



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2020; 34 (1): 43 - 47  
http://www.fusabil.org

Emre KAYA <sup>1, a</sup>  
Seval YILMAZ <sup>1, b</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0002-7445-3091

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0001-5472-3560

### Deneysel Olarak Metotreksat Uygulanmış Ratlarda Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Enginar Uygulamasının Etkisi

Çalışmada, metotreksat (MTX) uygulanmış ratların kan dokusunda oksidatif stres ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine enginar uygulamasının etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Wistar-Albino erkek ratlar; kontrol grubu, enginar uygulanan grup, MTX uygulanan grup ve MTX+enginar uygulanan grup şeklinde dört gruba ayrılmıştır. MTX ve enginar uygulamalarına aynı anda başlanmıştır. Enginar 1.5 g/kg/gün vücut ağırlığı dozunda gavaj yoluyla 9 gün süre ile uygulanmış, MTX ise 7 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal olarak 3 gün uygulanmıştır. Dokuz günlük deney periyodunun sonunda tüm ratlar sakrifiye edilmiş ve kan dokusu örnekleri antikoagülan içeren tüplere alınmıştır. Çalışmada, enginarın MTX kaynaklı hasar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri, katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ölçülmüştür. MTX uygulanan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA (P<0.001) düzeylerinde anlamlı artışlar saptanırken, GSH (P<0.001) düzeyleri ile KAT (P=0.001), GSH-Px (P=0.001) ve SOD (P<0.001) aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı düşüşler gösterdiği belirlenmiştir. MTX+enginar uygulanan grupta tüm parametrelere ait değerler kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. MTX+enginar uygulanan grup MTX uygulanan grup ile karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin düştüğü, GSH düzeyleri ile KAT ve GSH-Px aktivitelerinin arttığı, SOD aktivitelerinin ise değişmediği gözlenmiştir. Sonuçta enginarın MTX'in neden olduğu toksisiteyi azaltmada kullanılabilecek doğal bir antioksidan olabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Metotreksat, enginar, malondialdehid, glutatyon, antioksidan

#### Influence of Artichoke Administration on Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in Experimentally Methotrexate Administered Rats

In this study, it was aimed to investigate the effect of artichoke administration on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in blood tissue of methotrexate (MTX) administered rats. Male Wistar-Albino rats were divided into four groups as described; control group, artichoke treated group, MTX treated group and MTX+artichoke treated group. MTX and artichoke applications were started at same time. Artichoke was applied at a dose of 1.5 g/kg/day body weight for 9 days by gavage, while MTX was administered intraperitoneally at a dose of 7 mg/kg/day for 3 days. At the end of the 9-day experiment period, all animals were sacrificed and blood tissue samples were removed into anticoagulant containing tubes. In this study, malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) levels, catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) activities were measured to determine the effects of artichoke on MTX-induced damage. In MTX treated group, MDA levels (P<0.001) were detected to significant increases while GSH (P<0.001) levels, CAT (P=0.001), GSH-Px (P=0.001) and SOD (P<0.001) activities were detected to significant decreases when compared with control group. In MTX+artichoke group, the values of all parameters approached the control group values. When MTX+artichoke group was compared with MTX group, it was observed that MDA and GSH levels decreased, KAT and GSH-Px activities increased, and SOD activities did not change. It was concluded that artichoke can be a natural antioxidant that can be used to reduce toxicity caused by MTX.

**Key Words:** Methotrexate, artichoke, malondialdehyde, glutathione, antioxidant

Geliş Tarihi : 30.12.2019  
Kabul Tarihi : 24.01.2020

#### Yazışma Adresi Correspondence

Emre KAYA  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Elazığ – TÜRKİYE

emrekaya@firat.edu.tr

#### Giriş

Metotreksat (MTX), kanser ve otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılan bir antifolat ve antimetabolit ilaçtır. MTX birçok kanser, romatoid artrit, sedef hastalığı, immünolojik anormallik ve sistemik inflamasyonu tedavi etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (1, 2). Bu antimetabolitler, proteinlerin, RNA, DNA ve hücrenin diğer temel bileşenlerinin sentez zincirinde farklı aşamalarda substrat veya koenzim olarak hareket eden çeşitli doğal metabolitlerin analoglarıdır ve bu antimetabolitler genellikle yüksek tip proliferasyon fraksiyonlu tümörlerde etkilidir (3). Birçok kemoterapötik ajanda olduğu gibi MTX da kanser hücreleri için yüksek oranda seçicilik gösterememekte, aynı zamanda yüksek çoğalma oranına sahip olan normal hücreleri de etkilediği bilinmektedir. Birçok dokuda meydana gelen toksisite ve lipid peroksidasyon MTX'in klinik kullanımını sınırlayan etkilerin başında gelmektedir (4).

