

Düşük Doz Metotreksat ile Tedavi Edilen Psoriasis Vulgaris Hastalarında Homosistein, Folik Asit ve Vitamin B12 Düzeyleri

Rafet Koca*, A. Görkem Mungan**, H. Cevdet Altınyazar*, Sibel Yenidünya***, Emel Eşürk*, Neriman Aksu**

* Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı

** Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

*** Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Özet

Metotreksat (MTX) şiddetli psoriasis ve psoriatik artrit tedavisinde kullanılan bir folik asit (folat) analogudur. Düşük doz MTX tedavisinin homosistein (Hcy) ve folat düzeylerini etkilediği bildirilmiştir. Çalışmamızda psoriasis vulgaris hastalarında düşük doz MTX tedavisinin erken dönemde serum folat, vitamin B12 ve plazma Hcy seviyeleri üzerine etkisini araştırdık. Çalışmaya orta ve şiddetli psoriasis vulgaris tanısı konulan 16 (10 erkek, 6 kadın) hasta ile yaş ve cinsleri uyumlu 20 (12 erkek, 8 kadın) sağlıklı kontrol dahil edildi. Kontrol grubundan ve hastalardan MTX tedavisi öncesi serum folat, vitamin B12 ve plazma Hcy için venöz kan alındı. Hastalardan, 4 hafta süresince her hafta, 20 mg intramusküler MTX uygulandıktan 48 saat sonra folat, vitamin B12 ve plazma Hcy düzeyleri için tekrar kan örnekleri alındı. Hastaların ve kontrol grubunun tedavi öncesi folat ve plazma Hcy düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0.05$), vitamin B12 değerleri hastalarda kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük idi ($p<0.001$). Metotreksat sonrası folat seviyelerindeki azalma ve plazma Hcy seviyelerindeki artma tedaviye başlanmadan önceki değere göre anlamlı olmalarına rağmen, haftalar arasında anlamlı fark yoktu. Tedaviye başlanmadan önceki ölçülen folat ve plazma Hcy değerleri arasında negatif korelasyon mevcuttu ($\rho:-0,54$, $p>0.05$). Metotreksat tedavisi sonrası folat ve Hcy seviyeleri arasında ise korelasyon yoktu ($p<0.05$). Tedavi öncesi ve sonrası vitamin B12 ile Hcy seviyeleri arasında negatif korelasyon bulundu ($p>0.05$). Düşük doz MTX tedavisinin serum folat seviyesinde kısa süreli azalmaya ve plazma Hcy seviyesinde artmaya neden olduğu ve MTX tedavisi süresince Hcy seviyesinin artmadığı kanaatine vardık.

Anahtar Kelimeler: Metotreksat, psoriasis, homosistein, folik asit (folat), vitamin B12 (kobalamin)

Koca R, Mungan AG, Altınyazar HC, Yenidünya S, Eşürk E, Aksu N. Düşük doz metotreksat ile tedavi edilen psoriasis vulgaris hastalarında homosistein, folikasit ve vitamin B12 düzeyleri. TÜRKDERM 2005; 260-264.

Summary

Background and Design: Methotrexate (MTX), a folic acid (folate) analog, is used for treatment of severe psoriasis or psoriatic arthritis. It has been reported that the homocysteine (Hcy) and folate levels were affected by low dose MTX treatment. In this study we investigated the effect of low dose MTX treatment on folate, vitamin B12 and plasma Hcy levels of patients with psoriasis vulgaris at early phase.

Material and Method: Sixteen patients (10 males, 6 females) diagnosed as moderate and severe psoriasis vulgaris and age-sex matched twenty healthy subjects (12 males, 8 females) were included in the study. Blood samples were drawn from the both groups before initiation of MTX treatment for folate, vitamin B12 and plasma Hcy measurements. Again, after 48 hours following 20 mg intramuscular MTX injection, blood samples of patients were drawn for folate, vitamin B12 and plasma Hcy level measurements.

