

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİNDE
KoQ₁₀' UN İSKEMİ VE NÖRONAL HASAR
ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Mazhar Müfit ÜNAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ

ZONGULDAK
2010

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİNDE
KoQ₁₀' UN İSKEMİ VE NÖRONAL HASAR
ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Mazhar Müfit ÜNAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ

ZONGULDAK
2010

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Deneysel Kapalı Kafa Travması Modelinde KoenzimQ10'un İskemi ve Nöronal Hasar Üzerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Mazhar Müfit ÜNAL

Tez Savunma Tarihi: 04/02/2010

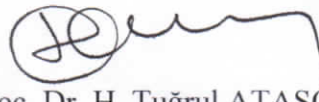
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ


Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ
Jüri Başkanı

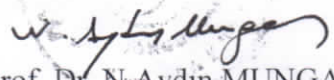

Doç. Dr. Mustafa BERKER
Üye


Doç. Dr. Murat KALAYCI
Üye


Doç. Dr. Mustafa CÖMERT
Üye


Doç. Dr. H. Tuğrul ATASOY
Üye

UYGUNDUR
04/02/2010


Prof. Dr. N. Aydın Mungan
Dekan

ÖNSÖZ

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, deneyim, hoşgörü ve içtenliğini hiçbir zaman esirgemeyen başta sayın rektörümüz ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ olmak üzere, çok değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Murat KALAYCI'ya, tezimin tüm aşamalarında beraber çalıştığımız, ilgi ve desteği ile her an yanımda olan çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Şanser GÜL'e değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nurullah EDEBALI'ya, asistan eğitimimin başında birlikte çalıştığımız hocam Doç. Dr. Ferda ÇAĞAVI'ya, tezimin tamamlanmasında emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Doç. Dr. Şerefden AÇIKGÖZ ve Patoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Şükrü ÖZDAMAR ve öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nilüfer KANDEMİR'e, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde emeği geçen Biyoistatistik Anabilim Dalı başkanı değerli hocam Prof. Dr. Vildan Sümbüloğlu'na, tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Anestezi Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Volkan Hancı'ya şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık dönemim boyunca bana en büyük desteği veren sevgili eşim Dr. Beril Ünal'a, çok değerli çalışma arkadaşlarım, Uzm. Dr. Aslan ÖZER, Uzm. Dr. Kadir ÇOLAK, Dr. Hasan OCAK, Dr. Hakan PAZARLI, Dr. Emrah KESKİN, Dr. Evren AYDOĞMUŞ, Dr. Hasan Ali AYDIN, Beyin Cerrahisi Servisi sorumlu hemşiresi Emriye GEÇER ve beraber çalışmaktan büyük mutluluk ve gurur duyduğum kliniğimizin tüm hemşire ve personel ekibine en içten teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgi ve özverileri ile beni yetiştiren, desteklerini esirgemeyen canım anneme, babama, kardeşlerime, biricik eşime ve minicik oğlum Orhun'a teşekkür ederim...

Dr. Mazhar Müfit ÜNAL
ZONGULDAK, 2010

ÖZET

Mazhar Müfit Ünal, Deneysel Kafa Travması Modelinde KoQ₁₀'un İskemi ve Nöronal Hasar Üzerine Etkisi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanlık Tezi. Zonguldak 2010.

Çalışmada ağırlıkları 350-400 g arasında değişen 28 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her biri 7 adet sıçan içeren 4 deney grubu oluşturuldu. Herhangi bir girişim uygulanmayan sham (G1, n=7), sadece travma uygulanan kontrol (G2, n=7), travmayı takiben gavaj yoluyla serum fizyolojik (SF) uygulanan (G3, n=7), travmayı takiben gavaj yoluyla Koenzim Q₁₀ (KoQ₁₀) (10 mg/kg) uygulanan (G4, n=7) olarak belirlendi. Kafa travması, Marmarou ve arkadaşları'nın tanımladığı şekil modifiye edilerek yapıldı (1). Orta hat insizyonundan sonra, frontoparyetal konveksitede, orta hattın koronal suturelarla kesiştiği nokta üzerine sabitlenen metal diske uygulandı. Bunun için oluşturulan düzenden 450 gr ağırlık, 70 cm yüksekten düşürülerek kafatası üzerinde 3,09 joule olan bir çarpma enerjisi elde edildi. Denekler, 48. saat sonunda yüksek dozda anestezi uygulanıp, kan örnekleri alınmasının ardından sakrifiye edildi. Beyin dokusu biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için çıkarıldı. Biyokimyasal tetkiklerde kafa travması uygulanan grupta (G2), kontrol grubu (G1) ile kıyaslandığında doku malondialdehid (MDA) düzeylerini önemli oranda yükseltti (p<0.05). Travmadan sonra uygulanan KoQ₁₀, artmış MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı oranda düşürerek koruyucu etki gösterdi (p<0.05). SOD değerleri açısından bakıldığında KoQ₁₀ verilen grupta (G4), kafa travması uygulanan gruba (G2) göre yükselme görüldüyse de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Histopatolojik çalışma sonuçlarında; KoQ₁₀ uygulanan grup, travma uygulanan diğer gruplarla karşılaştırıldığında; vasküler konjesyon, nöronal kayıp, nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eosinofili ve aksonal ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olduğu saptandı (p<0,05).

Bu çalışmada, kafa travması oluşturulan sıçanlarda gelişen nöronal dejenerasyon bulguları ve oksidatif stresin oluşturduğu sekonder beyin hasarı ve iskemisinin KoQ₁₀ kullanılarak azaltılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kafa Travması, Antioksidanlar, KoQ₁₀, Beyin Ödemi ve Oksidatif Stres.

ABSTRACT

Mazhar Müfit Ünal, The effects of CoQ₁₀ on the neuronal damage and ischemia in experimental head injury of rat model, Zonguldak Karaelmas University Faculty of medicine, Thesis in Neurosurgery. Zonguldak, 2010.

In the study, 28 male albino Wistar rats weighting 350-400 g were used. Animals were divided into 4 experimental groups, each consisting 7 rats. Sham (without trauma) group (G1, n=7), trauma only group Control (G2, n=7), administration of serum physiologic (SF) group (G3, n=7), administration of Coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) (10 mg./kg P.O.) group (G4, n=7). Traumatic brain injury (TBI) was induced using the closed injury model described by Marmarou et al. (1). A midline scalp incision was performed followed by periosteal elevation to expose the central area of the skull vault between coronal and sagittal sutures. A stainless steel disk (10 mm in diameter and 3 mm in depth) was fixed to this central portion of the skull vault. Twenty-one rats were placed in the prone position on a foam bed, and injury was introduced by dropping a 450-g brass weight from a height of 70 cm which provided 3,09 joule energy. 48 hours after the trauma, the rats were killed by decapitation under ketamine anesthesia. Right and left hemispheres were separated on an ice-cold surface. Right hemispheres were prepared for histopathologic evaluations.

The brain edema and the levels of MDA, which is the last product of lipid peroxidation in tissues, decreased statistically significant in group of trauma with CoQ₁₀ (G:4) with respect to control group (G:2). Elevation of SOD values did not statistically significant with respect to control group. Histopathologic values of G4 on vascular congestion, neuronal loss, nuclear picnosis, nuclear hyperchromasia, cytoplasmic eosinophilia, axonal edema were statistically significant compared to the control group (G2) ($p<0,05$).

It was determined that brain edema and oxidative stress caused secondary brain damage could be decreased by the administration CoQ₁₀ after severe head trauma in the rats.

Key Words: Head Trauma, Antioxidants, CoQ₁₀, Brain Edema and Oxidative stress.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kafa Travmaları	3
2.1.1. Kafa Travmalarının Tarihçesi	3
2.1.2. Kafa Travmalarının Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3. Kafa Travmalarının Fizyopatolojisi	4
2.1.4. Travmatik Beyin Yaralanmalarının Sınıflandırılması.....	8
2.1.5. Kafa Travmalarında Metabolik Değişiklikler	13
2.1.6. Kafa Travmalarında Serebral Kan Akımı ve Serebral Perfüzyon Basıncı.....	15
2.1.7. Kafa Travmalarında Ödem ve Herniasyon	16
2.1.8. Kafa Travmalarında Nörolojik Sınıflama	19
2.2. Oksidan ve Antioksidan Sistemler	22
2.2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu ve Hücre Ölümü.....	22
2.2.2. Lipid Peroksidasyonu.....	26
2.2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri	28
2.2.4. Malondialdehit (MDA)	38
3. MATERYAL VE METOD	40
3.1. Anestezi.....	40
3.2. Deney	40
3.3. Deney Grupları.....	42
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme.....	44

3.5. Histopatolojik Değerlendirme	45
3 .5.1. Histopatolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi	45
3.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	46
4. BULGULAR	47
4.1. Biyokimya Sonuçları.....	47
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	50
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	61
7. KAYNAKLAR	62
8. EKLER.....	79
Ek 1: Etik Kurul Onayı	79