MTX ile indüklenen toksisitenin kesin mekanizması hala bilinmemekle birlikte, reaktif oksijen türleri (ROT)'nin oluşumuna bağlı oksidatif stresin meydana geldiği hipotezi üzerinde durulmaktadır. Proksidan ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik nedeniyle ROT (süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve

hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>)'nin aşırı üretimi oksidatif stres sırasında hücreyi oksidatif strese doğru iter. Bunun akabinde endojen antioksidan savunma mekanizmaları da hücreyi oksidatif hasardan koruyamaz ve hücre hasarı meydana gelir (5).

MTX, normal ve malign hücreler arasında ayırım yapamamakta ve dolayısıyla normal hücrelerde bile apoptoza ve lipid peroksidasyona neden olmaktadır (6). Diyete katılan antioksidanlar, kemoterapik ilaçlarından kaynaklanan bazı yan etkileri azaltarak veya önleyerek kemoterapinin antikanser etkilerini artırabilir. Bu amaçla birçok antioksidan denenmiş ve etkili oldukları belirtilmiştir (7, 8).

Enginar (*Cynara scolymus* L.), Kuzey Afrika'nın Güney Akdeniz bölgelerinden köken alan çok yıllık otsu bir bitkidir. Antik çağdan beri enginarın yaprakları koloretik, hepatoprotektif, diüretik, antioksidatif, antienflamatuar ve kolesterol sentezini inhibe edici etkilerinden dolayı bitkisel ilaçlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (9). Tüm bu etkilerin, enginarın içeriğinde bulunan luteolin, apigenin gibi flavonoidler ve sinarin, klorogenik asit gibi kafeoil kinik asit türevleri sayesinde meydana geldiği bilinmektedir. Bununla birlikte dispepsi ve bağırsak sendromu gibi durumlarda da sıkça kullanılmaktadır (10).

Çalışmada; ratların plazmasında malondialdehid (MDA), kan dokusunda redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ile katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri incelenerek, MTX'in oluşturabileceği toksisiteye karşı enginarın etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

**Hayvanlar ve Çalışma Düzeni:** Çalışma, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'nın izni ile yapılmıştır (Protokol No: 2017/27-48). Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme Ünitesi'nden temin edilen 28 adet 2.5 aylık erkek Wistar-Albino cinsi ratlar kullanılmış ve Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde araştırmanın deneysel bölümü gerçekleştirilmiştir. Ratlar, %60-65 düzeyinde nem, 25±2 °C sabit ısı ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olmak üzere standart şartlarda barındırılmış ve deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari rat yemi (pellet yem) ve musluk suyu *ad libitum* sağlanmıştır.

Ratlar dört gruba ayrılmış olup kontrol grubundaki ratlara herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Diğer gruplara sırasıyla; enginar, MTX ve MTX+enginar uygulanmıştır. Enginar yaprak ekstraktı Arı Mühendislik (Ankara/Türkiye) firmasından temin edilmiş ve ratlara günlük uygulanacak doz tartılarak distile suda çözülerek günlük olarak hazırlanmıştır. MTX ve enginar uygulamalarına aynı anda başlanmıştır. Enginar, 1.5 g/kg/gün vücut ağırlığı dozunda gavaj yoluyla 9 gün süre ile, MTX ise 7 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal (i.p.) olarak 3 gün süre ile uygulanmıştır.