Results: While there were no significant differences in the folate and plasma Hcy levels between patients and healthy subjects ($p>0.05$), vitamin B12 levels were significantly lower in the patients than the controls ($p<0.001$). Although the decrease of folate and the increase of Hcy levels were significant compared to the initiation time of the treatment, there were no differences between the weeks. There was negative correlation between folate and Hcy levels before MTX treatment ($\rho:-0,54$, $p>0.05$). There was no correlation between folate and Hcy levels after MTX treatment ($p>0.05$). Negative correlation was found between vitamin B12 and Hcy levels before and after treatment ($p<0.05$).

Conclusion: We concluded that low dose MTX treatment cause transient decrease of serum folate levels and transient increase of plasma Hcy levels that did not increase throughout the MTX treatment.

Key Words: Methotrexate, psoriasis, homocysteine, folate, vitamin B12 (cobalamin)

Koca R, Mungan AG, Altınyazar HC, Yenidünya S, Eşürk E, Aksu N. Homocysteine, folate and vitamin B12 levels in patients with psoriasis vulgaris treated with low-dose methotrexate. TÜRKDERM 2005; 260-264.

Alındığı Tarih: 14.01.2005 **Kabul Tarihi:** 18.04.2005

Yazışma Adresi: Yrd. Doç. Dr. Rafet Koca, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Kozlu-Zonguldak, Tel: 0372 2610169-4102, Fax: 0372 2610155, E-posta: rafkoca@yahoo.com, rafetkoca@karaelmas.edu.tr

Metotreksat (MTX) birçok malinite, romatoid artrit, şiddetli psoriasis ve psoriatik artrit tedavisinde kullanılan bir folik asit (folat) analogudur. Folattan tetrahidrofolat oluşmasında görevli hücre içi dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek folinik asit oluşmasını engeller. Sonuç olarak protein, DNA ve RNA sentezi bloke edilir¹⁻³. Antiproliferatif etki dışında inflamatuvar cevabı inhibe ederek immünsüpresif etki de göstermektedir⁴.

Homosistein (Hcy) S-adenosilmetioninden transmetilasyonla oluşan bir sülfür aminoasittir. Homosistein oluşuktan sonra remetilasyonla metionine ya da sistine dönüşür. Metionine remetilasyon reaksiyonu için metionin sentaz enzimi, metil donorü olarak 5-metiltetrahidrofolat ve ko-faktör olarak metil kobalamin (vitamin B12) gereklidir. Homosistein üretim ve metabolizmasındaki denge bozukluğu hücre içi ve plazmadaki Hcy düzeyinin artmasına neden olacaktır. Folat ve vitamin B12 (kobalamin) eksikliğinde plazma Hcy konsantrasyonunun arttığı bilinmektedir^{5,6}. Bir çok çalışmada plazma Hcy düzeyinin folat deposunun göstergesi olduğu ve folat eksikliğinde arttığı bildirilmiştir^{7,9}. Yüksek plazma homosistein düzeyi kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörüdür^{10,11}. Bununla birlikte plazma homosisteinin normal düzeye indirilmesinin bu riski azaltıp azaltmayacağı bilinmemektedir.

Psoriasis hastalarında plazma homosistein düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir⁶. Düşük doz MTX kullanılan psoriasis hastalarında ilaç uygulandıktan kısa süre sonra plazma Hcy seviyelerinin düştüğü ve folat replasman tedavisi sonrası normal seviyeye geldiği gösterilmiştir^{6,12,13}. Amacımız psoriasis hastalarında düşük doz MTX tedavisi sırasında erken dönemde serum folat, vitamin B12 ve plazma Hcy seviyelerinin nasıl etkilendiğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji polikliniğinde klinik ve histopatolojik olarak orta ve şiddetli psoriasis vulgaris tanısı konulan 16 hasta ile yaş ve cinsleri uyumlu 20 sağlıklı kontrol kabul edildi. Çalışmaya alınan 16 hastanın 10'u (% 62.5) erkek, 6'sı (% 37.5) kadın olup, yaşları 25-62 yıl arasında (ortalama 39.4±8.2) idi. Hastalık süreleri 2 ile 23 yıl arasında olup, ortalama 9.8±5.5 yıl idi. Sağlıklı kontrol grubunu ise yaşları 26-67 yıl arasında (ortalama 37.2±9.6) olan 12 (%

