

Deneysel spinal kord yaralanmasında koenzim Q₁₀'un etkinliği

Efficiency of coenzyme Q₁₀ at experimental spinal cord injury

Alaeddin KERİMOĞLU,¹ Özgül PAŞAOĞLU,² Güngör KANBAK,³ Volkan HANCI,⁴
Filiz ÖZDEMİR,³ Metin Ant ATASOY⁵

AMAÇ

Bu çalışmada, metilprednizolon, koenzim Q₁₀ ve metilprednizolonla birarada koenzim Q₁₀ tedavilerinin deneysel spinal kord yaralanmasındaki etkinlikleri karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Sprague-Dawley cinsi 32 erkek sıçan (200-250 gr) dört gruba ayrıldı. Spinal kord hasarlanması ekstradural olarak T4-5 seviyesine yerleştirilen anevrizma klibi ile uygulandı. Travmanın ardından, grup K'ya (kontrol grubu) soya yağı, grup M'ye (metilprednizolon grubu) 30 mg.kg⁻¹ ardından idamede saatte 5,4 mg.kg⁻¹ dozunda metilprednizolon, grup Q'ya (koenzim Q₁₀ grubu) 10 mg.kg⁻¹ koenzim Q₁₀, grup MQ'ya (metilprednizolon ve koenzim Q₁₀ grubu) 30 mg.kg⁻¹ ardından idamede saatte 5,4 mg.kg⁻¹ dozunda metilprednizolon ile 10 mg.kg⁻¹ koenzim Q₁₀ intraperitoneal olarak verildi. Travmadan 24 saat sonra sıçanların spinal kord örnekleri alınarak histopatolojik ve biyokimyasal inceleme yapıldı.

BULGULAR

Histopatolojik incelemelerde grup K'da grup M, grup Q ve grup MQ'ya göre ödem şiddeti anlamlı olarak yüksekti (p<0,001). Grup M, grup Q ve grup MQ arasında ödem ve kanama açısından anlamlı farklılık yoktu (p>0,05). Ortalama süperoksit dismutaz değerleri diğer grupların tümünde grup K'ya göre, grup MQ'de grup M'ye göre anlamlı olarak daha düşüktü (p<0,05). Malonildialdehidin ortalama değerleri grup M, grup Q, grup MQ'da grup K'ya göre düşük olmasına rağmen arada anlamlı fark yoktu (p>0,05).

SONUÇ

Sonuç olarak metilprednizolon, koenzim Q₁₀ ve bu iki ajanın birlikte kullanımının ödemi azaltmada faydalı olduğu, koenzim Q₁₀'un deneysel spinal kord hasarında, ikincil hasarın önlenmesinde faydalı olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Koenzim Q₁₀; metilprednizolon; sıçanlar, Sprague-Dawley cinsi; spinal kord hasarı.

BACKGROUND

In this study, we aimed to compare the efficacy of methylprednisolone, coenzyme Q₁₀ and combined methylprednisolone and coenzyme Q₁₀ treatments on experimental spinal cord injury.

METHODS

Thirty-two male Sprague-Dawley rats (200-250 g) were divided into four groups. Spinal cord injury (SCI) was performed by placement of an aneurysm clip, extradurally at the level of T4-5. After the trauma, group K (control group) received soybean oil, group M (methylprednisolone group) received 30 mg.kg⁻¹ methylprednisolone and 5.4 mg.kg.hour⁻¹ maintenance dose of methylprednisolone, group Q (coenzyme Q₁₀ group) received 10 mg.kg⁻¹ coenzyme Q₁₀, group MQ (methylprednisolone and coenzyme Q₁₀ group) received 30 mg.kg⁻¹ methylprednisolone and 5.4 mg.kg.hour⁻¹ maintenance dose of methylprednisolone and 10 mg.kg⁻¹ coenzyme Q₁₀ intraperitoneally. Twenty-four hours after the trauma spinal cord samples of the rats were obtained and tissue samples had been harvested for both biochemical and histopathological evaluation.

RESULTS

In histopathological examination, the edema pattern was significantly more severe in group K than the group M, group Q and group MQ (p<0.001). There was no statistically significant difference between group M, group Q and group MQ regarding edema and bleeding (p>0.05). Mean superoxide dismutase (SOD) scores were significantly low while comparing the group K with all remaining groups and the group MQ comparing with the group M (p<0.05). Mean malondialdehyde (MDA) scores were low in the group M, Q and MQ in comparison with the group K, but there was no statistically significant difference between all groups (p>0.05).

CONCLUSION

Methylprednisolone, coenzyme Q₁₀ and combined methylprednisolone and coenzyme Q₁₀ treatments were found to be effective as they decrease the edema and coenzyme Q₁₀ could be effective for prevention of secondary injury at experimental SCI.

Key Words: Coenzyme Q₁₀; methylprednisolone; rats, Sprague-Dawley; spinal cord injury.

Sarıkamış Asker Hastanesi, ¹Nöroşirürji Kliniği, ⁴Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Kars; Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, ²Patoloji Anabilim Dalı, ³Biyokimya Anabilim Dalı, ⁵Nöroşirürji Anabilim Dalı Eskişehir.

Departments of ¹Neurosurgery and ⁴Anesthesiology, Sarıkamış Military Hospital, Kars; Departments of ²Pathology, ³Biochemistry and ⁵Neurosurgery, Medicine Faculty of Osmangazi University, Eskişehir, Turkey.

İletişim (Correspondence): Dr. Alaeddin Kerimoğlu. Eskişehir Özel Anadolu Hastanesi, Kıbrıs Şehitleri Cad., No: 61, 26000 Eskişehir, Turkey.

