12.12.2014 : müracaat tarihi / application date
23.12.2014 : kabul tarihi / acceptance date

Metotreksat'ın karaciğer ve böbrekte neden olduğu hasarda oksidatif stresin rolü

The role of oxidative stress in methotrexate-induced damage in liver and kidney of rats

Öz

Metotreksat (MTX), bazı kanser hastalarının vazgeçilmez ilacıdır. Fakat MTX'in oluşturduğu yan etkiler, doz kısıtlamasına veya tedavinin sonlandırılmasına götürebilir bu da hastanın sağ kalımını azaltır. Bu sebeple MTX'in en önemli yan etkilerinden olan hepatotoksisite ve nefrotoksisitenin oluşum mekanizmasının bilinmesi ve buna karşı önlemlerin alınması oldukça önemlidir. Yapılan birçok çalışma ile MTX'in sebep olduğu hepatotoksisite ve nefrotoksisitede genellikle reaktif oksijen türleri (ROT)'nin meydana getirdiği oksidatif hasar sorumlu tutulmuştur. Bu nedenle de oluşacak bu yan etkilerden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanılması gerekliliği ön plana çıkmıştır.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Metotreksat, Oksidatif Stres, Reaktif Oksijen Türleri

Abstract

Methotrexate (MTX) is one of the indispensable chemotherapeutic agents for cancer patients. But, MTX induce some adverse effects such as nephrotoxicity and hepatotoxicity. Thus cause dose limitations and terminate the cancer therapy. This will cause decrease in the survival of cancer patients. Hence, we aimed to summarize the MTX's action mechanism on hepatotoxicity and nephrotoxicity, which of those are most known adverse effects of MTX. However, taking precautions in MTX treatment is crucial in chemotherapy. According to the literatures, reactive oxygen species (ROS) triggered oxidative stress is responsible in MTX-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. Hence, the MTX treatment must be accompanied with antioxidants to protect the patients from those adverse effects.

Keywords: Antioxidant, Methotrexate, Oxidative stress, Reactive Oxygen Species

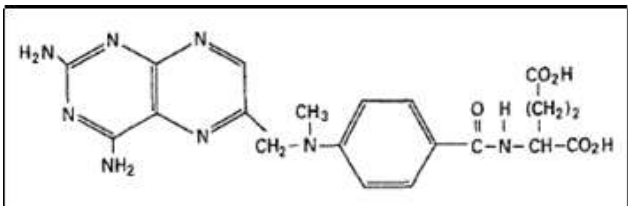
İlkay Armağan

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Isparta.

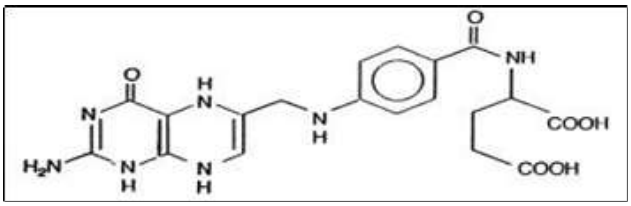
Yazışma Adresi:
Uzm. Dr. İlkay Armağan
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, TR-32260, Isparta, Türkiye.
Tel.: 0 246 2113388
Fax: 0 246 2371165
e-mail: ilkayarmagan@sdu.edu.tr

Giriş

Metotreksat (MTX), Dihidrofolat (DHF)'ın 4-amino-N10-metil analoğudur (1). MTX'in yapısında birden fazla metil grubu vardır ve DHF'taki OH grubu yerine NH_2 bulunur.



Şekil 1. Metotreksat'ın moleküler yapısı (2)



Şekil 2. Dihidrofolatın moleküler yapısı (3)