60) erkek ve 8 (% 40) kadın oluşturmaktaydı. Çalışma öncesi Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. Şiddetli karaciğer ve böbrek bozukluğu, peptik ulkusu, kronik alkol kullanım hikayesi, enfeksiyon hastalığı olan, karaciğer fonksiyon testleri normal olmayan, MTX ile etkileşen ilaç kullanan hastalar, gebelik, laktasyondaki ve kontrasepsiyonu kabul etmeyen kadınlar çalışmaya alınmadı. Metotreksat tedavisi alan veya daha önce MTX tedavisi almış olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma protokolü: Çalışmaya alınan tüm hastalardan MTX tedavisi öncesi ve sağlıklı kontrollerden homosistein, folat ve vitamin B12 düzeyleri için oturur pozisyonda 8-12 saatlik açlık venöz kan alındı. Hastalardan 4 hafta süresince her hafta intramusküler MTX uygulandıktan 48 saat sonra, folat, vitamin B12 ve Hcy düzeylerini tespit etmek için açlık venöz kan örnekleri alındı. Metotreksata bağlı oluşabilecek yan etkiler nedeniyle tedavi süresince hastalardan her hafta hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri için açlık venöz kan örnekleri alındı.

Metotreksat tedavisi: Psoriasis vulgaris tanısı konulan tüm hastalara intramusküler yoldan haftada 20 mg MTX uygulandı.

Kan örneklerinin alınması: Folat ve vitamin B12 ölçümü için 8-12 saatlik açlık venöz kan örnekleri vakumlu Becton Dickinson marka jelli biyokimya tüplerine alınarak 3500 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Sonra serum örnekleri alınarak çalışılincaya kadar -80 derecede saklandı. Homosistein için venöz kan örnekleri vakumlu EDTA'lı tüplere alındıktan hemen sonra buz içine konulup, soğutmalı santrifüjde 3500 rpm de 5 dakika santrifüj edildikten sonra çalışılincaya kadar -80 derecede saklandı.

Folat, vitamin B12 ve homosistein düzeylerinin ölçümü: Folat ve vitamin B12 ELECYS 2010 marka hormon cihazında sandviç metotla elektrokemilüminesans yöntemle ölçüldü. Normal değerler; Folat için: 4,2-19,9 ng/ml, vitamin B12 için: 243-894 pg/ml¹⁴.

Homosistein, IMMULITE 2000 marka hormon cihazında, alkalin fosfatazla işaretli antikorlar kullanılarak kompetitif immunoassay metotla kemilüminesans yöntemle ölçüldü. Normal değerler: 5-12 µmol/l¹⁵.

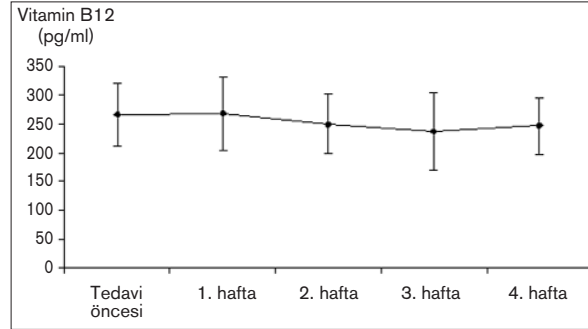
İstatistiksel analiz: Hastaların başlangıç ve kontrol grubunun folat, vitamin B12 ve Hcy değerlerini karşılaştırmak için Mann-Whitney U test, hasta grubunda MTX sonrası değerlerin karşılaştırılmasında Wilcoxon test ve Spearman'ın korelasyon testi kullanıldı. 0.05'in altındaki p değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