Tel: +90 - 222 - 221 48 48 / 214 Faks (Fax): +90 - 222 - 220 28 85 e-posta (e-mail): alaeddinkerimoglu@gmail.com

Medulla spinalis yaralanmaları önemli sosyal ve ekonomik sorundur. Günümüzde gelişen cerrahi tekniklere karşın olgularda nörolojik iyileşmenin olmaması, travmanın oluşturduğu direkt primer hasarın dışında, travma sonrası meydana gelen ve işlev kaybını ağırlaştırılan biyokimyasal patolojik süreçlerin yani ikincil otodestruktif mekanizmaların irdelemesini ve bu yönde çalışmaların artmasını sağlamıştır. Medulla spinalis yaralanmalarının fizyopatolojisiyle ilgili birçok araştırmanın sonucunda, oluşan ödem, serbest oksijen radikalleri ve lipit peroksidasyonunun ikincil hasarın meydana gelmesinde önemli rollerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, ikincil hasarın oluşmasını önleyecek nöroprotektif ajan araştırmalarını beraberinde getirmiştir. Yapılan bilimsel çalışmalarda, spinal travmaların erken döneminde değişik tedavi yöntemleri uygulanarak gelişmekte olan ödem, iskemi ve doku harabiyeti önlenmeye çalışılmaktadır. Medulla spinalis yaralanmalarında halen en yaygın klinik kullanımı olan ajan metilprednizolondur,^[1] ancak yüksek doz kortikosteroidler nörolojik yararları gösterilmiş olsa da ciddi yan etkilere sahiptir. Bu nedenle ikincil hasar önlenmesinde diğer nöroprotektif ajanlara yönelik çalışmalar hızla artmaktadır.

Koenzim Q₁₀ mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bir bileşenidir. Mitokondriyal kompleks I ve II için elektron akseptörü, kompleks I aktivitesini artırıcı etki gösterir. Membran stabilizasyonunda rol oynar ve güçlü bir antioksidandır.^[2] Yapılan deneysel çalışmalarda koenzim Q₁₀'un iskemi reperfüzyon hasarı tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur.^[3,4]

Çalışmamızda deneysel olarak spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlarda, metilprednizolon, koenzim Q₁₀ ve bu iki ajanın birlikte kullanımının spinal kord yaralanmalarında etkisinin, histopatolojik ve biyokimyasal veriler yardımıyla araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Etik komite onayının alınması ardından ortalama 250 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi 32 erişkin erkek sıçan çalışmaya alındı. Tüm deney hayvanlarına intraperitoneal olarak 8 mg.kg⁻¹ ksilazin hidroklorür ve 10 mg.kg⁻¹ ketamin ile anestezi induksiyonu uygulandı ve sonrasında, deney hayvanları dört gruba ayrıldı. Bu gruplar kontrol grubu (grup K), metilprednizolon tedavisi verilen grup (grup M), koenzim Q₁₀ tedavisi verilen grup (grup

Q), metilprednizolon ve koenzim Q₁₀ tedavisi verilen grup (grup MQ) olarak belirlendi; gruplar seki-zer deney hayvanından oluşturuldu.

Deney hayvanları anestezi ajanlarının uygulanmasının ardından ameliyat masasına yüzüstü pozisyonunda yatırılarak T3-T6 seviyesinde lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı. Bu seviyede orta hat cilt insizyonu ile cilt, cilt altı geçildi. Fasya açılarak, paravertabral kaslar subperiosteal olarak sıyrıldı. T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Kanama kontrolü bipolar koagülatörle yapıldı; deneklerin hiçbirinde kanama için ek girişim yapılmadı. Daha sonra 1,43 newton (N) kuvvet uygulayan FE 740 K kodlu Yaşargil anevrizma klipi kullanılarak, klip yöntemiyle spinal kord travması oluşturuldu. Klip epidural olarak 60 saniye süreyle uygulandı. Bütün deneklere iğne ile kuyruk bölgesine ağırlı uyaran verilerek parapleji olduğu belirlendi. Kliplemeyi takiben klipin uygulandığı yerde spinal kord içinde hemorajik kontüzyon olduğu görüldü. Kliplemeyle oluşturulan travmanın ardından grup K'daki deneklere sadece koenzim Q₁₀ çözücü maddesi olarak kullanılan soya yağı, diğer gruplar ile aynı miktarda olacak şekilde, intraperitoneal olarak verildi. Travma oluşturulmuş grup K'ya başka tedavi verilmedi.^[5] Aynı miktarda çözücü madde grup M'ye de verildi. Kliplemeden hemen sonra grup M ve grup MQ'ya 30 mg.kg⁻¹ metilprednizolon intraperitoneal olarak verildi. Aynı zamanda bu gruplara idame dozu olarak altı saat arayla toplam 5,4 mg.kg.saate⁻¹, 23 saatlik toplam doz olacak şekilde intraperitoneal metilprednizolon tedavisi uygulandı. Soya yağında çözülmüş koenzim Q₁₀ (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA), 10 mg.kg⁻¹ intraperitoneal tek doz halinde grup Q ve grup MQ'ya uygulandı.^[5]

Yirmi dört saatin sonunda deneklere aynı anestezi ajanlarla anestezi induksiyonu uygulanıp, denekler dekapite edildi. Deneklerin spinal kordu, gözlenen hemorajik kontüzyon çizgisinin yaklaşık 0,5 cm distalinden kesildi. Distal kısmın en proksimal 1 cm'lik bölümü çıkarılarak sıvı nitrojenle dondurulup, biyokimyasal ölçümler için -80°C'de saklandı. Hemorajik kontüzyon çizgisinin içinde kaldığı proksimal kısmın en distal 1,5 cm'lik bölümü çıkarılarak %10'luk formolde 48 saat doku fiksasyonu yapıldı. Formol takibinden sonra alınan spesmenlerden, önceki çalışma sonuçlarında belirtildiği şekilde, oluşturulan travma modelinde

oluşan iskemi, ödem ve ikincil hasarlanmanın lezyon bölgesi rostral ve kaudal kısımlarına doğru ilerleyebileceği düşünüldüğü için üç farklı bölgeden kesit alındı.^[6,7]