MTX oral ya da intravenöz (iv) yollarla kullanılır. Düşük dozlarda oral yolla gastrointestinal sistemden tama yakın absorbe olurken, yüksek dozlarda gastrointestinal sistem absorbsiyonu azalacağından iv yol tercih edilir. MTX'in oral ve iv uygulanması santral sinir sistemi hariç iyi doku dağılımı sağlar. MTX'in plevral ya da peritoneal kavite gibi vücut boşluklarına dağılımı yavaştır. Bu nedenle, plevral efüzyon ya da asit gibi nedenlerle meydana gelecek genişlemeler, ilacın yavaş salınımına ve plazma konsantrasyonunda ki artışa neden olur ve toksisite bulguları gelişebilir. MTX, plazma proteinlerine %50 gibi düşük oranda ve zayıf bir şekilde bağlanır. Sülfonamidler ve salisilatlar, bu ilaçla birlikte verilirse bağlanma oranını azaltırlar ve MTX'in toksisitesini arttırabilirler. MTX metabolizması, insanlarda genellikle minimal düzeydedir ve karaciğerde bir enzimatik sistem aracılığıyla major metaboliti olan 7- hidroksimetotreksata dönüşür (4). MTX ve metabolitleri primer olarak böbrekler yoluyla glomerüler ve aktif transport kombinasyonu ile olur. Az bir miktar feçes ve safra ile atılım vardır. Bu yüzden böbrek fonksiyonları bozuk hastalarda ilacın birikmesi daha hızlıdır. İV uygulama sonrası ilk 24 saatte ilacın tama yakını elimine olurken, oral uygulama sonrası ilk 24 saatte ilacın az bir kısmı elimine olmuştur ve takip eden 5 gün içerisinde eliminasyon tamamlanır.

MTX, bir antineoplastik ilaç grubu olan antimetabolitler grubundandır. Folik asit antimetaboliti olarak etki gösterir. MTX, Dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini geri dönüşümlü olarak inhibe eder (1) ve Dihidrofolat (DHF)'ın Tetrahidrofolat (THF)'a dönüşümünü engeller, böylece folat antagonisti gibi davranır. MTX, antagonisti olan folat gibi normal veya tümöral hücrelerde folilpoliglutamil sentetaz ile 1-4 glutamat gruplarının eklenmesiyle değişikliğe uğrayarak poliglutamat türevlerini (MTX- PGs) meydana getirir (2, 3). MTX-PGs'leri hücre içinde tutulur ve DHFR enzimine bağlanarak DHF ile yer değiştirir (2, 3). Ayrıca MTX- PGs'leri 5,10 metilen Tetrahidrofolat (THF) redüktaz, glisinamid ribozil 5 fosfat formiltransferaz ve aminoimidazol karbokzamid ribozil 5 fosfat formiltransferaz enzimlerini doğrudan inhibe eder. Bu enzimlerdeki inhibisyon pürin ve primidin metabolizmasında inhibisyonla sonuçlanır (2). THF'a dönüşemeden kalan DHF ise dihidrofolatpoliglutamatlar şeklinde hücrede birikir; kanser hücresi içinde timidilat sentetaz ve transformilaz enzimlerinin inhibisyonundan poliglutamat metabolitleri sorumludur (1). Metabolik yollardaki bu değişiklikler MTX'in hem tedavi edici hem de toksik etkilerinden sorumludur (5). THF sentezinin inhibisyonu, pirimidin timidilat ve pürin nükleotidlerinin biyosentezinin durmasına yol açar. Bu yapıtaşlarının üretilmemesi hücre çoğalması için gerekli olan Deoksiribonükleik asit (DNA) ve Ribonükleik asit (RNA)'in sentezini ve enerji için gerekli olan Adenozin Trifosfat (ATP) yapımını inhibe eder (1). MTX, pürin ve pirimidin inhibitörü olduğundan hastalarda immünsupresif ve antineoplastik olarak kullanılmaktadır (6). MTX, yüksek dozlarda antiproliferatif olarak kanser tedavisinde kullanılırken (2, 7), düşük dozda antiinflamatuar ve immünsüpresif etkilerinden dolayı refrakter romatoid artrit, Juvenil Romatoid artrit ve dirençli psöriazis hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır (8, 9).

Antikanser ilaçlarla yapılan son zamanlardaki toksisite çalışmalarında oksidatif stres üzerinde durulmaktadır. MTX, bu geniş kullanım endikasyonlarına karşın, özellikle nefrotoksisite ve hepatotoksisite gibi yan etkilerle karşımıza çıkar ve gelişen bu yan etkilerden genellikle reaktif oksijen türlerinin (ROT) meydana getirdiği oksidatif hasar sorumlu tutulmuştur (10-15). MTX kullanımı hücre içi Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADP(H)) seviyelerinin azalmasına sebep olabilir

(16). ROT'a karşı önemli bir koruyucu ajan olarak bilinen redükte glutatyonun (GSH) seviyesini koruyan glutatyon redüktaz enzimi tarafından da NADPH kullanılır (17). Böylece MTX kullanımı ile hücreler ROT' un oluşturduğu strese karşı koymakta zorlanır. Bu nedenle MTX toksisitesinden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanılması gerekliliği öne çıkmaktadır.