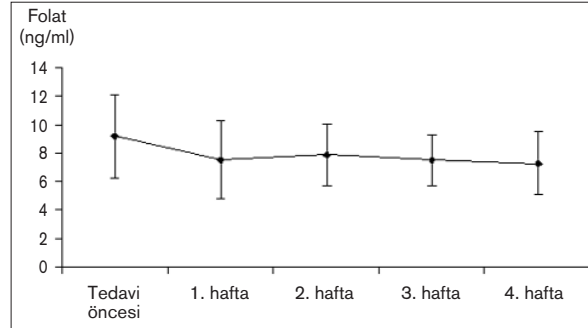
Çalışmaya kabul edilen hasta ve kontrol grubu arasında cins ve yaşlarına göre istatistiksel olarak fark yoktu. Hastaların MTX tedavisi öncesi vitamin B12 değerleri kontrol grubundan istatistiksel olarak daha düşük düzeyde idi ($p < 0.001$). Fakat tedavi öncesi folat ve plazma Hcy düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$). Her iki grubun MTX öncesi folat, vitamin B12 ve Hcy değerleri Tablo I'de, hastaların tedavi sonrası değerleri ise Tablo II'de görülmektedir.

Hastaların 1. ve 3. doz MTX tedavileri sonrası vitamin B12 değerlerinde değişiklik saptanmazken, 2. ve 4. doz MTX sonrası değerlerin tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı bulundu (2.doz MTX $p < 0.01$ ve 4. doz MTX $p < 0.01$) (Şekil 1). Hastaların 1'inci, 2'inci, 3'üncü ve 4'üncü doz MTX sonrası ölçülen folat düzeylerinde MTX tedavisine başlanmadan önceki düzeye göre istatistiksel olarak anlamlı azalma mevcut iken ($p < 0.05$), haftalar arasındaki folat seviyelerinde fark yoktu ($p > 0.05$) (Şekil 2). İlk ölçülen plazma Hcy değeri ile MTX sonrası ölçülen Hcy değerleri karşılaştırıldığın-

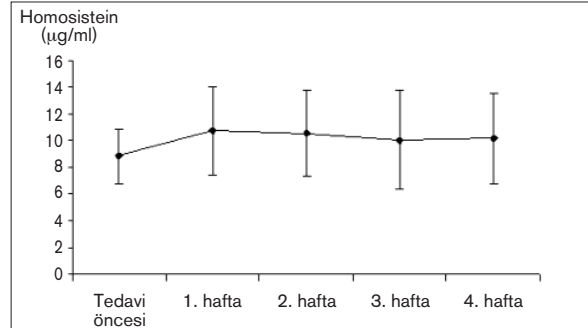
da istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Fakat haftalar arasındaki Hcy değerlerinde fark yoktu ($p > 0.05$) (Şekil 3).



Şekil 1: Tedavi öncesi ve sonraki haftalarda vitamin B12 düzeyleri.



Şekil 2: Tedavi öncesi ve sonraki haftalarda folat düzeyleri.



Şekil 3: Tedavi öncesi ve sonraki haftalarda homosistein düzeyleri.

Tablo I: Hasta ve kontrol grubunun tedavi öncesi bazal ortalama folat, vitamin B12 ve homosistein değerleri.

	Folat (ng/ml)	Vitamin B12 (pg/ml)	Homosistein (mmol/l)
Hasta (n:16)	9.15 ± 2.9	266.0 ± 53.9	8,8 ± 2.0
Kontrol (n:20)	8.6 ± 3.6	399.4 ± 101.9	9.7 ± 2.5

Değerler ortalama ± Standart sapma olarak gösterilmiştir.

Tablo II: Hastalarda metotreksat sonrası ölçülen değerler.

	1. hafta	2. hafta	3.hafta	4.hafta
Folat (ng/ml)	7.5 ± 2.7	7.9 ± 2.2	7.5 ± 1.8	7.3 ± 2.2
Vitamin B12 (pg/ml)	267.4 ± 64.0	249.8 ± 51.2	236.7 ± 67.1	246.8 ± 49.4
Homosistein (mmol/l)	10.7 ± 3.3	10.5 ± 3.2	10.0 ± 3.7	10.2 ± 3.4

Değerler ortalama ± Standart sapma olarak gösterilmiştir.