Birinci bölge klibin uygulandığı yere 1 cm uzaklıktaki proksimal uç, ikinci bölge klibin uygulandığı yere 0,5 cm uzaklıktaki distal uç, üçüncü bölge klibin uygulandığı yere bitişik distal kısım olmak üzere belirlendi. Alınan kesitler uygun deparafinizasyon, rehidratasyon, boyama ve dehidrasyon işlemlerinden geçirilerek incelendi. İncelemeler sırasında histopatolojik bulgulardan ödem, kanama, kromatolizis, vaküalizasyon tüm preparatlarda aynı patoloji uzmanı tarafından, preparatın hangi deneğe ait olduğunu bilmeden, ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Değerlendirmede ödem ve kanama şiddeti, değerlendirmeyi yapan patolog tarafından çalışmaya özgün olarak geliştirilip uygulanan bir skorlama sistemi ile değerlendirildi. Bu skorlamada, minimal ödem 1. derece, hafif ödem 2. derece, orta şiddetteki ödem 3. derece, şiddetli ödem 4. derece ödem olarak beyaz ve gri cevherde ayrı ayrı değerlendirildi. Kanama, kesitlerde yok ise 0 derece, hafif ise 1. derece, orta miktarda ise 2. derece, çok miktarda ise 3. derece olarak değerlendirildi. Diğer histolojik bulguları oluşturan nekroz, vaküalizasyon ve kromatolizis yok (0), var (1) olarak değerlendirilerek her bir denekten üç ayrı bölgeden veri elde edildi.

Biyokimyasal veriler spinal kord dokusunda malonildialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz düzeyleri ölçülerek elde edildi. Dokuda MDA ölçümü Ohkawa yöntemine uygun olarak MDA'nın tiyobütrik asit ile oluşturduğu rengin ölçülmesi yoluyla belirlendi ve hesaplanan MDA düzeyleri pmol.mg⁻¹ protein olarak ifade edildi.^[8] Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Wintembourn ve arkadaşlarının^[9] yöntemine uygun olarak saptandı ve enzim aktivitesi Ü.mg⁻¹ protein olarak ifade edildi. İşlemler sırasında M3 deneğine ait tüp, santrifüj esnasında kırıldığı için onunla ilgili biyokimyasal veri elde edilemedi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler "SPSS for Windows 10.0" paket programında yapıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi olarak p<0,05 alındı. Elde edilen biyokimyasal veriler olan SOD ve MDA değerlerinin analizinde tek yönlü varyans analizi, gruplar arası fark-

lılıkların saptanmasında ise Posthoc Tukey testi kullanıldı. Histopatolojik veriler olan gri ve beyaz cevher ödemi ve kanama Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Bütün sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi.

BULGULAR

Çalışmamızda histopatolojik (Tablo 1, 2, 3) ve biyokimyasal (Tablo 4, 5, 6, 7) veriler elde edildi.

Histopatolojik Bulgular

Alınan doku örneklerinin her birinde üç ayrı bölgeden kesitler alınarak incelendi.

Birinci bölge gri cevher, ikinci bölge beyaz cevher ve ikinci bölge gri cevher ödeminin istatistiksel analizlerinde grup K'da ödem şiddeti skorlarının grup M, grup Q ve grup MQ'dan anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı (p<0,001). Tüm bu bölgelerde ödem şiddeti analizinde grup M, grup Q ve grup MQ'nun birbirleri ile yapılan ikili karşılaştırmalarında, hiçbir bölgede anlamlı farklılık saptanamadı (p>0,05). Üçüncü bölge beyaz ve gri cevher ödemi analizine göre tüm bölgelerin kanama, nekroz, vaküalizasyon ve kromatolizis analizleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Her grupta farklı şiddette ödem, kanama, nekroz, vaküalizasyon ve kromatolizis gözlemlendi. Gruplara özgün olmayan; değişik derecelerde ödem, kanama, nekroz, vaküalizasyon ve kromatolizis içeren şekiller örnek olarak gösterilmiştir (Şekil 1).

Biyokimyasal Bulgular

Biyokimyasal verilerin istatistiksel analizlerinde ise, SOD ortalama değerleri grup K'da diğer gruplar olan grup M, grup Q ve grup MQ'dan anlamlı olarak yüksekti (p<0,001). Grup M'de de ortalama SOD değerleri grup MQ'dan anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,05). Diğer gruplar arasında istatistiksel bakımdan bir fark bulunamadı (p>0,05). Ortalama MDA değerleri analizinde ise grup M, grup Q, grup MQ ortalama değerlerinin grup K'ya göre düşük olduğu izlendi; ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

TARTIŞMA

Medulla spinalis yaralanmaları yüksek oranda morbidite ve mortalite oluşturan, sosyoekonomik sorunları da beraberinde getiren travma grubunu oluşturur. Günümüzde teknolojinin gelişmesi ve

Tablo 1. Birinci bölge, klibe uzak proksimal uca ait histopatolojik verileri

Grup	Ödem				Kanama				Nekroz		Vaküalizasyon		Kromatolizis			
	Beyaz cevher		Gri cevher*†‡		0		1		2		3		0		1	
Grup K	1	2	3	4	1	2	3	4	0	1	2	3	0	1	0	1
Grup M	1	5	2		6	2			2	5			8	0	7	1
Grup Q	4	4			5	3			4	3			8	0	8	0
Grup MQ	1	4	3		4	4			7	1			8	0	8	0
	6	2			6	2			6	2			8	0	8	0

*: p<0,05 (Grup K ile Grup M arasında); †: p<0,05 (Grup K ile Grup Q arasında); ‡: p<0,05 (Grup K ile Grup MQ arasında).