Hepatotoksisite, MTX tedavisi esnasında oluşan majör komplikasyonlarındandır (18). MTX'in oluşturduğu karaciğer hasarının mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, intrasellüler MTX-PGs birikimi ve folat azalmasının sorumlu olabileceği düşünülmektedir (19). MTX, NAD^+ bağımlı mitokondrial enzimler olan piruvat dehidrojenaz, 2-oksogluterat dehidrojenaz, izositrat dehidrogenaz, malat dehidrogenazı, sitosolik nikotinamid adenozin difosfat bağımlı dehidrojenazı ve malik enzimi inhibe eder (17). Bütün bu sayılan enzimler prolifere hücrelerde, NADPH'nın ana kaynağını oluştururlar. Bundan dolayı MTX kullanımı hücre içi NADPH seviyelerinin azalmasına sebep olabilir (16). ROT'a karşı önemli bir koruyucu ajan olarak bilinen GSH seviyesini koruyan glutatyon redüktaz enzimi tarafından da NADPH kullanılır (17). Böylece, MTX kullanımına bağlı olarak düşen NADP seviyeleri, hepatositleri reaktif oksijen radikallerine (süperoksid anyonları, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksid ve hipoklorid radikalleri gibi) karşı duyarlılaştıran glutatyon seviyelerinin düşmesine ve bu da hepatosit hasarına sebep olur (20). MTX, hücre içinde poliglutamat formunda tutulur. MTX kullanımı ile hücre içindeki poliglutamat formunun miktarı artar ve folik asit seviyeleri düşer (21). Bu da hepatosit nekrozuna sebep olur. Bu bilgiler dahilinde bazı araştırmacılar ise, hepatotoksisitenin sebebi olarak; NADPH azalmasının oksidatif strese karşı hepatositlerde hassasiyet geliştirmesi ya da MTX'in hepatositlerde uzun vadede birikimi sonucu oluşan MTX-poliglutamat formlarının oluşması (10, 21) olarak vurgulamıştır.

MTX'in önemli yan etkilerinden birisi de renal toksisitedir (22). MTX'in %90'dan fazlası böbrekler yoluyla atılır (23). MTX'in yüksek doz kullanımı sırasında akut renal yetmezlik gelişebilir; serum kreatinin (Cr) düzeyinde artış, üremi ve hematüri gelişebilir. Bu yüzden nefrotoksisite, MTX'in önemli yan etkilerindendir (24). Romatoid artritli hastalarda düşük doz MTX tedavisi sırasında da glomerüler ve tübüler fonksiyonlarda değişiklik bildirilmiştir (25, 26). MTX aracılı renal toksisitenin mekanizmaları arasında reaktif oksijen ürünlerinin gelişmesi (14, 24) sayılmaktadır.

Yapılan bir çalışmada intraperitoneal (ip) MTX uygulanan sıçanların kanında, karaciğer ve böbrek dokularında; myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinde artış, glutatyon seviyelerinde azalma ve Malondialdehid (MDA) seviyelerinde belirgin artış olduğunu bulmuşlardır (10). Başka bir çalışmada, MTX alan sıçanların böbrek dokularında Nitrik Oksit (NO) seviyelerinde artışı bildirmişlerdir (13). Bu nedenle MTX toksisitesinden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanması gerekliliği öne çıkmaktadır. Buna yönelik olarak da, dokuları MTX harabiyetinden korumak için antioksidan ajanlar denenmiş ve önemli ölçüde başarılı olunmuştur (10, 27, 28). Örneğin; ratlarda MTX kullanımıyla, karaciğer (Kc) dokularında MDA ve MPO düzeyleri artarken thiamin pirofosfat tedavisi ile düzeyler azalmıştır (29). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada, ratlarda MTX kullanımı ile Kc dokusunda düzeyi artan MDA ve MPO, Montelukast eklenmesi ile normal düzeylere çekilmiştir (30). Ratlarda MTX kullanımı ile serumda Tümör nekroz faktör-□ (TNF-□) düzeyinde artma, Kc dokusunda MDA ve MPO düzeylerinde artma görülürken, Resveratrol verilerek Kc dokusunda biyokimyasal düzelme sağlanmış (31). Kurkimin ve üzüm çekirdeği ekstresi gibi ajanlarla da, Kc dokusunda MTX'e bağlı gelişen oksidatif hasarın biyokimyasal olarak düzeltilebildiği gösterilmiştir (32, 33). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, MTX ile oluşturulan Kc hasarında kullanılan □-karoten, biyokimyasal iyileşme sağlamıştır (34). Ratlarda MTX kullanımı ile böbrek dokusunda MDA düzeylerinde artma, Süperoksid Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) düzeylerinde azalma, serum kan üre nitrojeni (BUN), Cr ve TNF-□ düzeylerinde saptanmış ve bulgular bir antioksidan olan Pentoksifilin ile düzeltilmiştir (24). Ratlarda MTX kullanımı ile böbrek dokusunda SOD, Katalaz (CAT), GSH-Px aktivitesindeki azalma, MDA düzeyindeki artma antioksidan Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) ile düzelmiş (27). Ratlarda MTX aracılı oksidatif renal hasar modelinde renal dokuda MDA ve MPO düzeyleri ile birlikte SOD ve CAT enzim aktivitelerinde de artış gözlenmiş ve N-Asetilsistein (NAC) ile değerler düşürülmüştür (35). MTX-aracılı oluşturulan mitokondriyal oksidatif stresle birlikte azalan GSH-Px aktivitesinin, □-lipoik asit ile arttığı görülmüş (36).