Metotreksat tedavisi öncesi ölçülen başlangıç folat ve plazma Hcy değerleri arasında anlamlı negatif korelasyon olmasına rağmen (rho: -0.54, $p < 0.05$), MTX tedavisine başlandıktan sonra ölçülen değerler arasında korelasyon tespit edilmedi (1. hafta rho: -0.46, $p > 0.05$; 2. hafta rho: -0.32, $p > 0.05$, 3. hafta rho: -0.31, $p > 0.05$; 4. hafta rho: -0.26, $p > 0.05$).

Başlangıçta (rho: -0.76, $p > 0.01$), 2'inci (rho: -0.76, $p < 0.01$), 3'üncü (rho: -0.63, $p < 0.01$) ve 4. haftada (rho: -0.60, $p > 0.05$) ölçülen plazma Hcy ve vitamin B12 değerleri arasında anlamlı negatif bir korelasyon olmasına rağmen, 1. hafta (rho: -0.44, $p < 0.05$) değerleri arasında korelasyon yoktu.

Tartışma

Plazma Hcy düzeyleri, kullanılan vitaminler ve farmakolojik ilaçlara bağlı olarak etkilenebilir^{5,16}. Vitamin B12, vitamin B6 veya folat eksikliğinde hafif veya orta düzeyde Hcy seviyeleri arttığı bilinmektedir. Homosisteinin remetilasyon reaksiyonu hücre içi yeterli düzeyde folatın ve ko-faktör olarak da vitamin B12 varlığı ile mümkündür⁵.

Çalışmamızda psoriasis hastalarında düşük doz MTX tedavisinin erken döneminde (ilk 4 hafta) folat, vitamin B12 ve plazma Hcy düzeylerindeki değişiklikler incelendi. Yapılan çalışmalarda psoriasis hastalarında sağlıklı kişilere oranla folat seviyelerinin düştüğü, Hcy seviyelerinin arttığı bildirilmiştir¹⁷⁻¹⁹. Çalışmamızda ise daha önce bildirilen araştırmaların aksine psoriasis hastalarında vitamin B12 düzeyi daha düşük olmasına rağmen, folat ve Hcy seviyelerinde değişiklik bulamadık. Refsum ve arkadaşları folat eksikliği olmamasına rağmen, psoriasis hastalarında folat düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir⁶. Psoriasis hastalarında hızlanmış keratinosit döngüsü sonucu folat kullanımının artmasına veya skuamlarla birlikte folat kaybının artmasına bağlı olarak folat düzeyinin azalabileceği kabul edilmektedir¹⁸. Fakat çalışmamızda böyle bir sonuç saptamadık.

Yapılan araştırmalarda MTX verilen hastalarda Hcy ve folat düzeylerindeki değişikliklerin oluşma süresi değişkenlik göstermesine rağmen ortalama 3 gün içinde gerçekleştiği bildirilmektedir⁶. Ayrıca MTX'in akut dönemde (ilk 24 saat) folat ve karaciğer enzimlerinde artışa neden olabileceği vurgulanmıştır¹⁸. Bu

nedenle çalışmamızda hastalardan kan örnekleri MTX uygulandıktan 48 saat sonra alındı.

Psoriasis hastalarına MTX verildikten sonra plazma Hcy seviyelerinde geçici bir artış olduğu saptanmıştır. Plazma Hcy seviyesindeki bu geçici artışın psoriasis ve kanser hastalığı tedavisinde kullanılan değişik dozlardaki MTX ile (25mg - 33.3mg/m²) olduğu gösterilmiştir^{6,12,13,20}. Metotreksatın kısa süreli etkisinin bir sonucu olarak, hücre içi folat konsantrasyonu azalmakta ve bunun sonucu hücre dışına Hcy transferi artmaktadır²¹. Çalışmamızda da tedavi öncesi folat değerleri 1'inci, 2'inci, 3. ve 4. haftada ilk değere göre istatistiksel olarak anlamlı azalmasına rağmen, haftalar arasında anlamlı fark yoktu. Benzer şekilde MTX sonrası ölçülen Hcy seviyeleri ilk değere göre anlamlı artmış olmasına rağmen, haftalar arasında fark bulamadık. Sonuçlarımız, daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi^{6,17,18}, folat seviyesindeki azalmanın ve Hcy seviyesindeki artmanın MTX tedavisi süresince geçici olduğunu göstermektedir. Başka bir çalışmada ise MTX kullanan ve kullanmayan romatoid artritli hastalarda plazma Hcy düzeyleri arasında fark olmadığı ve MTX'in plazma Hcy seviyesi üzerine anlamlı düzeyde etkisi bulunmadığı bildirilmiştir²². Folat eklenmesinin plazma Hcy seviyesini azalttığı, fakat bu etkinin anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Morgan ve arkadaşları da benzer şekilde romatoid artritli olgularda tedavi sonrası ve öncesi plazma Hcy seviyelerinde anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir²¹.