KISALTMALAR

AA	: Araşidonik asit
AKT	: Ağır kafa travması
AMP	: Adenozin monofosfat
AO	: Antioksidan
ATP	: Adenozin trifosfat
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BT	: Bilgisayarlı tomografi
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cu⁺²	: Bakır
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksi ribonükleik asit
EAA	: Eksitatör amino asit
Fe⁺²	: Ferro demir
Fe⁺³	: Ferri demir
GKS	: Glasgow koma skoru
H&E	: Hemotoksilen-eosin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
IKB	: İntrakranial basınç
İP	: İntraperitoneal
KBB	: Kan beyin bariyeri
KBB	: Kan-beyin bariyeri
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KoQ₁₀	: Koenzim Q10
KT	: Kafa travması
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LP	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malonildialdehid
Mg²⁺	: Mağnezyum

MRG	: Manyetik Resonans Görüntüleme
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid
Na-K ATPaz	: Sodyum-Potasyum adenin trifosfataz
NAS	: N-Asetilsistein
NMDA.	: N-metil-D Aspartat
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
O²-	: Süperoksit radikali
OH -	: Hidroksil radikali
PCO₂	: Parsiyel karbondioksit basıncı
PO₂	: Parsiyel oksijen basıncı
PON	: Paraoksanaz
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SAK	: Subaraknoid kanama
SKA	: Serebral kan akımı
SKH	: Serebral kan hacmi
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SPB	: Serebral perfüzyon basıncı
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences Program
SSEP	: Somatosensoriyal evoke potansiyel
SSS	: Santral sinir sistemi
SVR	: Serebral vasküler rezistans
TAS	: Total antioksidan status
TBA	: Tiobarbitürik asit
TBH	: Travmatik beyin hasarı

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Glasgow Koma Skalası.....	19
Tablo 2: Histopatolojik parametrelerin değerlendirilmesi	46
Tablo 3: Gruplarda MDA, SOD, PARAOKSANAZ değişiklikleri (median) (minimum-maksimum)	50
Tablo 4: Gruplar arasındaki parankim özellikleri, nöronal morfoloji dağılımı	51

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları	25
Şekil 2: Lipid peroksidasyonundaki şematik aşamalar	26
Şekil 3: Mitokondri elektron transport zinciri.....	31
Şekil 4: Mevalonat yolu	32
Şekil 5: Travma düzeneği	41
Şekil 6: Dekapitasyon	43
Şekil 7: Rat beyrinde sol frontoparietal bölgeden doku örneği alınması.	44
Şekil 8: Gruplarda MDA düzeyleri değişiklikleri.....	47
Şekil 9: Gruplarda SOD düzeyi değişiklikleri	48
Şekil 10: Gruplarda Paraoksanaz düzeyi değişiklikleri	49
Şekil 11: Gruplar arasındaki parankim özellikleri, nöronal morfoloji dağılımı.....	53
Şekil 12: Histomorfoloji.....	54
Şekil 13. Histomorfoloji.....	55
Şekil 14. Histomorfoloji.....	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kafa travmaları, öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre tedavi ve bakım gerektiren, sağlık harcamalarında ağır maddi yük oluşturan ve zamanımızın en önemli klinik sorunlarından biridir. Ölüm nedenleri arasında dördüncü sırayı almaktadır (2). Her gün biraz daha hızlanan sosyal ve teknolojik yaşam koşullarında kafa travmalarının insidansı ve buna bağlı mortalite ve morbidite riski giderek artmaktadır (3). Günümüzde teknolojik gelişmelere ve insan eğitime paralel olarak travmaların önlenmesine yönelik çalışmalar sürmektedir. Tıp bilimindeki ilerlemeler çerçevesinde, beynin biyokimyasal ve histokimyasal yapısı daha iyi anlaşılır hale gelerek kafa travmasının daha iyi değerlendirilmesi ve daha etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi mümkün olmaktadır. Kafa travmaları, neden, sıklık, yaralanma şekli ve oluşum mekanizmaları bakımından önemli farklılıklar göstermektedir. Travmaya bağlı oluşan beyin hasarı, etki eden güçlerin direk etkisi ile oluşan primer (birincil) hasar ve daha sonra gelişen çeşitli metabolik olayların zincirleme reaksiyonu sonucu oluşan sekonder (ikincil) hasar şeklinde olmaktadır (4).

Sekonder beyin hasarının önemli bir kısmını travma sonucu beyinde antioksidan mekanizmalar arasında dengelerin bozulmasıyla açığa çıkan serbest oksijen radikalleri ile meydana gelen lipid peroksidasyonu oluşturmaktadır. Travma ile oluşan iskemi sonrası nöronal hasarı önlemek ve kötü nörolojik sonuçları düzeltmek için, serbest oksijen radikallerinin üretimini veya dağılımını azaltmak gerekmektedir. Serbest oksijen radikallerini inhibe eden ajanların, tedavi edici etkileri ile SSS'de travma veya iskemi sonrası oluşan kötü nörolojik tabloyu olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (5). Antioksidan savunma sisteminin iskemik dokularda özellikle reperfüzyondan sonra medyana gelen oksiradikalleri tümüyle etkisizleştiremediği ve post-iskemik doku hasarında başlıca sorumlulardan birinin oksiradikal reaksiyonları olduğu kabul edilmektedir (6).

Beynin diğer organlara göre oksidatif streslere karşı savunma mekanizması daha azdır. Travmaya maruz kalan beyin, oksidanlara karşı ikincil hasardan korunduğu oranda normal fizyolojisine dönebilir (7). Bu nedenle beynin travmaya karşı antioksidan mekanizmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bir bileşeni olan KoQ₁₀ membran stabilizasyonunda rol oynayan güçlü bir antioksidandır (8). Yapılan deneysel çalışmalarda KoQ₁₀'un iskemi reperfüzyon hasarı tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur (9-10). Çeşitli çalışmalarda KoQ₁₀'un lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, serbest oksijen radikallerine karşı alfa - tokoferol kadar etkili olduğu, geçici serebral iskemiden sonra KoQ₉ ve KoQ₁₀'un doku seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (11-13). KoQ₁₀'un beyin laktat seviyesini azalttığı ve hayvan modellerinde iskemik lezyon çapını küçülttüğü belirtilmektedir (14-16).

Bu çalışmada; ratlara, Marmarou ve arkadaşları'nın uyguladığı deneysel kafa travması modifiye edilerek uygulanmış ve fokal nöronal hasar ve iskemi oluşturulmuştur (1). Bilimsel çalışmalarla antioksidan etkisi kanıtlanmış KoQ₁₀ gavaj yolu ile yapılan travmanın ardından verilmiş; Histopatolojik ve Biyokimyasal etkileri incelenmiştir. KoQ₁₀'un tedavisindeki yeri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kafa Travmaları

2.1.1. Kafa Travmalarının Tarihçesi

Yazının kullanılmaya başlanmasından çok önceki çağlardan beri Nöroşirürji uygulamalarının yapılmış olduğunu çeşitli kazılarda bulunan kafataslarının incelenmesi ile anlayabiliyoruz. Bazı kafataslarında insan eli ile açıldığını düşündüğümüz deliklerin varlığı bizi bu kanıya ulaştırmaktadır. İlk örnekler olarak M.Ö.3000 yıl önceki Mezopotamya ve Mısır medeniyetlerine ait tıbbi yazılar tarihte yer almaktadır. Mısırdaki hüküm süren firavunlar devrinde yazılmış Edwin Smith papirüsü çok gelişmiş Nöroşirürji uygulamalarını içermektedir. M.Ö 460 yılında doğan, modern hekimliğin babası olarak bilinen Hippocrates'in "Hipokrat Koleksiyonu" diye bilinen kitaplarında "Kafa Travmaları" adlı cilt bulunmaktadır.

Travmatik intrakranial lezyonların tedavisinde 19.yüzyıl sonunda ve 20.yüzyıl başlarında nöroşirürjinin öncülerinden Victor Horsley, Harvey Cushing, W.H. Jacobson, Hugh Cairns ve Walter Dandy'nin katkıları sayesinde ilerleme elde edildi (17).

2.1.2. Kafa Travmalarının Epidemiyolojisi

Kafa travması hayatın erken dönemlerinde görülen ölüm ve sakatlıkların en yaygın nedenidir, en çok 15-30 yaşları arasındaki insanları etkilemekte ve erkeklerde kadınlardan 2-4 kat daha fazla rastlanmaktadır. Her 15 saniyede bir kafa travması ve 12 dakikada bir kafa travmasına bağlı ölüm görüldüğünden, acil doktoru her gün bu tip hastalarla karşılaşmaktadır. Bütün travma ölümlerinin %50'sine kafa travması eşlik etmektedir (18). Kafa travmasına bağlı ölümlerin %50'si hastaneye ulaşmadan gelişmekte, hastanedeki ölümlerin 2/3'ü ise ilk 24 saat içinde olmaktadır. Bu ölümlerin 1/3'ü primer beyin hasarına bağlı iken sekonder beyin hasarına bağlı ölümlerin %90'ı kontrol edilemeyen kafa içi basınç artışı ile ilgilidir (19). Türkiye'de yılda 5-7 bin kişi, dünyada ise yaklaşık 200 bin kişi trafik kazaları nedeniyle yaşamlarını yitirmektedir (20).