Sonuçta; Metotreksat'ın karaciğer ve böbrekte oluşturduğu doku hasarında oksidatif stresin büyük rolünün bulunduğu ortaya konmuştur. Metotreksat

yanında antioksidan verilmesinin olumlu sonuçlar doğurduğu kanıtlanmıştır. Bundan sonraki aşama, Metotreksat'ın endike olduğu klinik durumlarda karaciğer ve böbrekte oluşacak olan oksidatif hasarın azaltılması için tedavi protokolüne antioksidanların da eklenmesidir.

Kaynaklar

1. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 12 ed. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2009. 328-618
2. 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. Seminars in arthritis and rheumatism. 1998 Apr;27(5):277-92.
3. Rubino FM. Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites. Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications. 2001 Nov 25;764(1-2):217-54.
4. Chladek J, Martinkova J, Sispera L. An in vitro study on methotrexate hydroxylation in rat and human liver. Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca. 1997;46(5):371-9.
5. Madhyastha S, Somayaji SN, Rao MS, Nalini K, Bairy KL. Hippocampal brain amines in methotrexate-induced learning and memory deficit. Canadian journal of physiology and pharmacology. 2002 Nov;80(11):1076-84.
6. Quemeneur L, Gerland LM, Flacher M, Ffrench M, Revillard JP, Genestier L. Differential control of cell cycle, proliferation, and survival of primary T lymphocytes by purine and pyrimidine nucleotides. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 2003 May 15;170(10):4986-95.
7. Kishi T, Tanaka Y, Ueda K. Evidence for hypomethylation in two children with acute lymphoblastic leukemia and leukoencephalopathy. Cancer. 2000 Aug 15;89(4):925-31.
8. Norris RE, Adamson PC. Clinical potency of methotrexate, aminopterin, talotrexin and pemetrexed in childhood leukemias. Cancer chemotherapy and pharmacology. 2010 May;65(6):1125-30.
9. Hedman J, Seideman P, Albertioni F, Stenius-Aarniala B. Controlled trial of methotrexate in patients with severe chronic asthma. European journal of clinical pharmacology. 1996;49(5):347-9.
10. Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, Yegen BC, Sener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. Journal of pineal research. 2003 May;34(4):282-7.
11. Abraham P, Kolli VK, Rabi S. Melatonin attenuates methotrexate-induced oxidative stress and renal damage in rats. Cell Biochem Funct. 2010 Jul;28(5):426-33.
12. Kolli VK, Abraham P, Isaac B, Selvakumar D. Neutrophil infiltration and oxidative stress may play a critical role in methotrexate-induced renal damage. . Chemotherapy. 2009 55(2):83-90.
13. Uz E, Oktem F, Yilmaz HR, Uzar E, Ozguner F. The activities of purine-catabolizing enzymes and the level of nitric oxide in rat kidneys subjected to methotrexate: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. Molecular and cellular biochemistry. 2005 Sep;277(1-2):165-70.
14. Babiak RM, Campello AP, Carnieri EG, Oliveira MB. Methotrexate: pentose cycle and oxidative stress. Cell biochemistry and function. 1998 Dec;16(4):283-93.
15. Devrim E, Cetin R, Kilicoglu B, Erguder BI, Avci A, Durak I. Methotrexate causes oxidative stress in rat kidney tissues. Renal failure. 2005;27(6):771-3.
16. Caetano NN, Campello AP, Carnieri EG, Kluppel ML, Oliveira MB. Effect of methotrexate (MTX) on NAD(P)+ dehydrogenases of HeLa cells: malic enzyme, 2-oxoglutarate and isocitrate dehydrogenases. Cell biochemistry and function. 1997 Dec;15(4):259-64.
17. Regina Maria V. Babiak APC, Eva G. S. Carnieri And Ma. Benigna M. Oliveira. Methotrexate: Pentose Cycle And Oxidative Stres. Cell Biochem Funct. 1998;16:283-93.
18. West SG. Methotrexate hepatoxicity. Rheumatic diseases clinics of North America. 1997;23:883-915.
19. Kevat S, Ahern M, Hall P. Hepatotoxicity of methotrexate in rheumatic diseases. Medical toxicology and adverse drug experience. 1988 May-Jun;3(3):197-208.
20. Uraz S, Tahan V, Aygun C, Eren F, Unluguzel G, Yuksel M, et al. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver toxicity. Digestive diseases and sciences. 2008 Apr;53(4):1071-7.
21. Kamen BA, Nylen PA, Camitta BM, Bertino JR. Methotrexate accumulation and folate depletion in cells as a possible mechanism of chronic toxicity to the drug. British journal of haematology. 1981 Nov;49(3):355-60.
22. Hempel L, Misselwitz J, Fleck C, Kentouche K, Leder C, Appenroth D, et al. Influence of high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) on glomerular and tubular kidney function. Medical and pediatric oncology. 2003 Jun;40(6):348-54.
23. Izzedine H, Launay-Vacher V, Karie S, Caramella C, de Person F, Deray G. Is low-dose methotrexate nephrotoxic? Case report and review of the literature. Clinical nephrology. 2005 Oct;64(4):315-9.
24. Asvadi I, Hajipour B, Asvadi A, Asl NA, Roshangar L, Khodadadi A. Protective effect of pentoxyfilline in renal toxicity after methotrexate administration. European review for medical and pharmacological sciences. 2011 Sep;15(9):1003-9.
25. Ahmad S, Shen FH, Bleyer WA. Methotrexate-induced renal failure and ineffectiveness of peritoneal dialysis. Archives of internal medicine. 1978 Jul;138(7):1146-7.
26. Seideman P, Muller-Suur R. Renal effects of aspirin and