Sağlıklı kişilerde serum folat ve vitamin B12 ile plazma Hcy arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir⁶. Çalışmamızda MTX tedavisine başlamadan önce folat ile Hcy arasında negatif bir korelasyon vardı. Fakat MTX sonrası ölçülen değerler arasında korelasyon saptayamadık. Bu sonuçlar Morgan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı desteklemektedir²¹. Oysa vitamin B12 ile plazma Hcy arasında MTX öncesi ve sonrası anlamlı derecede negatif bir korelasyon tespit ettik. Metotreksat kullanılan psoriasis hastalarında hücre içi vitamin B12 seviyesinin düşük, serum seviyelerinin normal olduğu bildirilmiş ve bu nedenle folat düzeyindeki azalmanın hücre içi vitamin B12 eksikliği ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir²³. Hastalarımızda vitamin B12 seviyeleri kontrole göre düşük olmasına rağmen hücre içi düzeyleri değerlendirmedik. MTX tedavisi sırasında 2. ve 4. haftalarda vitamin B12 değerlerinde azalma olduğunu saptadık.

Düşük doz MTX kullanılan hastalarda tedaviye folat eklenmesinin MTX'e bağlı oluşan gastrointestinal şikayetleri ve hepatotoksik yan etkileri en aza indirdiği, fakat folik asidin MTX'in klinik etkinliğini azaltabileceği bildirilmiştir^{24,25}. Tedaviye eklenen folatın artmış plazma Hcy seviyelerini normal düzeye indirdiğini gösteren çalışmalar^{19,23,24} olmasına rağmen, plazma Hcy'nin etkilenmediğini bildirenler de vardır²¹. Artmış plazma Hcy seviyelerinin kardiyovasküler hastalık için risk oluşturduğu bilinmektedir. Tedaviye folat eklenmesinin bu riski azaltacağı fikri önemle vurgulanmaktadır. Folatın dozu ve ne kadar süre ile kullanılacağı tartışmalı olmakla birlikte, MTX'in uygulandığı gün haricinde 5 mg/gün folik asidin yeterli olacağı bildirilmiştir^{24,25}.

Sonuç olarak, çalışmamızda 20 mg MTX enjeksiyonu yapıldıktan 48 saat sonraki folat seviyesindeki azalma ve Hcy seviyesindeki artış başlangıç değerine göre anlamlı idi. Fakat haftalar arasında anlamlı fark bulamadığımız için bu değişikliklerin geçici olduğunu düşünüyoruz. Nitekim Morgan ve arkadaşları MTX'e bağlı folat ve Hcy'deki değişikliklerin tedaviden 3-7 gün sonra normale döndüğünü göstermişlerdir²¹. Ayrıca, başlangıçta ölçülen Hcy ve folat değerleri arasında negatif bir korelasyon varken, MTX tedavisinden sonra ölçülen değerler arasında korelasyon bulamamız bunu desteklemektedir.