Son yıllarda, kafa travmalarının fizyopatolojisi hakkındaki bilgilerde artış, yoğun bakımdaki hasta izleme ve bakım tekniklerindeki gelişmelere bağlı olarak mortalite oranında azalma ve prognozda belirgin düzelmeler gözlenmektedir.

2.1.3. Kafa Travmalarının Fizyopatolojisi

Geçen 35 yıl içerisinde kafa travmaları kaynaklı ölüm oranları büyük oranda düşme göstermiştir. Bu ilerleme kafa travmalarının fizyopatolojisinin bilinmesi ve bunun temel alınarak oluşturulan konseptlerin gelişmesi sayesinde olmuştur.

1975 yıllarında primer darbe kaynaklı yaralanma genel olarak anlık ve geri dönüşsüz olarak kabul edilirdi. Ancak bu görüş daha sonra kısmi olarak değişmeye başladı. Yapılan çalışmalar primer beyin yaralanmasından saatler sonra bile hücre ölümlerinin başlayabileceğini ve hatta bundan dahada önemli olarak darbenin etkisinin geri dönüşsüz olmadığını ortaya koymuştur. Bunun sonucunda travmatik hasarlanma tek başına darbenin etkisi olmayıp sekonder yaralanmanında bunlar üzerine eklenerek prosesin başladığı kabul edilmiştir.

Hasarlanma süreci birbiri üzerine geçmiş 4 faz olarak kabul edilmektedir.

1. Primer hasarlanma
2. Primer hasarlanmanın gelişimi
3. Sekonder veya ilave hasarlanma
4. İyileşme

Kafa travmalarında ortaya çıkan dokulardaki patofizyolojik değişiklikleri şu şekilde sınıflayarak değerlendirebiliriz (21-22):

A. Nöronal dokuda oluşan süreç

a. Akson

b. Sinaptik aralık

B. Vasküler dokuda oluşan süreç

C. Kan-beyin bariyerinde oluşan süreç ve beyin ödemi

D. İnflamatuar süreç

Travmatik beyin yaralanmalarına bağlı klinik tablo beyin dokusu, beyindeki vasküler yapıların ve kafatası kemiklerinin mekanik olarak distorsiyonu ile başlar.

Travmanın tipi bu mekanik distorsiyonun lokalizasyonu ve şiddeti ile belirlenir. Buna göre travma fokal veya diffüz olabilir. Travmada etkilenen yapılara bağlı olarak primer travmatik etkiler beynin nöral dokusu, vasküler dokusu veya her ikisini de içerir. Bu etkiler daha geç ortaya çıkan sekonder olaylar ile etkilenebilirler. Bu geç ortaya çıkan ikincil etkiler afferent sinir impulslarında kesilme ve eliminasyon olup gecikmiş hücre ölümü ile sonuçlanabilir.

Direkt travmanın etkisiyle oluşmayan sekonder olaylar iskemi, beyin ödemi, artmış kafa içi basıncıdır.

Fokal beyin yaralanmasına sebep olan olayların fizyopatolojik kaskadı diffüz beyin yaralanmalarında farklılık gösterir. Fokal beyin yaralanmalarında travmatik kontüzyon veya hematomlar lokal kitle etkisi oluşturur. Buda beyinde şifte, herniasyonlara ve beyin sapı basılarına sebep olur.

2.1.3.1. Nöronal Dokuda Oluşan Süreç

A. Nöron-Akson: Son yıllarda yapılan çalışmalar eskiden kabul görmüş olan, diffüz aksonal yaralanma sırasında aksonların darbenin olduğu sırada tamamen yırtılması teorisinde önemli değişiklikler yapmıştır. Bu çalışmalara göre tamamen aksonların yırtılması çok az olup daha çok olarak aksonlarda kısmi hasarlanmalar olmaktadır. Darbenin etkisi ile aksonlarda oluşan gerilmeler temel olarak Ranvier nodunda olmaktadır. Bu nodal gerilme hızlı bir aksonal hasarlanma ile sonuçlanabilirken çoğunlukla tam bir hasarlanma ile sonuçlanmaz ve gelişen diğer fizyopatolojik olaylar sonucu ya ikincil olarak aksotomiye dönüşür veya iyileşerek normal fonksiyonel yapıya geçer.

B. Sinaptik Aralık: Direkt travmanın etkisiyle aksonların Ranvier nodları üzerinde bu değişiklikler olurken aynı zamanda travma sinapslar üzerinde de değişik problemlere sebep olabilmektedir. Deneysel olarak yapılan kafa travması çalışmalarında direkt travmanın etkisiyle birçok nörotransmitter seviyelerinde değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda özellikle eksitator aminoasitlerin (EAA) ve ekstrasellüler potasyumun 3-4 kat fazla oranlarda bu bölgede olduğu gösterilmiştir. Bir de travma üzerine iskemik olaylar eklendiğinde bu eksitator aminoasitlerdeki artış 50-60 kat seviyelere ulaşmaktadır. Ayrıca ekstrasellüler bölgede

K^+ artışı EAA'lerin salınımını tek başına da arttırabilmektedir. Bu artan EAA'ler postsinaptik aralıkta birtakım reseptörlere bağlanarak etkilerini göstermektedirler. Bu reseptörlerden olan NMDA (N-Methyl D Aspartate) reseptörleri EAA'lerin kendisine bağlanması ile nöronda depolarizasyona sebep olarak hücre içine Ca^{2+} ve Na^+ girişine sebep olur. Bir diğer reseptör olan AMPA'nın (Amino 3-Hydroxy 5-Methyl 4-Isoxazole Propionic Acid) etkisi ise sadece hücre içine Na^+ , hücre dışına K^+ çıkışının sağlanmasıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar Metabotropik EAA reseptörleri adında değişik bir reseptör çeşidinin varlığını ortaya koymuştur. Ca^{+2} iyonları yaşamın temel mesajcıları olark kabul edilir; hücre için temel fonksiyonlar olan mitozun başlaması, regülasyonu, motilite, büyüme, sekresyon gibi işlevleri düzenler. Ancak özellikle nöronlar için kontrolden çıktığında ölümcül olur. Travmadan sonra oluşan hücre içindeki Ca miktarlarındaki artış hücre içinde bulunan, fosfolipaz, proteaz ve lipazları aktive ederek hücre proteinlerinin, lipidlerinin ve DNA'nın sindirilip parçalanmasına sebep olur (21-22). Posttravmatik EAA'lerin artışı hidroksil (OH^-) yapımını arttırmaktadır. Ayrıca artmış hücre içi Ca^{2+} unda sebep olduğu artmış fosfolipaz aktivitesi sebebiyle araşidonik asitlerin yıkılmasına ve bunun sonucunda oluşan serbest radikaller lipid peroksidasyonuna neden olarak kalıcı nöronal hasarlanmaya sebep olur.

C. Vasküler Dokuda Oluşan Süreç: Primer travma ile mekanik hasarlanma nöral, glial dokuda olabileceği gibi doğal olarak vasküler yapılarda da olabilir. Bu yaralanmalar sonucu gelişen kontüzyon ve intraserebral kanamaların etrafındaki dokuda ciddi boyutlarda beyin kanı akımında azalma olmaktadır. Bu akım 18 ml/100 g/dk'nın altına düştüğünde iyonik homeostazisi sağlayacak olan enzimler çalışmamakta ve bu noktadan itibaren enerji üretimi anaerobik glikoliz ile sağlanmakta ve bu da aşırı derecede laktat üretimine sebep olmaktadır. Laktatın artması hücrede asidozise ve Ca^{2+} üzerinden hücrenin yıkımına kadar uzanmaktadır. Aslında, travmanın direkt etkisi ile oluşan iyonik dengenin bozulması ve bunun sonucunda meydana gelen anarşik ortamın düzeltilmesi için posttravmatik erken dönemlerde hasarlanan hücrelerde aşırı derecede enerji isteği olmaktadır. Bir de bölgesel kan akımında azalma oluşursa bu dokudaki hasarlanma artan enerji isteğinin karşılanamaması veya anaerobik glikoliz ile karşılanabilmesi sonucunda daha fazla hasarlanacaktır.