MTX+enginar grubunda da MTX 7 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda i.p. olarak 3 gün süre ile enginar ise 1.5 g/kg/gün vücut ağırlığı dozunda gavaj yoluyla 9 gün süre ile uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan MTX ve enginar uygulama dozları daha önceki çalışmalara göre belirlenmiştir (11, 12). Çalışma sonunda kan dokusunda MDA, GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

**Biyokimyasal Analizler:** Dokuz günlük deney periyodunun sonunda tüm gruplardaki ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren tüplerde toplanmış ve plazmaların ayrılması için tüpler 10 dk boyunca +4 °C'de 3.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Plazma MDA, tam kan ise GSH ve GSH-Px tayini için kullanılmıştır. EDTA'lı kan örnekleri plazmaları ayırdıktan sonra serum fizyolojik ile 3 kez yıkanmış ve eritrositlerde KAT ve SOD aktiviteleri ile hemoglobin düzeyleri belirlenmiştir.

Plazma örneklerinde MDA düzeylerinde meydana gelen değişiklikler spektrofotometrik olarak Placer ve ark. (13)'dan modifiye edilmiş olan yöntemle göre ölçülmüştür. Bu metod lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır. GSH tayini Ellman (14) tarafından bildirilen metotla yapılmıştır. Bu yöntem, 5,5'dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ilave edildiğinde sülfidril gruplarının meydana getirdiği sarı rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi temeline dayanan bir yöntemdir. KAT aktivitesini belirlemek için Aebi metodu (15) kullanılmıştır. KAT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yıkımını katalizleyen bir enzimdir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in KAT enzimi tarafından yıkım hızı, 240 nm dalga boyunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in ışığı absorbe etmesinden faydalanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. GSH-Px aktivitesi ölçümü için Beutler metodu (16) kullanılmıştır. GSH-Px, GSH'un okside glutatyon (GSSG)'a oksidasyonunu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanarak katalizler. GSSG'un oluşum hızı glutatyon redüktaz (GR) reaksiyonu vasıtasıyla ölçülür. SOD aktivitesi Sun ve ark. (17)'nin modifiye ettikleri metoda göre tayin edilmiştir. SOD aktivite ölçümü, ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen O<sub>2</sub><sup>-</sup>'nin nitroblue tetrazolium (NBT)'u indirgeyerek renk oluşması esasına dayanan metot ile ölçülmüştür. Frankel ve ark. (18)'nin metodu hemoglobin düzeyi tayininde kullanılmıştır. Ferrisiyanür hemoglobindeki Fe<sup>+2</sup>'yi oksitleyerek +2 değerden +3 değerli demire çevirerek methemoglobine dönüşmesine neden olur. Bunu takiben potasyum siyanid ile stabil bir pigment olan siyanomethemoglobin meydana gelir. 546 nm'de siyanomethemoglobinin absorpsansı okunarak hemoglobin düzeyleri belirlenmiştir.

**İstatistiksel Analiz:** Elde edilen veriler ortalama ± standart hata olarak belirlenmiş ve istatistiksel analizler SPSS 22 programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin Shapiro-Wilk normallik testi sonucunda normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gruplar arasındaki değerlendirme için tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ve ileri analizler için de Tukey's HSD testi kullanılmıştır. P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (19).

## Bulgular

Tablo 1 kan dokusunda kontrol ve deney gruplarında MDA ve GSH düzeylerini, Tablo 2 ise KAT, GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini göstermektedir. Enginar uygulanan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. MTX uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA ( $P<0.001$ ) düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı buna karşılık GSH ( $P<0.001$ ) düzeyi ile KAT ( $P=0.001$ ), GSH-Px ( $P=0.001$ ) ve SOD ( $P<0.001$ ) aktivitelerinin anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. MTX+enginar uygulanan grupta tüm parametrelere ait değerler kontrol grubu değerleri düzeyine yaklaşmıştır. MTX+enginar uygulanan grup MTX uygulanan grup ile karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin düştüğü, GSH düzeyleri ile KAT ve GSH-Px aktivitelerinin ise arttığı belirlenmişken SOD aktivitelerinin değişmediği saptanmıştır.