Kaynaklar

- Cather J, Menter A: Novel therapies for psoriasis. *Am J Clin Dermatol* 2002; 3: 159-173.
- Kuijpers AL, van de Kerkhof PC: Risk-benefit assessment of methotrexate in the treatment of severe psoriasis. *Am J Clin Dermatol* 2000; 1: 27-39.
- Baktır G: Dermatolojide sistemik tedavi. *Dermatoloji*. Ed. Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransu O. 2.baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 1994: 773.
- McClure SL, Valentine J, Gordon KB: Comparative tolerability of systemic treatments for plaque-type psoriasis. *Drug Saf* 2002; 25: 913-927.
- DeSouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V: Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs* 2002; 62: 605-616.
- Refsum H, Helland S, Ueland PM: Fasting plasma homocysteine as a sensitive parameter of antifolate effect: a study of psoriasis patients receiving low-dose methotrexate treatment. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46: 510-520.
- Chu RC, Hall CA: The total serum homocysteine as an indicator of vitamin B12 and folate status. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 446-449.
- Kang SS, Wong PW, Norusis M: Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; 36: 458-462.
- Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J: Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988; 81: 466-474.
- Bozkaya G, Çavuşoğlu A, Bilgili S, Karaca B, Cengiz E, Bilgir O: Homocysteine levels and other risk factors in coronary heart disease. *Turk J Med Sci* 2001; 31: 425-428.
- Özkan M, Erbil MK, Al Rashad M et al.: Fasting and post-methionine load plasma homocysteine levels in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Turk J Med Sci* 2003; 33: 161-166.
- Broxson EH Jr, Stork LC, Allen RH, Stabler SP, Kolhouse JF: Changes in plasma methionine and total homocysteine levels in patients receiving methotrexate infusions. *Cancer Res* 1989; 49: 5879-5883.
- Refsum H, Ueland PM, Kvinnsland S: Acute and long-term effects of high-dose methotrexate treatment on homocysteine in plasma and urine. *Cancer Res* 1986; 46: 5385-5391.
- Kubasik NP, Graham M, Sine HE: Storage and stability of folate and vitamin B12 in plasma and blood samples. *Clin Chim Acta* 1979; 95: 147.
- Malinov MR: Plasma homocysteine and arterial occlusive diseases: A mini review. *Clin Chem* 1995; 40: 173-176.
- Çalışkan S, Kuralay F, Önvural B: Cinsiyet, sigara içimi, folat ve vitamin B12'nin plazma homosistein konsantrasyonu üzerine etkileri. *T Klin J Med Sci* 2004; 24: 24-38.
- Duhra P, Hodgson C, Martin JA, Stableforth PJ: Intestinal folate absorption in methotrexate treated psoriatic patients. *Br J Dermatol* 1988; 119: 327-332.
- Hendel J, Nyfors A: Impact of methotrexate therapy on the folate status of psoriatic patients. *Clin Exp Dermatol* 1985; 10: 30-35.
- Slot O: Changes in plasma homocysteine in arthritis patients starting treatment with low-dose methotrexate subsequently supplemented with folic acid. *Scand J Rheumatol* 2001; 30: 305-307.
- Refsum H, Wesenberg F, Ueland PM: Plasma homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemia: changes during a chemotherapeutic regimen including methotrexate. *Cancer Res* 1991; 51: 828-835.
- Morgan SL, Baggott JE, Refsum H, Ueland PM: Homocysteine levels in patients with rheumatoid arthritis treated with low-dose methotrexate. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50: 547-556.
- Jensen OK, Rasmussen C, Mollerup F et al.: Hyperhomocysteinemia in rheumatoid arthritis: influence of methotrexate treatment and folic acid supplementation. *J Rheumatol* 2002; 29: 1615-1618.
- Leeb BF, Witzmann G, Ogris E et al.: Folic acid and cyanocobalamin levels in serum and erythrocytes during low-dose methotrexate therapy of rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: 459-463.
- Kirby B, Lyon CC, Griffiths CE, Chalmers RJ: The use of folic acid supplementation in psoriasis patients receiving methotrexate: a survey in the United Kingdom. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25: 265-268.
- Pınarbaşı A, Yılmaz E, Başaran E: Metotreksat verilen psoriasis vulgaris hastalarına folik asit desteği gerekli mi? (Poster). XX.Ulusal Dermatoloji Kongresi, Çeşme; 2004.