D. Kan-Beyin Bariyerinde Oluşan Süreç ve Beyin Ödemi: Beyin ödemi ağır kafa travmalı olguların hemen hepsinde oluşur. Orta şiddeteki kafa travmalarında ise bu oran %5-10 arasındadır. Posttravmatik ilk 30 dakika içerisinde ekstrasellüler volümde artış olur. Bu artışın kaynağı travmanın oluşturduğu mekanik etkiye bağlı olarak kan-beyin bariyerindeki orta ağırlıklı moleküller için olan geçici açılmadır. Posttravmatik 1. saatten sonra ekstrasellüler mesafe hızlı bir şekilde küçülerek su molekülleri hücre içerisinde artmaya başlar. Bu sırada meydana gelen glikozun mikrosirkülasyona ulaşamaması veya sekonder gelişen iskemi sebebi ile iyonik hemostazın tekrar sağlanamaması hücre içi ödemin daha da fazla artmasına sebep olur. Genel olarak beyin ödemi değerlendirildiğinde; posttravmatik ilk günde görülen beyin ödemi ister genel isterse de fokal orijin olarak vazojenikten daha fazla sitotoksik olarak kabul edilir. Vazojenik ödem pek muhtemel olarak posttravmatik 10-15 günlerde fokal kontüzyon alanlarının etrafında belirgin olmaya başlamaktadır.

E. İnflamatuar Süreç: Kafa travmalarında travma sonrası hemen ortaya çıkan fiziksel hasarlanmayı takiben devam eden ikincil doku hasarlarına sebep olan bu olaylar zincirinin bir halkasını da posttravmatik inflammatuar yanıt oluşturur. Bu yanıtın ana kaynağı primer travmanın yol açtığı doku hasarlarının ortamdaki uzaklaştırılma isteği olmaktadır. Bu işlem sırasındaki en önemli nokta nötrofillerin dokuya infiltrasyonudur. Bu infiltrasyonda sellüler adheziv moleküllerin salgılanması, inflammatuar medyatörlerin üretimi, yüzeyel antikoagülan mekanizmaların bozulması ile oluşan endotel hücre hasarlanması ile tetiklenir. Nötrofillerin aktive olmaları sonucunda serbest radikaller salgılanır ve proteazlar açığa çıkar. Bunlarda vasküler yapılarda hasarlanmalara sebep olarak kan-beyin bariyerini bozup beyin ödemeine sebep olur. Bu oluşum içerisinde aslında nöronlar arasında iletişimi sağlayan, vasküler yapının tonitesinde etkili olan ve pıhtı oluşumu ile nötrofiller üzerinde toplayıcı etkisi olan nitrik oksid (NO) yer alır. Kafa travmaları sonrası ortamda oluşan nitrik oksidi sentezleyen enzimlerden olan endotelial kaynaklı nitrik oksit sentetaz (eNOS) serebral mikrosirkülasyonda vazodilatör etki ile prognozu iyileştirici etki yaparken, nöronal kaynaklı olan (nNOS) ve inflammatuar olaylarda indüklenen (iNOS) formları ile serbest radikaller oluşturarak mitokondrial fonksiyonları bozmakta ve DNA yıkımı ile direkt hücre ölümlerine sebep olmaktadır (21-22).

2.1.4. Travmatik Beyin Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Travmatik beyin yaralanmalarının uygun tedavisi, kafa travmalarının patofizyolojisinin iyi anlaşılmasını gerektirir. Travmatik beyin yaralanmaları kranium ve içeriklerine yönelik eksternal mekanik bir kuvvetin uygulanmasının sonucu olup geçici ya da kalıcı bozukluklara, fonksiyonel yetersizliklere veya psikolojik davranışlara neden olur. Klinikte konküzyodan komaya hatta ölüme kadar varan olaylar silsilesine yol açabilir. Kafa travmasındaki tedavinin amacı sekonder beyin yaralanmalarını ya önlemeye ya da minime indirmeye yöneliktir.

Travmatik beyin yaralanmaları primer ve sekonder olmak üzere 2 kategoriye ayrılır:

Primer beyin yaralanmaları travma anında ya travmanın direkt etkisi sonucu beyin parankiminde yada akselerasyon ve deselerasyon kuvvetlerine bağlı uzun beyaz cevher traktuslarında meydana gelir. Beyin parankimasına olan direkt travma beynin kemik protuberanslara çarpması veya beynin kemik fragmanlar yada yabancı cisim tarafından penetrasyonu sonucudur. Bu ilk yapısal bozulma, darbenin sonucu olup iyileşme eğilimi kötüdür. Çocuklarda daha esnek olan kafatası kolaylıkla deforme olur ve “kup” tipi yaralanmayla sonuçlanır. Erişkinlerde ise darbenin karşı tarafına, kemik protuberanslarına doğru beynin itilmesi “konturkup” lezyona yol açar. İntrakranial kanama vasküler yapıların yırtılma veya kopup ayrılması sonucudur. Akselerasyon-deselerasyon kuvvetleri uzun beyaz cevher traktuslarında kopup ayrılmaya neden olarak aksonal bozulma ve sekonder hücre ölümüne neden olurlar.

Sekonder beyin yaralanmaları başlangıç travmasını takip eden sistemik ve intrakranial olaylar olup primer travmaya bir yanıt olarak meydana çıkarlar, nöronal harabiyet ve hücre ölümüne yol açarlar. Bu travmadan hemen sonra meydana gelir ve uzun süre devam edecek etkilere neden olur. Primer travma tarafından tetiklenen inflamatuvar olaylar bir dizi biomoleküler değişikliklerin bir sonucu olup mikrosirkülasyonun bozulmasına ve nöronal bütünlüğün ortadan kalkmasına yol açar. Dolayısıyla sistemik hipotansiyon, hipoksi, hiperkapni, artan intrakranial basınç gibi sekonder yaralanmalar orijinal beyin travması ya da multipl travmalar tarafından başlatılan bir seri fizyolojik değişikliklerin biyokimyasal sonuçlarıdır (23).

2.1.4.1. Primer Beyin Yaralanma Nedenleri

A. Kafatası Kırıkları: Primer beyin yaralanmaları tipleri fokal (örn. kafatası fraktürü, intrakranial hematom, laserasyon, kontüzyon, penetre yaralanmalar) ya da diffüz (diffüz aksonal yaralanmalar) olabilir. Kafatası kırıkları kubbe veya kaide kırıkları olabilir. Hematom, kranial sinir yaralanmalarına yol açabilir ve şiddetli beyin travmalarına kafatası kırıkları eşlik edebilir. Kubbe kırıkları çizgisel karakterde olabilir ve sinüslere uzanabilir. Yıldızvari, kapalı veya açık kırık tarzında olabilir. Kapalı kırıklarda dış dünya ile temas yokken açık kırıklarda ise bu temas santral sinir sistemi enfeksiyonları için giriş kapısı oluşturur. Fraktürler yine fragmanların içeri yerdeğiştirip değiştirmedigine göre deprese ya da deprese olmayan kırıklar olarak da tanımlanabilir. Basit fraktürde yalnızca bir kemik fragmanı söz konusu iken bileşik tarzda kırıkda en az 2 kemik fragmanı vardır. Bazal kırıklar ise genellikle dağılan kuvvetlere bağlı olarak meydana gelir ve beraberinde kranial sinir yaralanmaları ile otore, rinore görülebilir.

B. İntrakranial Kanamalar: Farklı tip intrakranial hemorajiler meydana gelebilir. Epidural hematom kafatasına gelen darbe sonucu kırığa bağlı olarak sıklıkla dural arter yada venlerde ve bazende diploik venlerde oluşan laserasyonlar sonucu meydana gelir. En sık olarak da orta meningeal arterin yırtığı butip bir hematoma yol açar. Arteriyel örijinli bir kanama sonucu oluşan kan birikimi nörolojik tablonun hızla bozulmasına neden olur. Subdural hematom ise şiddetli beyin travmalarında kortikal ven veya pial arterlerin yaralanmaları ile birlikte seyreder. Mortalite yaklaşık %60-80'dir. İntraserebral kanamalar parankim içi kanamalar olup aşırı kortikal kontüzyonun eşlik ettiği daha büyük ve daha derin yerleşimli serebral damar yaralanmalarına sekonder gelişen laserasyon veya kontüzyon sonrası meydana gelir. İntraventriküler kanamalar çok şiddetli travmatik beyin yaralanmalarının sonucunda görülür ki prognozu kötüdür. Travmatik subaraknoid hemoraji ise subaraknoid aralıktaki yüzeyel mikrodamar kanamalarıdır. Başka bir serebral patoloji eşlik etmiyorsa bu tip bir kanama benign kabul edilebilir. Ancak kan yıkım ürünleri araknoid villusları bloke ederse kommunike ve hatta mevcut kan 3. ya da 4. ventrikülü tıkarsa da nonkommunike hidrosefali oluşur.