Tablo 2. İkinci bölge, klibe uzak distal uca ait histopatolojik verileri

Grup	Ödem				Kanama				Nekroz		Vaküalizasyon		Kromatolizis			
	Beyaz cevher*†‡		Gri cevher*†‡		0		1		2		3		0		1	
Grup K	1	2	3	4	1	2	3	4	0	1	2	3	0	1	0	1
Grup M		1	7			1	7		2	1	2	3	8	0	8	0
Grup Q		3	5		1	4	3		4	3	1		8	0	8	0
Grup MQ	3	4	1		1	4	2	1	1	5	1	1	6	2	5	3
	3	4	1		5	3			1	2	5		6	2	8	0

*: p<0,05 (Grup K ile Grup M arasında); †: p<0,05 (Grup K ile Grup Q arasında); ‡: p<0,05 (Grup K ile Grup MQ arasında).

Tablo 3. Üçüncü bölge, klibe bitişik distal kısım histopatolojik verileri

Grup	Ödem				Kanama				Nekroz		Vaküalizasyon		Kromatolizis			
	Beyaz cevher		Gri cevher		0		1		2		3		0		1	
Grup K	1	2	3	4	1	2	3	4	0	1	2	3	0	1	0	1
Grup M		1	7			3	5		2	4	1		7	1	6	2
Grup Q		5	3		1	5	2		7	1			8	0	8	0
Grup MQ		8			4	2	3		2	6			6	2	2	6
	2	1	5		1	1	3	3	1	2	5		5	3	8	0

motorlu taşıtların çoğalmasi ile artan trafik kazaları medulla spinalis yaralanmalarının daha fazla görülmesine neden olmuştur. Medulla spinalis yaralanmaları en çok genç erişkinleri etkilemekte ve 16-30 yaşları arasında daha sık görülmektedir. Spinal kord yaralanmalarının %33-50'si servikal seviyeleri etkilemektedir.^[1,10,11] Görülme sıklığı 20-40/1000000/yıl olarak belirtilmektedir.^[11] Son yıllarda omurga biyomekaniği ve cerrahi teknikler üzerinde artan deneyimler ve rehabilitasyon konusundaki gelişmelere rağmen medulla spinalis yaralanmalarında nörolojik iyileşmede belirgin başarı sağlanamamaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalarda, spinal travmaların erken döneminde değişik tedavi yöntemleri uygulanarak oluşan ödem, iskemi ve doku harabiyeti önlenmeye çalışılmaktadır.

Spinal kord travmatik hasarlanmaları tipik olarak aksonal hasar ve hücre ölümü sonucu oluşan, değişik düzeylerde işlev kayıplarını içerir. Spinal kord yaralanmalarında, hasar oluşumu iki patofizyolojik yol ile tanımlanır. Birincil hasarlanma, yaralanma sırasında, kord bütünlüğünün mekanik nedenlere bağlı olarak bozulması sonucu oluşur. İkincil hasarlanma ise geç dönemde, hücresel ve biyokimyasal süreçlere bağlı olarak hücre ölümü ve doku hasarı sonucu oluşur. İkincil hasar patofizyolojisi, serbest radikal oluşumu, lipit peroksidasyonu, eikosanoid ve prostoglandin oluşumu, proteaz aktivasyonu, glutamat gibi eksitotoksik molekülleri ve intrasellüler kalsiyum artışını içerir. Nöroprotektif strateji ikincil hasarlanma ile oluşan etkilerden korunmayı, dokuların ve işlevsel kapasite kaybının

Tablo 4. Gruplarda MDA değerleri (pmol/protein)

Denek No	Grup K	Grup M	Grup Q	Grup MQ
1	106,5	135	115,8	62,5
2	105	46,66	71,11	37,77
3	31,11	–	46	145
4	70	100,6	138,33	94,16
5	146,6	70,6	103,33	81,33
6	116,6	81,66	55,33	103,3
7	173,3	72,33	145,83	27,5
8	53,33	38,66	58,16	123,3

Tablo 5. Gruplarda SOD değerleri (Ü/mg protein)

Denek No	Grup K	Grup M	Grup Q	Grup MQ
1	12,65	21,50	16,93	2,59
2	37,75	17,32	13,49	3,50
3	17,64	–	18,68	5,57
4	35,03	26,00	1,94	0,09
5	34,90	12,06	10,97	9,12
6	22,86	25,20	9,03	8,48
7	32,04	16,11	16,34	2,04
8	26,07	1,63	14,98	14,27

önlenmesini amaçlar. Günümüzde metilprednizolon akut spinal kord hasarlanması tedavisinde kullanılması güncel olarak kabul edilen tek ilaçtır.^[12-14]

Akut spinal kord hasarında kortikosteroidler, antienflamatuvar etkinlikleri ve buna bağlı olarak ödemi azaltması nedeniyle 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır ve deneysel çalışmaların önemli bir kısmında yararlılığı ortaya konulmuştur.^[1,15,16] Buna karşın nöroprotektif etkinliğinin mekanizması tam anlaşılmamıştır. Lipit peroksidasyonu, enflamatuvar sitokinlerin inhibisyonu, enflamatuvar immün hücre modülasyonu gibi mekanizmalarla etki gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca vasküler perfüzyonu artırmakta ve kalsiyumun hücreye geçişi ile hücre içinde birikimini önlemektedir.^[17] Glikokortikoidlerin lipit peroksidasyonunu önlemesi en güçlü nöroprotektif etkileridir. Metilprednizolonun bu konuda diğer glikokortikoidlere göre daha etkili olduğu belirtilmektedir.^[18] Metilprednizolon lökosit işlevlerinden kemotaksisi, fagositozu, enflamatuvar mediatör ve lizozomal enzim salınımını inhibe ederek antienflamatuvar etki gösterir. Lipokortin, vazokortin ve anjiyotensin dönüştürücü en-

zim gibi antienflamatuvar polipeptidlerin salınımını stimüle eder. Bunun sonucunda, membran fosfolipitlerinden araşidonik asit oluşumunu katalize eden fosfolipaz A2, eikozonoidler, serbest oksijen radikali oluşumu inhibe olur. Diğer nöroprotektif etkinliğini ise nötrofillerin endotel hücresine olan hasarı engelleyerek sağlar.^[19] Yüksek doz metilprednizolon lipit peroksidasyonu ve hidrolizi azaltarak, ATPaz gibi membrana bağlı enzimleri ve hücre iskeleti nörofilamentlerini korur ve membran stabilizasyonunu sağlar,^[20] damar geçirgenliğini ve doku ödemi azaltır.^[21] Çalışmamızda da metilprednizolonun bu etkilerini gözlemleyebildik. Özellikle klbin uygulandığı hasar bölgesinin proksimal ve distal kısımlarında gruplar arasında ödem şiddetinde farklılık saptandı. Metilprednizolon, koenzim Q₁₀, metilprednizolon ve koenzim Q₁₀ tedavisinin birlikte uygulandığı üç grupta da spinal kord ödeminin birinci bölgede gri cevherde, ikinci bölgede gri ve beyaz cevherde kontrol grubuna göre belirgin derecede azaldığını gördük.

