamoxfine. *Environ Toxicol Pharmacol* 2011;31:143–152

192- Shrestha S, Dhungel S, Saxena AK, Bhattacharya S, Maskey D. Effect of methotrexate (MTX) administration on spermatogenesis: an experimental on animal model. Nepal Med Coll J. 2007;9(4):230-3.

193- Saxena AK, Dhungel S, Bhattacharya S, Jha CB, Srivastava AK. Effect of chronic low dose of methotrexate on cellular proliferation during spermatogenesis in rats. Arch Androl. 2004;50(1):33-5.

194- Vardi N, Parlakpınar H, Ates B, Cetin A, Otlu A. Antiapoptotic and antioxidant effects of beta-carotene against methotrexate- induced testicular injury. Fertil Steril 2009; 92:2028–2033.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Mardin’de doğdum. İlkokul, orta ve lise eğitimimi Mardin’deki devlet okullarında tamamladıktan sonra 2000 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Tıp Fakültesine girdim. 2006 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2006- 2009 yılları arasında Mardin-Kızıltepe 1 nolu Sağlık Ocağı’nda çalıştım. 2009 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. Evli ve 2 çocuk annesiyim.