## Tartışama

MTX ile ilişkili toksisitenin mekanizması tam olarak anlaşılmamış olsa da, son çalışmalar bunun oksidatif strese bağlı olabileceğini düşündürmektedir (5, 7, 20). Oksidatif hasar sonucu meydana gelen serbest radikaller organizmanın endojen savunma sistemini aşacak şekilde oluştuklarında metabolizma olumsuz etkilenmektedir. Lipid peroksidasyonun bir belirteci olan MDA düzeyindeki artış, birçok bileşik tarafından meydana gelmiş toksisite ve karsinojeninin ana belirtilerinden biridir (21, 22). Çalışmada, MTX uygulanmış ratların plazmasında MDA düzeylerindeki artış MTX'in oluşturduğu lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Birçok çalışmada farklı dozlarda MTX uygulaması sonrası birçok dokuda artmış MDA düzeyleri gösterilmiş ve bu artış oksidatif hasar sonucu meydana gelen serbest radikallerin etkilerine bağlanmıştır (7, 23). GSH, birçok toksik maddenin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. MTX, malik enzimin aktivitesini inhibe ederek hücre içi nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)'in azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda GSH metabolizmasında yer alan ve NADPH'ı kofaktör olarak kullanan GR'ın aktivitesinde azalma

meydana gelmekte, böylece GSSG'un GSH dönüşümü azalmaktadır (23, 24). Çalışmada meydana gelen GSH düzeylerindeki düşüş NADPH'in azalması ve MTX veya metabolitlerinin GSH ile konjugat meydana getirip vücuttan atılımını kolaylaştırması sırasındaki kullanımına bağlanmaktadır. MTX uygulanan grupta GSH-Px aktivitesindeki azalma ise, substratın (GSH) mevcudiyetindeki azalmaya ve ayrıca protein yapısındaki ROT kaynaklı değişikliklere bağlı olabilir (20, 24). KAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler ROT'lerine karşı ilk savunma hattını oluşturan enzimler olup, MTX uygulaması ile bu enzim aktivitelerinde düşüş belirlenmiştir. MTX'in neden olduğu oksidatif stresin KAT ve GSH-Px aktivitelerini düşürmesi, MTX'in sebep olduğu ROT'nin bu enzimler üzerine göstermiş olabileceği inhibisyon etkisi nedeniyle olabilir (20, 24).

Bazı çalışmalarda farklı dozlarda MTX uygulamasına bağlı olarak, dokularda oksidatif stres şekillendiği ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile antioksidan enzim aktivitelerinde değişimler olduğu bildirilmiştir (5, 7, 20, 23, 25-27). Dhanesha ve ark. (25) gerçekleştirdikleri in vitro çalışmada MTX uygulaması sonrası eritrositlerde MDA düzeylerinin arttığını, KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda E vitamini takviyesinin oksidatif stresi azalttığını, antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırdığını, MTX kemoterapisi ile birlikte E vitamini takviyesinin önemli olduğunu belirtmişlerdir. Elango ve ark. (26) psoriasisli hastalarda oksidatif stres üzerine MTX'in etkilerini değerlendirdikleri araştırmalarında MTX uygulaması sonrası plazma MDA düzeylerinin arttığını, KAT, SOD ve total antioksidan düzeylerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Doostan ve ark. (27) ratlarda nar çekirdeği ve kabağının metanolik ekstraktlarının MTX kaynaklı oksidatif stres ve lipid profili değişikliklerine karşı etkilerini araştırdıkları çalışmalarında MTX (10 mg/kg intramuskular) uygulaması sonrası istatistiksel olarak serum MDA düzeylerinin önemli derecede arttığını, serum SOD ve GSH-Px aktivitelerinin azaldığını, KAT ve total antioksidan kapasitenin değişmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacıların hepsi antioksidan enzimlerdeki ve lipid peroksidasyon düzeylerinde

**Tablo 1.** MTX uygulanan ratlarda enginarın plazma MDA ve tam kan GSH düzeyleri üzerine etkileri

Parametreler	Kontrol	Enginar	MTX	MTX+ Enginar	P
MDA (nmol/mL)	7.88±0.13 <sup>b</sup>	7.92±0.10 <sup>b</sup>	8.95±0.24 <sup>a</sup>	8.22±0.17 <sup>b</sup>	P<0.001
GSH (µmol/mL)	47.09±0.95 <sup>a</sup>	46.66±1.13 <sup>a</sup>	40.57±1.11 <sup>b</sup>	46.53±0.98 <sup>a</sup>	P<0.001

<sup>a, b</sup>: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P<0.05$ ).