Steroid tedavisi değişik protokoller ve dozlarla uygulanabilmektedir. Deneysel çalışmalar, 30 mg.kg⁻¹ dozunda metilprednizolonun sadece lipit peroksidasyonunu engellemekle kalmayıp, post-travmatik spinal kord iskemisini engellemekte, aerobik metabolizmayı desteklemekte, hücre içi kalsiyum bi-

Tablo 6. SOD değerleri ortalama ve standart hata değerleri

	Sayı	Ortalama±SS
Grup K	8	27,37±3,21
Grup M	7	17,12±3,2*
Grup Q	8	12,8±1,91†
Grup MQ	8	5,71±1,64‡§

*: p<0,05 (Grup K ile grup M arasında);

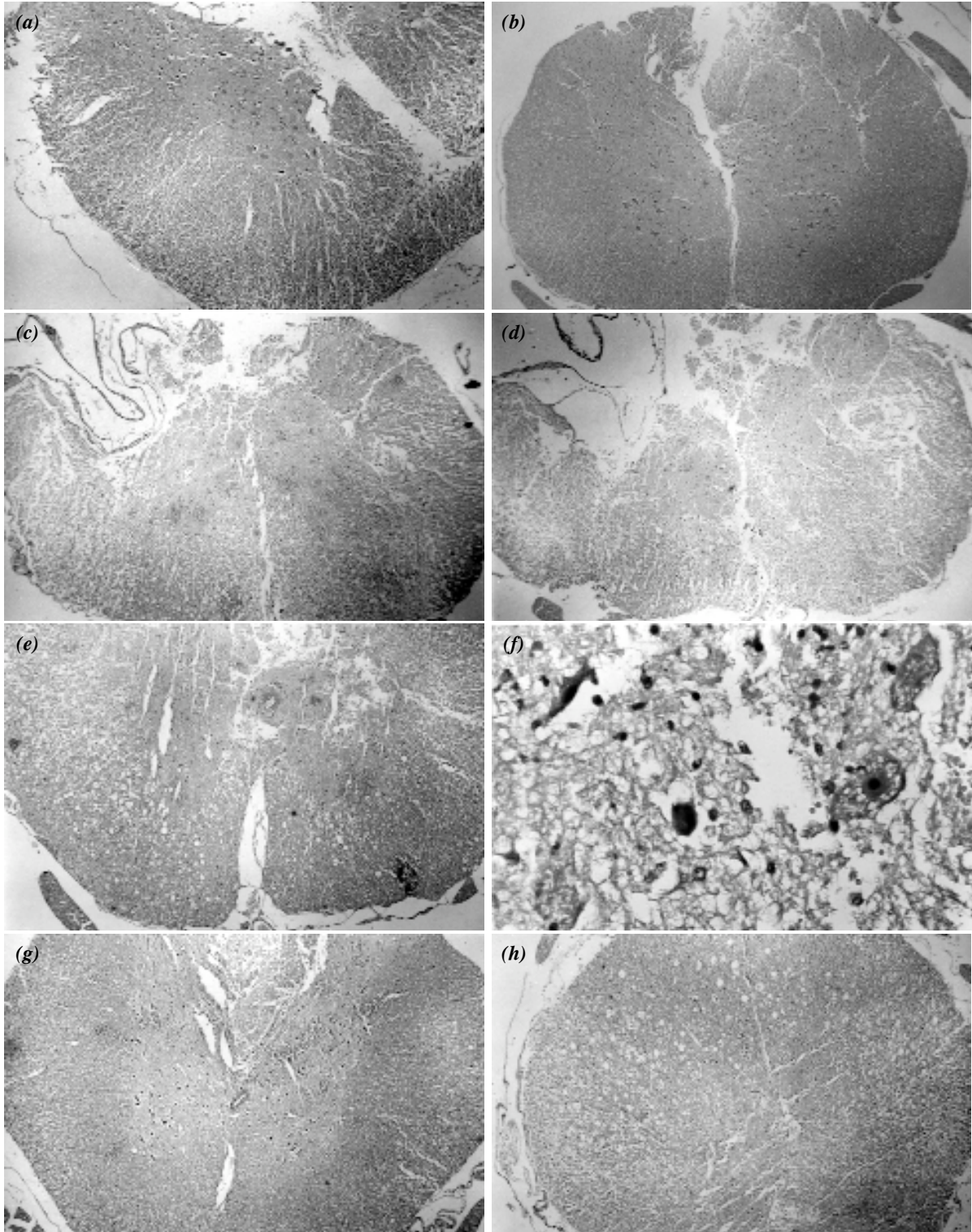
†: p<0,05 (Grup K ile grup Q arasında);

‡: p<0,05 (Grup K ile grup MQ arasında);

§: p<0,05 (Grup M ile Grup MQ arasında).