low dose methotrexate in rheumatoid arthritis. Annals of the rheumatic diseases. 1993 Aug;52(8):613-5.
27. Oktem F, Yilmaz HR, Ozguner F, Olgar S, Ayata A, Uzare E, et al. Methotrexate-induced renal oxidative stress in rats: the role of a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. Toxicology and industrial health. 2006 Jul;22(6):241-7.
28. Bilska A, Wlodek L. Lipoic acid - the drug of the future? Pharmacological reports : PR. 2005 Sep-Oct;57(5):570-7.
29. Demiryilmaz I, Sener E, Cetin N, Altuner D, Suleyman B, Albayrak F, et al. Biochemically and histopathologically comparative review of thiamine's and thiamine pyrophosphate's oxidative stress effects generated with methotrexate in rat liver. Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research. 2012 Dec;18(12):475-81.
30. Kose E, Sapmaz HI, Sarihan E, Vardi N, Turkoz Y, Ekinci N. Beneficial effects of montelukast against methotrexate-induced liver toxicity: a biochemical and histological study. TheScientificWorldJournal. 2012;2012.
31. Tunali-Akbay T, Sehirli O, Ercan F, Sener G. Resveratrol protects against methotrexate-induced hepatic injury in rats. Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques. 2010;13(2):303-10.
32. Hemeida RA, Mohafez OM. Curcumin attenuates methotraxate-induced hepatic oxidative damage in rats. Journal of the Egyptian National Cancer Institute. 2008 Jun;20(2):141-8.
33. Cetin A, Kaynar L, Kocyigit I, Hacioglu SK, Saraymen R, Ozturk A, et al. Role of grape seed extract on methotrexate induced oxidative stress in rat liver. The American journal of Chinese medicine. 2008;36(5):861-72.
34. Vardi N, Parlakpinar H, Cetin A, Erdogan A, Cetin Ozturk I. Protective effect of beta-carotene on methotrexate-induced oxidative liver damage. Toxicologic pathology. 2010 Jun;38(4):592-7.
35. Cetinkaya A, Kurutas EB, Bulbuloglu E, Kantarceken B. The effects of N-acetylcysteine on methotrexate-induced oxidative renal damage in rats. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. 2007 Jan;22(1):284-5.
36. Tabassum H, Parvez S, Pasha ST, Banerjee BD, Raisuddin S. Protective effect of lipoic acid against methotrexate-induced oxidative stress in liver mitochondria. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2010 Jul;48(7):1973-9.