**Tablo 2.** MTX uygulanan ratlarda enginarın kan dokusunda KAT, GSH-Px ve SOD aktiviteleri üzerine etkileri

Parametreler	Kontrol	Enginar	MTX	MTX+ Enginar	P
KAT (k/g Hb)	55.06±1.45 <sup>a</sup>	52.28±3.09 <sup>a</sup>	33.08±2.93 <sup>b</sup>	58.29±7.18 <sup>a</sup>	P=0.001
GSH-Px (U/mg Hb)	548.27±34.03 <sup>a</sup>	525.75±28.33 <sup>a</sup>	385.04±25.34 <sup>b</sup>	519.96±20.03 <sup>a</sup>	P=0.001
SOD (U/g Hb)	75.07±1.32 <sup>a</sup>	71.37±2.14 <sup>a</sup>	60.26±2.99 <sup>b</sup>	68.03±2.03 <sup>ab</sup>	P<0.001

<sup>a, b</sup>: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P<0.05$ ).

meydana gelen bu değişiklikleri  $O_2^-$  düzeylerindeki yükselişle ve MTX uygulaması sonrası artmış ROT üretimi sonucu meydana gelen oksidatif stres ve antioksidan sistemdeki dengenin bozulması ile açıklamışlardır.

Ali ve ark. (7) rat karaciğerinde MTX kaynaklı apoptoz, inflamasyon ve oksidatif strese karşı klorojenik asidin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında MTX (20 mg/kg tek doz i.p.) uygulaması sonrası lipid peroksidasyon düzeylerinin arttığını, KAT, GSH-Px, SOD, GR gibi antioksidan enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinin azaldığını belirlemişlerdir. El-Sheikh ve ark. (23) ratlarda MTX (20 mg/kg tek doz i.p.) uygulaması sonrası karaciğer ve böbrek dokusunda çörek otunun aktif bileşeni olan timokinonun etkilerini inceledikleri çalışmalarında, Mahmoud ve ark. (28) MTX (20 mg/kg tek doz i.p.) uygulaması sonrası ratların serebrumunda berberinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, Heidari Khoei ve ark. (29) MTX (30 mg/kg oral gavaj) uygulaması sonrası farelerin testis dokusunda astaksantin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, Morsy ve ark. (30) ratlarda MTX (7 mg/kg/gün i.p. 3 gün) uygulaması sonrası böbrek dokusunda zerdeçaldaki ana biyoaktif madde olan *kurkuminin* etkilerini inceledikleri çalışmalarında, gerçekleştirdiğimiz çalışmaya benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Araştırmacılar (7, 23, 28-30) elde etmiş oldukları sonuçları, MTX'in oksidatif bir özelliğe sahip olmasına, oksidatif strese sebep olarak antioksidan enzimlerin etkinliğini düşürmesine ve hayati öneme sahip doku ve organlarda lipid peroksidasyon düzeyini artırmasına bağlamışlardır.

Hücresele antioksidan sistemi ROT'nin neden olduğu hasarın minimum düzeye düşürülmesine yardımcı olur. Genellikle, antikanser ilaçlarının toksik yan etkilerini en aza indirmek için bazı antioksidan ajanların kullanımının faydalı olabileceği düşünülmektedir (8). Çalışmada meydana gelen toksisitenin MTX kaynaklı oksidatif strese ve hücre membranında oluşan hasara bağlı olarak meydana geldiği düşünülmektedir. MTX ile birlikte uygulanan enginarın MDA düzeyini azaltması, antioksidan enzim aktivitelerini artırması oksidatif hasara karşı bir koruma oluşturduğu anlamına gelmektedir. Çeşitli

çalışmalarda, enginarın antioksidan etkisi sinarin, klorojenik asit ve flavonoidler gibi bileşenlerin metalik iyonu şelatlama ve radikal süpürme etkilerine bağlanmıştır (8, 10, 11).