C. Kup ve Kontrakup Kontüzyon-Konküzyon: “Kup” ya da “kontrakup” kontüzyonlar vasküler harabiyet ile doku harabiyetinin bir kombinasyonu sonucu oluşur (23). ”Kup” kontüzyon, kafatasına direkt olarak gelen darbeye bağlı bir kuvvetin etkili olduğu bölgede beynin deforme olup tekrar eski halini alması sürecinde meydana gelen negatif basıncın sonucu oluşur. Kontrakup kontüzyonda benzer düzenek ile oluşmakla beraber darbeye bağlı kuvvetin etkili olduğu bölgenin zıt tarafında meydana gelir. Atalet kuvvetlerinin yüklenmesiyle oluşan dönüşümsel ivmenin meydana getirdiği darbeye bağlı gelişen negatif enerjinin oluşturduğu boşluk sonucu, beynin hareketinden önce kafatası ve duramaterin ivme kazanması, kontrakup lezyonlara yol açar. Direkt darbe bölgesinde dağılan enerjinin miktarı, kontüzyonun “kup” ya da “konturkup” olacağını belirler. Sert, küçük bir objenin oluşturduğu darbenin enerjisinin çoğu darbe bölgesinde dağıldığı için “kup” kontüzyona yol açar. Diğer taraftan daha büyük bir cisim darbe bölgesinde daha az bir travma oluştururken başın hareketinin başlangıcında yada bitiminde yayılan enerji kontrakup tip kontüzyona neden olur. Konküzyon ise beynin derin yapılarının travmatik deformasyonu olup komaya kadar varabilen şuur kaybı ile seyreden yaygın nörolojik defisitlere yol açar. Konküzyon diffüz aksonal yaralanmanın daha hafif bir formu olarak kabul edilebilir.

D. Diffüz Aksonal Yaralanma: Beynin beyaz cevherinde oluşan geniş kapsamlı jeneralize harabiyettir. Yüksek hıza bağlı akserelasyon ve deserelasyon esnasında başın lateral hareketlerine bağlı falks ve tentoriyumdaki aşırı esneme bu tip yaralanmaya yol açabilir. Diffüz aksonal yaralanma iskemi sonucunda meydana gelebilir. Travmayı takib eden birkaç gün içerisinde, şişen aksoplazmaya ait amorf-belirgin bir şekle sahip olmayan ve retraksiyon topları olarak adlandırılan beyaz cevher içerisine dağılmış aksonal parçalanmalar, diffüz aksonal yaralanmaların karakteristik özellikleri olarak primer beyin travmasında görülürler (24). Bu lezyonların dağılımının sentrum semiovaleden beyin sapına doğru olması, travmayı oluşturan ve giderek artan akselerasyon veya deselerasyonun mekanizmasının belirgin bir göstergesi olarak, darbenin etkisinin merkeze doğru yaklaşan karakterde olduğunu düşündürür. “Primer diffüz aksonal yaralanma” kavramının son zamanlarda yapılan deneysel araştırmaların ışığında değiştirilmeye gereksinimi vardır (25). Şimdi artık bilinmektedir ki travmaya bağlı olarak meydana gelen

beyindeki hareket bir aksonal yanıtın meydana çıkmasını tetiklemekte ve birbirini takip eden olaylar başlangıçtan itibaren tam ve en son şeklini alarak değil de aksine 6 saate kadar varan bir süreç içinde oluşmaktadır. Bu olaylar aksolommanın katlanması ve aksoplazmik akımın kesilmesi ve de akson halen canlılığını, devamlılığını korurken herhangi bir devrede aksonda lokalize şişme ile karakterizedir. Sürecin devamı halinde aksondaki ayrılmayı distalde wallerian dejenerasyonu takip eder. Bu nedenle, travmayı takip eden ilk birkaç saat içerisinde, en azından bazen diffüz aksonal yaralanma tablosunu düzeltebilmek mümkün olabilir. Fokal ve polar kontüzyonu oluşturan süreç eşit karışık mekanizmayla, beyin nekrozunu da meydana getirmek üzere saatlerce devam eder. Sitotoksik işlemler serbest oksijen radikallerinin özellikle yüksek reaktif hidroksil radikal tarzında salınımı, hücre zarlarının lipid peroksidasyonu, iyon kanallarının kalsiyum akımına açılması, sitokinlerin salınımı ve serbest yağ asitlerinin vazokonstriksiyon ve iskemiye neden olabilen aşırı vazoreaktif maddelere dönüştüren metabolik değişikliklere uğraması şeklinde özetlenebilir (26). Serebral hemisferlerde 2 cm'den küçük tek yada multipl intraparakimal hemorajiler, intraventriküler hemoraji, korpus kallozumda hemoraji, 3. ventrikül komşuluğunda 2 cm'in altında fokal küçük kanama odakları, beyin sapı kanaması ile karakterizedir. Diffüz aksonal yaralanmada en sık gözlenen magnetik rezonans görüntüleme bulguları ise korpus kallozumun spleniumunda veya beyaz cevherde temporal ya da paryetal kortikomedüller kavşakta multifokal anormal sinyaller (T2 ağırlıklı imajlarda parlak) ve dorsolateral rostral midbrain ve korona radiata da dâhil olmak üzere diğer bölgelerde sıklıkla anormal sinyaller ile nonspesifik atrofik değişikliklerdir. Diffüz aksonal yaralanmada lipid antioksidanlar, kalsiyum kanal blokörleri, glutamat reseptör antagonistleri gibi özel tedavi edici ajanların kullanılmasıyla, bu mekanizmalarla çalışan sitotoksik işlemler bloke edilebilir. Penetran yaralanmalar ise ateşli silahla yaralanma olabileceği gibi delici olan veya olmayan cisimler ile de meydana gelebilir (27).

2.1.4.2. Sekonder Beyin Yaralanma Nedenleri

Sekonder beyin yaralanmaları primer travmanın etkileriyle daha ileri hücresel harabiyetler sonucu oluşur. Primer travmayı takiben saatler yada günler içinde

meydana gelir. Hemen daima bütünüyle iskemik tipte olup %80'in üzerinde fatal seyreder (28).

Travmatize beyni sekonder olarak etkileyen sistemik olaylar;

- Hipoksemi
- Arteriel hipotansiyon
- Hiperkapni
- Şiddetli hipokapni
- Ateş
- Hiponatremi
- Anemi
- Diffüz intravasküler koagülopati

İntrakranial olaylar;

- Hematom (ekstradural, subdural, intraparakimial)
- Beyin ödemi
- İntrakranial hipertansiyon
- Serebral vazospazm
- İntrakranial enfeksiyon
- Epilepsi

Sekonder beyin harabiyetinde major üç neden olarak hipoksi %30 ($\text{PaO}_2 < 65 \text{ mmHg}$), hipotansiyon %13 (sistolik kan basıncı $< 90 \text{ mmHg}$) ve anemi %12 (hematokrit $< \%30$) bulunmuştur.

A. Sekonder Beyin Yaralanmalarında Nörokimyasal Mekanizmalar:

Sekonder beyin yaralanmaları, nörokimyasal araçlarla yayılırlar (29). Eksitatuvar amino asitler, örneğin; glutamat ve aspartat travmatik beyin yaralanmaları sonrasında yükselir. Hücrelerde şişme, vakuolizasyon ve nihayet nöron ölümüne yol açarlar. Klor ve Sodyumun hücre içine girmesine ve dolayısıyla akut nöronal

şışmeye neden olurlar. Eksitatuvar aminoasitler, ayrıca Ca^{2+} 'un da hücre içine girişiyle bağlantılı gecikmiş hücre harabiyetlerine neden olurlar. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör agonistleri de kalsiyumun hücre içine girişine ayrıca katkıda bulunurlar. Böylelikle tüm bu etkilerin yanı sıra eksitatuvar aminoasitler yüksek enerji fosfat depolarını azaltır veya serbest radikalleri arttırırlar. Endojen opioid peptidler eksitatuvar aminoasitlerin presinaptik salınımlarını değiştirerek nörolojik harabiyetin artmasına yol açabilirler. Rostral ponsdaki muskarinik kolinergik sistem aktivasyonu etrafı ilgisiz kesilmiş kişilerde görüldüğü gibi, travmatik beyin yaralanmalarında da görülen davranış supresyonundan sorumludur. Travmatize beyinde artan metabolik gereksinim ve travma sonucu sempatoadrenomedüller aksis ve serotonergik sistemin uyarılmasının indüklenmesi ile meydana gelen glukoz kullanımındaki yetersizlik beyindeki zararı daha da arttırır. Yaralanmanın şiddetini arttıran diğer biyokimyasal işlemler arasında artan ekstrasellüler K^+ 'un meydana getirdiği ödem, artan sitokinlere bağlı inflamasyon ve Ca^{2+} 'un hücre içine girişine olumsuz katkıda bulunan, azalan intrasellüler magnezyum sayılabilir.

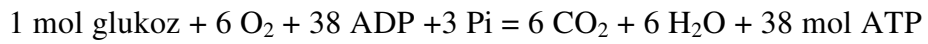
Darbeyi takiben beyin harabiyetinin oluşumundan sorumlu patofizyolojik mekanizmaların nasıl çalıştığı özetlenecek olursa darbeyi takiben hemen yoğun nörotransmitter salınımı meydana gelir. Bu ajanlar; asetilkolin, katekolaminler ve glutamattır. Bunu takiben aksonal injurinin derecesiyle orantılı bir bilinç kaybı süresi söz konusudur. Aksonal harabiyetin tamamı darbe anında oluşmaz. Bilinç kaybına neden olan aksonlarda, başlangıçta oluşan bazı fonksiyonel bozulmalardır. Asıl aksonal harabiyet daha sonra meydana gelir. Hematom/kontüzyon bölgesinde beyin kan akımı ileri derecede azalır. Bu da mekanik bozulmaya neden olur. Tüm bu basamakları takiben serebral iskemi meydana gelir. Aksonal harabiyetin oluşmasında ise aksonlarda meydana gelen yaygın depolarizasyona bağlı olarak Na^+ ve Ca^{2+} hücre içine girmesi, K^+ hücre dışına çıkması sonucu aksonda şişme meydana gelir. Bu da ayrıca mekanik bozulmaya neden olur (30).