Tablo 7. MDA değerleri ortalama ve standart hata değerleri

	Sayı	Ortalama±SS
Grup K	8	100,31±16,75
Grup M	7	77,99±12,33
Grup Q	8	91,74±13,87
Grup MQ	8	84,4±14,35



Şekil 1. (a) Grup Q, 7. denek, proksimal kısımdan alınan kesit: 1. dereceden ödem (H-E x 40). (b) Grup Q, 8. denek, distal kısımdan alınan kesit: 2. dereceden ödem, 1. dereceden kanama (H-E x 32). (c) Grup Q, 6. denek, distal kısımdan alınan kesit: 3. dereceden ödem (H-E x 32). (d) Grup Q, 8. denek, lezyon bölgesinden alınan kesit: 4. dereceden ödem (H-E x 32). (e) Grup Q, 1. denek, lezyon bölgesinden alınan kesit: nekroz, 4. dereceden ödem, 3. dereceden kanama (H-E x 40). (f) Grup K, 7. denek, distal kısımdan alınan kesit: enflamasyon, kromatolizis, vakü alizasyon (H-E x 200). (g) Grup M, 2. denek, distal kısımdan alınan kesit: 2. dereceden kanama, 1. dereceden gri cevher ödemi (H-E x 40). (h) Grup MQ, 5. denek, distal kısımdan alınan kesit: nekroz (H-E x 40).

rikimini önlemekte ve kalpain aracılıklı nörofilament kaybını önlemekte etkili olduğunu göstermiştir.^[1]

Her ne kadar akut spinal kord hasarında yüksek doz kortikosteroidlerin nörolojik yararları gösterilmiş olsa da bu ilaçların ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle ikincil hasar önlenmesine yönelik diğer nöroprotektif ajanlarla ilgili çalışmalar hızla artmaktadır. Bir monosialogangliozid olan GM1 (Sygen), non-glukokortikoid 21-aminosteroid tirilazad, TRH analogları ve naloksan gibi ilaçlarla ilgili faz III klinik çalışmalar halen sürmektedir.^[1] Deneyisel çalışmalar magnezyum sülfat tedavisinin spinal kord hasarlanmasında apoptotik süreçlerde önemli rolü olan kaspaz-3 aktivitesini azaltabildiğini,^[22] bir tetrasiklin olan minosiklinin ise apoptotik mekanizmaları sitokrom c üzerinden etkileyip inhibe ettiğini,^[23] antitrombin III'ün lökosit aktivasyonunun önlenmesi yoluyla ikincil hücresel değişiklikleri azaltabildiğini,^[24] eritropoetin lipit peroksidasyonunu engellenmesi ile etkili olduğunu,^[25] NMDA reseptör antagonistleri gasiklidin ve MK801'in spinal kord hasarlanmalarında nöroprotektif etkileri olduğunu,^[26-28] metilprednizolon ve α -tokoferol ile selenyum kombinasyonunun spinal kord hasarında nöroprotektif etkinliğinin olabileceğini^[29] göstermiştir. Vitamin E'nin spinal kord hasarlarındaki etkisinin araştırıldığı bir deneysel çalışmada; spinal kord hasarı oluşturulmuş sıçanlarda tedavide metilprednizolon ile metilprednizolon ve vitamin E kombinasyonu kullanmış, metilprednizolon ve vitamin E verilen grupta iskemik sahanın boyutları tedavi edilmeyen gruba göre daha küçük adrenalın, noradrenalin ve dopamin seviyeleri daha düşük olarak saptanmıştır; ancak metilprednizolon tek başına verilmesiyle vitamin E ile kombine edilmesi arasında farklılık saptanmamıştır.^[30]

Koenzim Q₁₀ mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bileşeni olan, membran stabilizasyonunda rol oynayan güçlü bir antioksidandır.^[2] Koenzim Q₁₀'nun antioksidan özelliği Mellors ve Tappel tarafından keşfedilmiştir. Çeşitli çalışmalarda koenzim Q₁₀'un lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği, serbest oksijen radikallerine karşı α -tokoferol kadar etkili olduğu, geçici serebral iskemiden sonra koenzim Q₉ ve koenzim Q₁₀'un doku seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir.^[31-33] Koenzim Q₁₀'un azalması ikincil hasarın gelişmesinin göstergesidir.^[34] Koenzim Q₁₀ Parkinson ve Huntington hastalarında da etkilidir. Parkinsonlu hastaların trombosit-

lerinden izole edilen mitokondrilerinde koenzim Q₁₀ seviyelerinin düşük olduğu, oral koenzim Q₁₀ verildiğinde farelerde dopamin ve dopaminerjik aksonların kaybının azaldığı saptanmıştır.^[35,36]

Koenzim Q₁₀ deneysel çalışmalarda iskemi reperfüzyon hasarları tedavisinde de etkili bulunmuştur. Portakal ve arkadaşlarının^[3] yaptığı çalışmada sıçanlarda hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulmuş, tedavide pentoksifilin ve koenzim Q₁₀ kullanılmış iskemi-reperfüzyon oluşturulmuş grupta sadece çözücü madde verilmiş kontrol grubuna göre süper oksit dismutaz (SOD) aktivitesinin arttığı görülmüştür. Pentoksifilin tedavisi verilen grupta ise SOD aktivitesinin azaldığı, pentoksifilin ile birlikte koenzim Q₁₀ verilen grupta ise SOD aktivitesindeki azalmanın daha fazla olduğu saptanmıştır.^[3] Ostrowski'nin^[4] yaptığı çalışmada endotelin ile serebral iskemi oluşturulmuş sıçanlarda intraperitoneal koenzim Q₁₀ verilmiş ve SOD aktivitesi ölçülerek koenzim Q₁₀ etkinliği araştırılmıştır. Beyin sapı, serbellum ve serebral kortekste koenzim Q₁₀ tedavisi ile birlikte SOD aktivitesinin düştüğü böylece koenzim Q₁₀ serebral iskemide faydalı etkileri olduğu belirtilmiştir.^[4] Koenzim Q₁₀'un beyin laktat seviyesini azalttığı ve hayvan modellerinde iskemik lezyon çapını küçülttüğü belirtilmektedir.^[37-39]

Günümüzde metilprednizolon tedavisinin algoritması NASCIS I (National Acute Spinal Cord Injury Studies),^[40] NASCIS II^[20,41] ve NASCIS III^[42,43] çalışması gibi geniş hasta serilerinin kullanıldığı randomize çalışmalarda belirlenmiş olmasına rağmen, ikincil hasarlanmada etkili diğer ilaç gruplarında kullanım zamanlaması, etkin doz aralıkları ve idame doz kullanılması hakkında fikir birliği oluşmamıştır.