MTX gibi birçok kemoterapötik ajanının tedavi amaçlı kullanımı esnasında meydana gelebilecek yan etkilerin veya oksidatif stresin hafifletilmesi amacıyla antioksidanların kullanımına başvurulmuştur (8, 31-33). Sharma ve ark. (31, 32) ratlarda kemoterapötik bir ajan olan sisplatinin toksik etkilerine karşı enginarın etkilerini değerlendirdikleri iki farklı çalışmada hepatotoksisite ve nefrotoksisite üzerine iki farklı dozda uyguladıkları hidro alkolik enginar ekstresi (150 mg/kg ve 300 mg/kg oral) ile artmış olan MDA düzeylerinin azaldığını, antioksidan enzim aktivitelerinin de genel olarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığını bildirmişlerdir. Yılmaz ve Kaya (8), ratlarda siklofosamid ile oluşturulmuş mesane toksisitesinde propolis ve enginarın etkilerini inceledikleri çalışmalarında MDA, GSH düzeyleri ile antioksidan enzim aktivitelerinin propolis ve enginar uygulaması sonrası normal değerlere ulaştığını belirlemişlerdir. Mustafa ve ark. (33) ratlarda güçlü kemoterapötik özelliğe sahip doksorubisinin toksik etkilerine karşı enginar ve koenzim Q10'un etkilerini inceledikleri çalışmada oksidatif ve nitrozatif stres faktörlerinin genel olarak enginar ve koenzim Q10 uygulamaları ile düzeldiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, mantar toksisitesi (11), yüksek yağlı diyetle bağlı kardiyotoksisite (34), karbon tetraklorür toksisitesi (35, 36) gibi birçok durumdan dolayı meydana gelen oksidatif stres ve toksisiteye karşı enginar uygulamasının kullanılabileceği ve etkili olabileceği gösterilmiştir.

Çalışmada, enginar uygulaması sonrası plazma MDA konsantrasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinin kontrol grubu değerlerine yaklaşması enginarın MTX kaynaklı oksidatif stres ve hasarı azaltıcı bir rol oynadığını göstermektedir. Sonuç olarak; gerçekleştirilmiş olan bu çalışma ile enginarın, kemoterapötik bir ilaç olan MTX'in yan etkilerinin azaltılmasında etkili bir doğal antioksidan olabileceği kanaatine varılmıştır.

## Kaynaklar

1. Koyama S, Sato E, Takamizawa A, et al. Methotrexate stimulates lung epithelial cells to release inflammatory cell chemotactic activities. *Exp Lung Res* 2003; 29: 91-111.
2. Turesson C, Matteson EL. Genetics of rheumatoid arthritis. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 94-101.
3. Loehry CA, Creamer B. Three-dimensional structure of the rat small intestinal mucosa related to mucosal dynamics. I. Mucosal structure and dynamics in the rat after the administration of methotrexate. *Gut* 1969; 10: 112.
4. Fuksa L, Brckova E, Kolouchova G, et al. Dexamethasone reduces methotrexate biliary elimination and potentiates its hepatotoxicity in rats. *Toxicology* 2010; 267: 165-171.
5. Mukherjee S, Ghosh S, Choudhury S, et al. Pomegranate reverses methotrexate-induced oxidative stress and apoptosis in hepatocytes by modulating Nrf2-NF- $\kappa$ B pathways. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 2040-2050.
6. Czaplinska M, Czepas J, Gwozdziński K. Structure, antioxidative and anticancer properties of flavonoids. *Postepy Biochem* 2012; 58: 235-244.
7. Ali N, Rashid S, Nafees S, et al. Protective effect of chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental approach. *Chem Biol Interact* 2017; 272: 80-91.
8. Yılmaz S, Kaya E. Ratlarda siklofosamid ile oluşturulmuş hemorajik sistitte propolis ve enginarın koruyucu etkileri. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2018; 32: 93-98.