2.1.5. Kafa Travmalarında Metabolik Değişiklikler

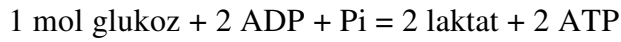
Beyin dokusunun, enerji ihtiyacını karşılamak için aerobik bir ortama, devamlı oksijen (O_2) ve glukoz ihtiyacı vardır. Beyin, vücut ağırlığının %2'sini

oluşturmasına karşılık kardiyak debinin % 20'sini, tüm vücudun kullandığı oksijen ve glikozun % 15-20'si gibi önemli bir miktarını kullanır. Arteriyel kan ortalama 19,6 ml/dl oksijene sahiptir, internal juguler venöz kan ise ortalama 12,9 ml/dl oksijen içerir. Beyin tarafından kullanılan oksijen veya arterio-venöz oksijen farkı ortalama 6,7 ml/dl'dir.

Glukoz, hücre içerisinde mitokondrilerde, krebs-trikarboksilik asit siklusu ile oksidatif olarak kullanılarak yüksek enerjili fosfatların üretimini sağlar. Aerobik glikolizis şu şekilde formüle edilir:



Diğer taraftan bir travma sonrası oluşabilecek hipoksik veya anoksik koşullarda hücrelerde anaerobik glikoliz olur ki aşağıdaki gibi formüle edilir:



Yani O₂ varlığında kendi metabolizması için gerekli olan yüksek enerjili fosfatları üretebilen hücre, anaerobik koşullarda artık enerji üretemez. Bu olay diğer hücrelerin de harabiyetine sebep olur. İntraserebral laktik asidozise neden olur. Her ne kadar glukoz santral sinir sisteminin primer enerji kaynağı ise de beyin birçok başka substratı metabolize ederek de enerji üretebilir. Bu alternatif substratlar, keton cisimleri olan Beta hidroksi butirat, asetoasetat, kısa zincirli yağ asitleri, laktat ve piruvattır. Serebral hipoksi veya iskemi durumlarında anaerobik yollar ile glukozun artan metabolizması ilave nöronal hasarlara yol açar. Diğer taraftan nonglukoz substratların artan miktarlarda bulunuşu hücreler üzerinde koruyucu etkiye sahiptir. Şiddetli KT'larını takiben serebral metabolizma, aerobik ve anaerobik glukoz metabolizmasına bağlanır. Çünkü diğer enerji substratlarının temini sınırlanmıştır. Diğer enerji substratları beyin tarafından enerji üretmek üzere % 16 oranında kullanılır. Şiddetli KT'sına eşlik eden hipermetabolik durumun en iyi göstergesi hiperglisemi ve ketogenezin supresyonudur. Bu yüzden KT'larının erken iyileşme döneminde hastalara infüze edilen (mayi vermek veya kalori temini için) glukozun ketogenezin daha çok süprese edilmesine, dolayısıyla da non glikotik

enerji substratlarının temininin iyice sınırlanmasına yol açacağı kesindir. Bu olaylar laktik asit üretiminin daha da artarak beyin dokusunun hasarının artmasına ve yayılmasına yol açacaktır. Ketogenezin supresyonu da KT sonucu ölümler ile ilişkilidir. Hipoketonemi, iskemik laktik asidoza katkıda bulunur. Hastalara glukoz yerine salin infüze edilmesi bu olayı tersine çevirir ve ketogenezin supresyonunu azaltır, serebral ve BOS laktat konsantrasyonlarında azalmaya yol açar (31).

2.1.6. Kafa Travmalarında Serebral Kan Akımı ve Serebral Perfüzyon Basıncı

İskemiye en duyarlı hücreler nöronlardır. Normal beyin metabolizmasının sağlanmasında en önemli unsurlardan birisi serebral kan akımı (SKA) ve onun komponentleri olan serebral kan hacmi (SKH) ve serebral perfüzyon basıncı (SPB)'dir. SKA normal erişkin bir insanda kortekste 45 ± 7 ml/100 gr/dakikadır. Medullada ise 25 ± 4 ml/100 gr/dakika olarak tespit edilmiştir. SKA 1 yaşında en fazla, hayatın ilk 10 yılında fazla iken 40-50 yaşlarında hafifçe azalır.

SKA'nı etkileyen en önemli üç faktör;

1. Perfüzyon basıncındaki değişiklikler,
2. Serebrovasküler damar tonusunun yol açtığı direnç,
3. Serebral oksijen metabolizma hızıdır.

SKA'nın 16-18 ml/100 gr/ dakikanın altına düştüğünde beyin spontan ve uyarılmış elektrik aktivitesi azalır.

Serebral kan akımı = serebral perfüzyon basıncı / serebral vasküler rezistans

$$(SKA = SPB / SVR) = (\text{Ortalama arteriyel basınç} - \text{venöz basınç}) / SVR$$

Serebral perfüzyon basıncı kanı serebral dolaşıma iten arteriyel basınç ile onu geri çeken venöz basınç arasındaki farka eşittir. Serebral perfüzyon basıncı normal olduğunda venöz basınç ihmal edilebilir, böylece serebral perfüzyon basıncı, arteriyel basınca eşit olur. Denklem gereği arteriyel kan basıncı düştüğünde veya

venöz basınç arttığında serebral perfüzyon basıncı ve serebral kan akımı azaltır (32). Normotansiflerde ortalama arteriyel basınç 70-100 mmHg arasında iken serebral kan akımı sabit kalır ve 70 mmHg'nın altına inmedikçe etkilenmez. Hipertansiflerde ise ortalama arteriyel basınç 110-150 mmHg düzeyinde iken sabit olan serebral kan akımı, basınç 110mmHg'nın altına indiğinde, azalmaktadır (33-34).

Son yirmi yılda yapılan klinik ve laboratuvar çalışmaları travma sonrası beyinde bir çok farklı fizyolojik ve metabolik değişikliklerin olduğunu ortaya koymuştur. Primer beyin hasarı sonrası oluşan bu değişiklikler arttıkça beyine enerji sağlayan mekanizmaları etkiler ve serebral fonksiyonlarda bozulmaya neden olur. Kafatası kapalı bir kutu olup herhangi bir hacim artışına aynı oranda basınç artışı ile karşılık verir. Bunun sonucu olarak da serebral perfüzyon düşer. Serebral perfüzyon basıncı (SPB) ortalama arter basıncı (OAB) ve intrakranial basınç (IKB) ile direkt ilişkilidir. $SPB = OAB - IKB$. Bu nedenle SPB'nı >60-80 mmHg sınırında tutmak gerekir. Normal serebral perfüzyon fizyolojik sınırlar içerisinde serebral damarların miyogenik otoregülasyonu aracılığı ile sağlanır. Travmatize beyinde otoregülasyon da bozulmuş olabilir. Bu nedenle oluşan sistemik arteriyel basınç değişiklikleri direkt olarak SPB'ı etkiler (35).

Kısaca belirtilirse beyin çok sınırlı bir kompliansa sahip olup diffüz beyin ödemi yada hematoma gibi kitle lezyonlarına bağlı belirgin hacim artışlarını tolere edemez. Kafa travmasının rasyonel tedavisi Monro-Kellie doktrinini ve hangi spesifik yaklaşımın intrakranial kompliansı nasıl etkileyeceğini temel alır. Total intrakranial hacmin herhangi bir komponentindeki bir azalma intrakranial basıncın azalmasına neden olur. İntrakranial basınç artması, kafa travmalarının istenmeyen sonuçlarından birisidir (36-37).