Hidrofobik ve büyük moleküler ağırlığa sahip önemli bir antioksidan olan koenzim Q₁₀'un diyetle emilimi kısıtlı ve yavaştır. Diyet ile alınan koenzim Q₁₀'un T(maks) süresi 6 saat, eliminasyon yarı ömrü ise 33 saat olarak bildirilmekte ve sağlıklı erişkinlerde referans plazma düzeyi 0,41-1,91 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ olarak belirtilmektedir. Hayvan çalışmaları koenzim Q₁₀'un büyük miktarda, başta beyin ve kalp mitokondrileri olmak üzere tüm dokularca alındığını göstermektedir.^[44]

Nörolojik, kardiyak, onkolojik ve immünolojik pek çok hastalıkta kullanımına yönelik çalışmalar yapılan koenzim Q₁₀'un serebral-nöronal iskemide uygun dozaj ve etkin doz aralıkları da tam belirlen-

memiştir. Yapılan çalışmalarda sıklıkla 10 mg.kg⁻¹ kullanım dozunun, oluşturulan hasarlanmanın hemen ardından en fazla ise bir saat sonra kullanılması iskemik hasarlanmayı engelleyici özelliği olduğu belirtilmektedir.^[4,5,45,46] Hiü ve arkadaşları^[47] ise yaptığı ve iskemik beyin hasarlanmasında, hasarlanma ardında üç saat geçtikten sonra kullanılan koenzim Q₁₀'un global ya da fokal hasarlanmaya karşı koruyucu etkisi olmadığını göstermiştir. Çalışmamızda spinal kord hasarı oluşturulmuş sıçanlara, oluşturulan travmanın hemen sonra tedavi olarak metilprednizolon, 10 mg.kg⁻¹ dozunda koenzim Q₁₀ ve metilprednizolon ile koenzim Q₁₀ kombine olarak kullanıldı. Bu üç grupta da SOD aktivitesi, sadece travma oluşturulmuş kontrol grubuna göre daha düşük saptandı. Bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ayrıca metilprednizolon ile koenzim Q₁₀ kombine verilen grupta sadece metilprednizolon verilen gruba göre SOD aktivitesinin daha düşük olduğu saptandı. Bu farklılığın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

Sonuç olarak medulla spinalis yaralanmalarında birincil travmayı takiben oluşan progresif, destrüktif ikincil süreçler, hasarın ağırlaşmasına neden olmaktadır. Medulla spinalis yaralanmalarının fizyopatolojisi ile ilgili birçok araştırmanın sonucunda oluşan ödem, serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonun ikincil hasarın meydana gelmesinde önemli rolü ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, ikincil hasarın oluşmasını önleyecek nöroprotektif ajan araştırmalarını beraberinde getirmiştir. Medulla spinalis yaralanmalarında en yaygın klinik kullanımı olan ajan metilprednizolondur. Ancak yüksek doz metilprednizolon kullanımının istenmeyen yan etkileri, ikincil hasar önlenmesinde yeni nöroprotektif ajanların kullanımına yönelik çalışmalarını arttırmaktadır. Çalışmamızda da Metilprednizolon, koenzim Q₁₀ ve bu iki ajanın birlikte kullanımının deneysel spinal kord hasarında oluşan ödemi azaltmada ve ikincil hasarın önlenmesinde faydalı olduğu sonucuna ulaşıldı.

KAYNAKLAR

- Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx* 2004;1:80-100.
- Folkers K, Langsjoen P, Willis R, Richardson P, Xia LJ, Ye CQ, et al. Lovastatin decreases coenzyme Q levels in humans. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:8931-4.
- Portakal O, Inal-Erden M. Effects of pentoxifylline and coenzyme Q10 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin Biochem* 1999;32:461-6.
- Ostrowski RP. Effect of coenzyme Q10 (CoQ10) on superoxide dismutase activity in ET-1 and ET-3 experimental models of cerebral ischemia in the rat. *Folia Neuropathol* 1999;37:247-51.
- Ostrowski RP. Effect of coenzyme Q(10) on biochemical and morphological changes in experimental ischemia in the rat brain. *Brain Res Bull* 2000;53:399-407.
- Tator CH. Patophysiology and pathology of spinal cord injury. In: Wilkins RH, Rengachary SS, editors. *Spinal trauma*. Vol IIB, 2nd ed. New York: Mc.Graw-Hill Inc; 1999. p. 2847-56.
- Wang R, Ehara K, Tamaki N. Spinal cord edema following freezing injury in the rat: relationship between tissue water content and spinal cord blood flow. *Surg Neurol* 1993;39:348-54.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 1975;85:337-41.
- Tator CH. Acute management of spinal cord injury. *Br J Surg* 1990;77:485-6.
- Tator CH, Edmonds VE. Acute spinal cord injury: analysis of epidemiologic factors. *Can J Surg* 1979;22:575-8.
- Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991;37:291-302.
- Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991;75:15-26.
- Kerimoğlu M, Hancı V, Kerimoğlu A. Spinal hasarlanmalar. İkincil hücrel hasar fizyopatolojisi ve tedaviye etkisi. *Sendrom* 2006;18:26-32.
- Ducker TB, Zeidman SM. Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* 1994;19:2281-7.
- Faden AI. Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997;72:377-86.
- Young W. Molecular mechanisms of spinal cord injury therapies. In: Kalb RG, Strimatter SM, editors. *Neurobiology of spinal cord injury*. Totowa: Humana Press; 2000. p. 241-76.
- Braugher JM. Lipid peroxidation-induced inhibition of gamma-aminobutyric acid uptake in rat brain synaptosomes: protection by glucocorticoids. *J Neurochem* 1985;44:1282-8.
- Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998;56:341-58.
- Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990;322:1405-11.
- Hall ED, Braugher JM. Glucocorticoid mechanisms in acute spinal cord injury: a review and therapeutic rationale.