9. Gebhardt R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 144: 279-286.
10. Holtmann G, Adam B, Haag S, et al. Efficacy of artichoke leaf extract in the treatment of patients with functional dyspepsia: A six-week placebo-controlled, double-blind, multicentre trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 1099-1105
11. Kaymaz MB, Kandemir FM, Pamukcu, E, Eröksüz Y, Özdemir N. Effects of aqueous artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract on hepatic damage generated by alpha-amanitine. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2017; 23: 155-160.
12. Dalaklioglu S, Genc GE, Aksoy NH, Akcıt F, Gumuslu S. Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Hum Exp Toxicol* 2013; 32: 662-671.
13. Placer ZA, Cushmann LL, Johnson BG. Estimation of products of lipid peroxidation in biological systems. *Anal Biochem* 1960; 16: 359-364.
14. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.
15. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU (Editor). *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd Edition, Weinheim: Verlag Chemie, 1974: 673-678.
16. Beutler E. *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods*, 3rd Edition, Orlando: Grune & Stratton, 1984.
17. Sun Y, Oberly LW, Ying LA. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
18. Frankel S, Reitman S, Sonnen AC. A textbook on laboratory procedure and their interpretation. In: Gradwohl RBH. (Editor). *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. 1st Edition, USA, St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1970; 403-404.
19. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik. Güncellenmiş 2. Basım, Ankara: NOBEL Akademik Yayıncılık, 2015.
20. Pinheiro FV, Pimentel VC, De Bona KS, et al. Decrease of adenosine deaminase activity and increase of the lipid peroxidation after acute methotrexate treatment in young rats: Protective effects of grape seed extract. *Cell Biochem Funct*. 2010; 28: 89-94
21. Kaya E, Yılmaz S, Çolakoğlu N. Ratlarda siklofosfamidin sebep olduğu kardiyotoksistide propolisin koruyucu rolü. *Ank Üni Vet Fak Derg* 2018; 66: 13-20.
22. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004; 57: 453-455.
23. El-Sheikh AA, Morsy MA, Abdalla AM, Hamouda AH, Alhaider IA. Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate-induced toxicity in rats. *Mediators of Inflammation*, 2015; 1-12.
24. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA. 2015.
25. Dhanesha M, Singh K, Bhoori M, Marar T. Impact of antioxidant supplementation on toxicity of methotrexate: An in vitro study on erythrocytes using vitamin E. *Asian J Pharm Clin Res* 2015; 8: 339-343.
26. Elango T, Dayalan H, Gnanaraj P, Malligarjunan H, Subramanian S. Impact of methotrexate on oxidative stress and apoptosis markers in psoriatic patients. *Clin Exp Med* 2014; 14: 431-437.
27. Doostan F, Vafafar R, Zakeri-Milani P, et al. Effects of pomegranate (*punica granatum* L.) seed and peel methanolic extracts on oxidative stress and lipid profile changes induced by methotrexate in rats. *Adv Pharm Bull* 2017; 7: 269-274.
28. Mahmoud AM, Fadel A, Ramadan SM, Hozayen WG. Berberine mitigates methotrexate-induced oxidative stress and inflammation in the cerebrum of rats. *J App Pharma Sci* 2017; 7: 43-49.
29. Heidari Khoei H, Fakhri S, Parvardeh S, et al. Astaxanthin prevents the methotrexate-induced reproductive toxicity by targeting oxidative stress in male mice. *Toxin Rev* 2019; 38: 248-254.
30. Morsy MA, Ibrahim SA, Amin EF, et al. Curcumin ameliorates methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Adv Pharmacol Sci* 2013; 1-7.
31. Sharma P, Raina R, Verma PK, et al. Hepatoprotective potential of cynara scolymus in cisplatin induced hepatotoxicity in rats. *J Vet Pharmacol Toxicol* 2018; 17: 57-62.
32. Sharma P, Raina R, Verma PK, et al. Nephroprotective potential of *Cynara scolymus* L. floral extract in cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *J Pharmacog Phytochem* 2019; 8: 2074-2082.
33. Mustafa HN, El Awdan SA, Hegazy GA, Jaleel GAA. Prophylactic role of coenzyme Q10 and *Cynara scolymus* L on doxorubicin-induced toxicity in rats: Biochemical and immunohistochemical study. *Indian J Pharmacol* 2015; 47: 649-656.
34. Ben Salem M, Affes H, Dhouibi R, et al. Effect of artichoke (*Cynara scolymus*) on cardiac markers, lipid profile and antioxidants levels in tissue of HFD-induced obesity. *Arch Physiol Biochem* 2019; 1-11.
35. Adzet T, Camarasa J, Laguna JC. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl<sub>4</sub> toxicity in isolated rat hepatocytes. *J Nat Prod* 1987; 50: 612-617.
36. Mehmetçik G, Ozdemirler G, Koc NT, Cevikbas U, Uysal M. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress. *Exp Toxicol Pathol* 2008; 60: 475-480.