2.1.7. Kafa Travmalarında Ödem ve Herniasyon

Serebral ödem nörokimyasal ileticilerin etkilerinin ve artan kafa içi basıncın sonucu olarak meydana gelir. Ödemin oluşumuna ayrıca yıkılan kan ve beyin engeli ile bozulan otoregülasyon sonrası serebral kan damarlarında meydana gelen vazodilatasyon da katkıda bulunur. Hidrosefali, kan yıkım ürünlerinin subaraknoid boşlukta serebrospinal sıvının akışını ve araknoid villuslardan emilimini

engellemesi sonucu komünike tip olarak, travmatik beyin yaralanmalarında, nonkomünike tipe göre daha fazla görülür. Komünike olmayan hidrocefali ise kan pıhtılarının interventriküler foramen (monro) 3. ventrikül, aquaduktus veya 4. ventrikülü tıkanması sonucunda oluşur. Supra tentoriyal beyin herniasyonu büyümekte olan bir kitle (kan veya tümör) veya artan kafa içi basıncın mekanik etkisiyle oluşur, 3 tipi vardır: Subfalksiyel tipde aynı taraf hemisferin mediale doğru büyümekte olan bir kitle tarafından itilmesiyle frontal lobun singulat girusu falks serebrinin altından karşı tarafa doğru yerdeğiştirir. Santral transtentoriyal tip herniasyonda ise bazal nukleusların ve serebral hemisferlerin aşağıya yerdeğiştirmeleri sonucunda diensefalon ve komşu mezensefalon tentoriyel açıklığa “notch” itilerek sıkışır. Unkal herniasyonda unkus ve hipokampal girusun medial kısmı, aynı taraf tentoriyel serebelli forameninin kenarından mezensefalona kadar uzanıp üst beyin sapını ve ipsilateral veya kontralateral 3. kranial siniri sıkıştırır. Serebellar herniasyon bir infratentoriyal herniasyon olup serebellar tonsillerin foramen magnumdan aşağı itilmesi sonucunda medullaya bası yapması ve bradikardi ile ölüme yol açması ile karakterizedir (38). Beyin ödemi serebral dokunun su içeriğinin artması ve buna bağlı olarak total kitlesinin artması ile karakterizedir. Beyin, kan beyin bariyeri tarafından anatomik ve fonksiyonel olarak üç kompartmana ayrılmıştır ve bu durum beyin ödemi görünümünü farklılaştırır. Bu üç kompartman:

1. Vasküler (arterler, kapillerler ve venler)
2. Hücresel
3. Hücre dışı (beyin omurilik sıvısı (BOS) ve hücre dışı sıvı) alanlardır.

Son 25 yıl içinde değişik beyin ödemi sınıflandırmaları ortaya konmuştur. Klatzo beyin ödemi ilk olarak vazojenik ve sitotoksik olarak ayırdı. Fishman üçüncü bir tip olarak günümüzdeki adı hidrocefalik ödem olan interstisyel ödemi ekledi. Milrohat ise vazojenik, ozmotik, kompresif ve hidrocefalik olarak dört tip tanımladı.

- **Vazojenik ödem:** Kapiller geçirgenlik artışı sonucunda oluşur. Bu geçirgenlik artışının nedeni sıkı bağlantıların açılması, pinositozun artışı veya kapiller endotel hücre hasarı olabilir. Diğer nedenler olarak endotel hücreli yeni vasküler yapı oluşumu (tümör) ayılabılır. Damar dışına çıkan sıvı proteinden zengindir. K^+ konsantrasyonu normal plazma ve BOS'tan yüksektir. Vazojenik ödem beyaz madde içinde oluşur ve lokal mikrosirkülasyonu bozarak iskemik ödem alanı oluşturabilir. Bu durum lokal kan akımı azalmasına bağlı olarak glial şişme ve serbest radikaller, lizozomal enzimler, yağ asitleri, glutamat ve kininlerin salınmasına neden olur. Ödem sıvısı yaklaşık 80 ml/gün olacak şekilde BOS içine boşaltılır.
- **Sitotoksik ödem:** Hücrede metabolizmanın bozulmasına bağlı olarak glial hücre membranlarındaki sodyum-potasyum pompasının yeterli çalışmaması sonucu oluşur. Bu bozukluk hücrelerde sodyum ve su artışına yol açar ve serebral korteks de belirgindir. Asidozis, eksitator aminoasitler, yüksek potasyum seviyeleri, araşidonik gibi toksik lipidler iskemik sitotoksik ödemin artmasında rol oynarlar.
- **Ozmotik ödem:** Plazma ile beyin hücre dışı sıvısı arasındaki ozmotik uyumsuzluktan kaynaklanır (plazma ozmolaritesinde azalma veya doku ozmolaritesinde artma). Sıvı beyin tüm alanlarında interstisiyel aralığa girer, beyin hücresel yapılarında (glial, nöral ve endotelial hücreler) şişme yapar ve serebral ventriküllerde volüm hızını artırır. Elektrolit kaybı (potasyum) nörolojik bozulmaya neden olur. Serebral enerji yetersizliği (hipoksi, hipoglisemi) ve buna bağlı olarak enerji bağımlı pompaların çalışmaması hücre içine hızla su girişi ozmotik dengeyi bozar. Benzer durum toksinler, iske mi, üremi, hepatik bozukluk sonucunda sitotoksik veya sellüler şişme ile de oluşur. Plazma ozmolaritesinde düşme antidiüretik hormonun düzensiz salınımı ve su intoksikasyonunda oluşur.
- **Hidrosefalik ödem:** Normal BOS drenaj kanallarındaki tıkanıklık sonucu transependimal absorpsiyon ile oluşur. Bu durum MRG'de T2 ağırlıklı görüntülerde periventriküler yüksek sinyal olarak görülür
- **Kompresif ödem:** Sıvı drenajı veya venöz drenaj yetersizliği sonucunda oluşur. Bu durumda başta menengi om lar ve diğer benign ekstra aksiyel tümörler (schwannomalar, kraniofaringiomalar v.b.) neden olur (39).

2.1.8. Kafa Travmalarında Nörolojik Sınıflama

KT'na bağlı mortalite oranı 14-30 /100.000 kişi/yıl olarak tahmin edilmektedir (40). Bilgisayarlı tomografinin (BT) yaygın kullanımı, perifer hastanelerde nöroşirürjiyen bulunması ve bunun sonucu olarak yer kaplayan travmatik lezyonların erken boşaltılması, kafaiçi basınç monitörizasyonu ve serebral perfüzyon basıncının korunması, yoğun bakımdaki gelişmeler gibi son 20-30 yıldaki ilerlemelere bağlı olarak ağır KT'lı olgularda olgularda mortalite oranı %20-30'lara kadar düşmüştür (41). KT'nı sistematik bir şekilde inceleyebilmek ve tedaviyi – tetkikleri Planlayabilmek için farklı klasifikasyonlar tanımlanmıştır. KT oluş mekanizması şiddetinin derecesi ve morfolojisi açısından sınıflandırılabilir. En sık kullanılan klasifikasyonlar KT'nın şiddetini temel alırlar. Travmanın şiddetini değerlendirmek açısından en sık olarak GKS (42), Glasgow-Liege Skalası (43) kullanılır. Ülkemizde yaygın olarak GKS kullanılmaktadır. Bu skalanın olgunun ilk değerlendirilmesinde, takibinde, tedavisinin planlamasında ve prognozunun belirlenmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir (Tablo 1) (44).

Tablo 1: Glasgow Koma Skalası.

1) Göz açma yanıtı (E)		PUAN
a) spontan göz açık		E= 4 puan
b) sözlü uyaran ile göz açar		E= 3 puan
c) ağrılı uyaran ile göz açar		E= 2 puan
d) Göz açmaz		E= 1 puan
2) Sözel yanıt (V)		
a) oryente- ismini, yaşını, vb. biliyor		V= 5 puan
b)konfüzyonda- ancak sorulara yanıt veriyor		V= 4 puan
c) uygunsuz yanıtlar		V= 3 puan
d) anlaşılmaz sözler		V= 2 puan
e) yok		V= 1 puan
3) Motor yanıt (M)		
a) emirlere uyuyor		M= 6 puan
b) lokalize ediyor		M= 5 puan
c) ekstremitayı kaçırmaya çalışıyor		M= 4 puan
d) anormal fleksiyon (dekortikasyon)		M= 3 puan
e) ekstansör yanıt (deserebrasyon)		M= 2 puan
f) hareket yok		M= 1 puan

Kardiyopulmoner resüsitasyon gerektiren veya hemorajik şoktaki olgularda GKS'nın erken değerlendirilmesi yanıtılabilir. Aynı şekilde alkol gibi sedatif-hipnotikler kullanmış olanlarda veya entübasyon için farmakolojik sedasyon veya muskülerölsanlar (kas gevçeticiler) kullanılmış olanlarda dikkatli olmak gerekir. Lokal travma nedeniyle periorbital ödem-hematoma olanlarda göz açma engellenmiş olabilir. Pediatrik grupta uygulanması güç olabilir, bu nedenle verbal cevabın GKS'dan farklı değerlendirildiği çocuk koma skalası (Children Coma Scale) geliştirilmiştir (45). GKS'nın beyin sapı reflekslerini tam olarak değerlendirilememesinden dolayı Liege grubu beyin sapı reflekslerini de eklemiştir (43). Yalnızca başvuru sırasındaki nörolojik bulgulara göre sınıflandırmak tek başına yeterli olmayıp radyolojik bulguların ve klinik seyrin takip edilerek doğru değerlendirilmesi ayrıca önem kazanır.

KT'nın travmanın şiddetine göre hafif (minör), orta ve ağır olarak sınıflandırılması tedavi ve takibi de şekillendireceğinden bilinmelidir. Bu aynı zamanda ortak dili ve algoritmeleri sağlamak açısından da önemlidir.