- Surg Neurol 1982;18:320-7.
22. Solaroglu I, Kaptanoglu E, Okutan O, Beskonakli E, Attar A, Kilinc K. Magnesium sulfate treatment decreases caspase-3 activity after experimental spinal cord injury in rats. *Surg Neurol*. 2005;64 Suppl 2:S17-21.
 23. Teng YD, Choi H, Onario RC, Zhu S, Desilets FC, Lan S, et al. Minocycline inhibits contusion-triggered mitochondrial cytochrome c release and mitigates functional deficits after spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101:3071-6.
 24. Erman T, Yildiz MS, Gocer AI, Zorludemir S, Demirhindi H, Tuna M. Effects of antithrombin III on myeloperoxidase activity, superoxide dismutase activity, and malondialdehyde levels and histopathological findings after spinal cord injury in the rat. *Neurosurgery* 2005;56:828-35.
 25. Kaptanoglu E, Solaroglu I, Okutan O, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonakli E. Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg Rev* 2004;27:113-20.
 26. Gaviria M, Privat A, d'Arbigny P, Kamenka J, Haton H, Ohanna F. Neuroprotective effects of a novel NMDA antagonist, Gacyclidine, after experimental contusive spinal cord injury in adult rats. *Brain Res* 2000;874:200-9.
 27. Wada S, Yone K, Ishidou Y, Nagamine T, Nakahara S, Niiyama T, et al. Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* 1999;91(1 Suppl):98-104.
 28. Li S, Tator CH. Effects of MK801 on evoked potentials, spinal cord blood flow and cord edema in acute spinal cord injury in rats. *Spinal Cord* 1999;37:820-32.
 29. Saunders RD, Dugan LL, Demediuk P, Means ED, Horrocks LA, Anderson DK. Effects of methylprednisolone and the combination of alpha-tocopherol and selenium on arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation in traumatized spinal cord tissue. *J Neurochem* 1987;49:24-31.
 30. Daneyemez M. Silicone rubber microangiography of injured acute spinal cord after treatment with methylprednisolone and vitamin E in rats. *Spine* 1999;24:2201-5.
 31. Mellors A, Tappel AL. The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *J Biol Chem* 1966;241:4353-6.
 32. Takayanagi R, Takeshige K, Minakami S. NADH- and NADPH-dependent lipid peroxidation in bovine heart submitochondrial particles. Dependence on the rate of electron flow in the respiratory chain and an antioxidant role of ubiquinol. *Biochem J* 1980;192:853-60.
 33. Lemke M, Frei B, Ames BN, Faden AI. Decreases in tissue levels of ubiquinol-9 and -10, ascorbate and alpha-tocopherol following spinal cord impact trauma in rats. *Neurosci Lett* 1990;108:201-6.
 34. Yoshida S, Abe K, Busto R, Watson BD, Kogure K, Ginsberg MD. Influence of transient ischemia on lipid-soluble antioxidants, free fatty acids and energy metabolites in rat brain. *Brain Res* 1982;245:307-16.
 35. Shults CW, Haas RH, Passov D, Beal MF. Coenzyme Q10 levels correlate with the activities of complexes I and II/III in mitochondria from parkinsonian and nonparkinsonian subjects. *Ann Neurol* 1997;42:261-4.
 36. Beal MF, Matthews RT, Tieleman A, Shults CW. Coenzyme Q10 attenuates the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3-tetrahydropyridine (MPTP) induced loss of striatal dopamine and dopaminergic axons in aged mice. *Brain Res* 1998;783:109-14.
 37. Piotrowski P, Ostrowski RP, Pankowska T, Smialek M. The effect of coenzyme Q10 on lactate acidosis at the beginning of experimental cerebral ischemia in rats after the use of endothelin 1 (preliminary results). [Article in Polish] *Neurol Neurochir Pol* 1998;32:1397-404. [Abstract]
 38. Koroshetz WJ, Jenkins BG, Rosen BR, Beal MF. Energy metabolism defects in Huntington's disease and effects of coenzyme Q10. *Ann Neurol* 1997;41:160-5.
 39. Beal MF, Henshaw DR, Jenkins BG, Rosen BR, Schulz JB. Coenzyme Q10 and nicotinamide block striatal lesions produced by the mitochondrial toxin malonate. *Ann Neurol* 1994;36:882-8.
 40. Bracken MB, Collins WF, Freeman DF, Shepard MJ, Wagner FW, Silten RM, et al. Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *JAMA* 1984;251:45-52.
 41. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF Jr, Holford TR, Baskin DS, Eisenberg HM, et al. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1-year follow-up data. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg* 1992;76:23-31.
 42. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, et al. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Randomized Controlled Trial. National Acute Spinal Cord Injury Study. *JAMA* 1997;277:1597-604.
 43. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, et al. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J Neurosurg* 1998;89:699-706.
 44. Bhagavan HN, Chopra RK. Coenzyme Q10: absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radic Res* 2006;40:445-53.
 45. Yokoyama K, Nakamura K, Nakamura K, Kimura M, Nomoto K, Itoman M. Effect of coenzyme Q10 on superoxide production in rats with reperfusion injuries. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1999;33:1-5.
 46. Yokoyama K, Itoman M, Takagishi K, Yamamoto M. Protective effects of coenzyme Q10 on ischemia-induced reperfusion injury in ischemic limb models. *Plast Reconstr Surg* 1992;90:890-8.
 47. Li H, Klein G, Sun P, Buchan AM. CoQ10 fails to protect brain against focal and global ischemia in rats. *Brain Res* 2000;877:7-11.