Hafif Şiddette Kafa Travması: Hafif KT'lı bir kişide başına aldığı bir travma sonrası serebral fonksiyonlarda genellikle geçici olan değişiklikler ortaya çıkar. Konküzyon–Komosyo serebri olarak da adlandırılmıştır. Bu değişiklikler şu şekilde sıralanabilir (46).

1. Belirlenmiş geçici şuur kaybı olabilir ve eğer mevcutsa 5 dakikadan kısadır.
2. Olay anından sonra ortaya çıkan olay öncesi (retrograd) veya sonrası (anterograd) ile ilgili hafıza kaybı (amnezi).
3. Travmadan hemen sonra oluşmuş olan somnolans, konfüzyon veya dezorientasyon
4. Başlangıç GKS 14 veya 15.
5. Fokal nörolojik defisit olmaması
6. Posttravmatik amnezi 24 saatten uzun olmamalı.

Hafif KT'lı hastalarda nasıl bir yol izlenmesi gerektiği bir algoritma ile gösterilebilir. Önemli olan bir nokta da hafif KT tanısının klinik olarak konduğu ve radyolojik bulgulardan, laboratuvar değerlerinden ve uzun süreli klinik gözlemlerden bağımsız olduğu gerçeğidir. Hafif KT klinik bir tanıdır. Stein (46) hafif KT'lı

olguların içerisinde şuur kaybı ve amnezisi olmayan ve GKS'sı 15 olan grubu ayrı olarak ele alıp bu gruba minimal KT adını vermiştir. Hafif KT hiçbir zaman basit bir KT olarak algılanmamalıdır. Hafif KT'lı hastaları taburcu ederken belli konularda uyarmak ve neleri yapmamaları veya yapmaları gerektiği konusunda bilgilendirmek gerekir. Bu grupta bulunan hastalarda da semptomatik olabilecek kognitif sekeller geç dönemde ortaya çıkabilir (47). Kraniyografi yalnızca penetran KT ve BT'nin bulunmadığı durumlarda çekilebilir. Hafif KT'sında fraktür % 3 oranında görülürken ağır KT'sında % 65 oranına kadar çıkabilir. Bu gruptaki hastalara ne zaman kranial BT çekilmesi gerektiği önemli bir noktadır. GKS 14 olan her olguya, GKS 15 olup da şuur kaybı, amnezi, fraktür, kafa tabanı fraktürü indirekt bulgusu olan her olguya BT çekilmelidir. Bu noktada önemli olan hastayı değerlendiren kişinin BT çekilmesine gerek görmesidir. Antiagregan kullanan yaşlı bir hastada GKS 15 olup amnezisi bile olmasa BT çekilmesine gerek görülebilir. Kontüzyon, hematoma, fraktür gibi radyolojik olarak ortaya konabilen yapısal lezyonları olan olgular yüksek riskli hafif KT grubu olarak değerlendirmelidir (48). Gerekli tedbirler alındığında mortalite % 1'in altındadır (49). Yakın zamanda yapılan magnetik rezonans görüntüleme (MRG) çalışmaları hafif KT'lı olgularda da BT ile ortaya konamayan aksonal hasarın varlığını göstermiştir (41).

Orta Şiddette Kafa Travması: Orta şiddette KT, GKS 9 ile 13 arasında olan hasta grubu olarak tanımlanır. Stein bu gruba şuur kaybı 5 dakikadan uzun sürenleri veya fokal nörolojik defisiti olanları da eklemiştir (46). Bu hastalar koma tablosunda değillerdir, halen bazı basit emirleri yerine getirmeye çalışırlar fakat genellikle konfüzedirler ve hemiparezi gibi fokal nörolojik defisitleri vardır. Hafif KT'lı hastalardan farklı olarak hastaların % 40'ında fraktür, laserasyon, kontüzyon ve diffüz aksonal hasar gibi daha belirgin travmatik lezyonları vardır ve % 8'inde nöroşirürjikal girişim gerekmektedir. Bu hastaların yaklaşık olarak % 10 ila 20'sinin klinik tablosunun kötüleştiği bildirilmiştir (50). Bu nedenle rutin olarak entübe edilmeseler bile ağır KT hastalar gibi takip edilmelidirler. Havayolunu açık tutmak için tüm önlemler alınmalıdır. Sürvileri genellikle iyidir, fakat iyileşme sonrasında sıklıkla kognitif sekeller (41) ve post-travmatik epilepsi gibi komplikasyonlar görülür (44). Mortalite % 5'in altındadır (51).

Ağır Şiddette Kafa Travması: GKS 8 ve daha düşük olan olgular bu gruba alınmıştır (52). Bu gruptaki hastalarda morbidite ve mortalite riski çok yüksektir. Hızlı tanı konulması ve tedavi uygulanması çok önemlidir. Yakın zamanda mortalite %20-30'lara kadar düşürülebilmektedir (41). Stein GKS 3-4 olan olguları kritik grup ayrı tutmuştur (46). Bu grubun sürvi prognozu ve iyileşmesi GKS 5-8 olan gruba göre çok daha kötüdür (44). Bu veriler doğrultusunda GKS'nın motor komponentinin prognozu belirleme açısından diğer iki komponentinden daha önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Ağrılı uyarana cevap vermeyen veya ekstansör cevap veren olguların prognozu ağrıyı lokalize eden gruba göre belirgin olarak kötüdür (53). Özellikle ağır KT olan grupta primer değerlendirme ve resüsitasyon çok önemlidir. Ağır KT'lı hastaların acil servise başvurdıklarında yapılan değerlendirmede %30'unda hipoksi ($PO_2 < 65\text{mmHg}$), %13'ünde hipotansiyon (sistolik kan basıncı $< 95\text{mmHg}$) ve %12'sinde anemi (hematokrit $< \%30$) belirlenmiştir. Başvuru sırasında hipotansiyon olan ağır KT olgularda mortalite %60'iken olmayan grupta %27 olarak belirlenmiştir. Hipotansiyona ek olarak hipoksi de eklendiğinde mortalite %75'e kadar yükselir (53). Bu veriler de ağır KT'lı hastalarda kardiyopulmoner stabilizasyonun sağlanmasının ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

2.2. Oksidan ve Antioksidan Sistemler

2.2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu ve Hücre Ölümü

Atmosferdeki oksijen hayatımızın temelini oluşturur. Paradoksik olarak bazı koşullarda oldukça toksiktir. Hidroksil ve süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve tekil oksijen deriveleri reaktif oksijen türleri olarak bilinir (ROT) (54).

Diğer adı serbest oksijen radikali (SOR) de olan ROT, dış orbitalinde bir veya birden fazla elektron içeren molekül veya molekül parçalarıdır. Bir atom veya molekül, bir elektron vererek (oksidasyon) veya alarak (indirgenme) serbest radikal haline gelebilir (55-56).

Moleküler oksijen (O_2), birçok metabolik olayda terminal elektron akseptörü olarak görev yaptığından, aerobik canlılar için hayati öneme sahiptir. Fizyolojik şartlarda gerçekleşen pek çok hücrel aktivite SOR oluşumuna yol açabilmektedir (56-57).

Oksijen; travma, ödem, oklüzyon gibi dokuda beslenme ve dolaşım bozukluğu meydana getirebilen durumlarda doku tarafından üretilen bazı metabolitlerle reaksiyona girerek serbest SOR oluşturmaktadır. Bu serbest oksijen radikalleri dokuda daha fazla hasar meydana getirebilmektedir (51). Bu yapılar sadece hastalıklarda değil, normal fizyolojik koşullarda temel doku unsurları ile reaksiyona girerek fonksiyonlarını bozar. Her organizmada farklı tipte antioksidan savunma mekanizmaları olmakla beraber, eliminasyonda bir takım limitler vardır (54).

Artmış serbest radikallere antioksidanlarla karşılık verilir, fakat karşılıklı yetersiz kalınırsa redoks sinyali ve gen ekspresyonu yolu ile diğer antioksidanların ve enzimlerin sentezi aktivasyonu sağlanır (54, 58). ROT ürünlerinin çok az bir miktarıyla, büyüme faktörü oluşumu, tirozin fosfatazin modülasyonu gibi selüler etkiler ortaya çıkar, ki bunlar hücre döngüsündeki regülasyon, proliferasyon, farklılaşma ve yaşamında büyük önem arzeder (54, 59). Biyolojik sistemler; normal koşullarda içerdikleri O₂'nin büyük bölümünü tetravalan olarak indirgerler. Normal koşullar içerisinde nadiren kullanılan, ancak bazı patolojik olaylarda artan univalan indirgeme ile değişik reaktivitelere sahip serbest radikaller oluşur.

Oksijenin bir elektron transferi ile süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikaline redükte edilmesi bir takım enzimatik proses ile sağlanır (54, 60). Bir, iki veya üç elektronun O₂ ile reaksiyona girmesi sonucu sırasıyla; süperoksit radikali (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH⁻) meydana gelir. H₂O₂ serbest radikal değildir ancak hidroksil radikaline dönüşür. Lipid, protein ve DNA molekülleri ile reaksiyona giren hidroksil radikali ise oldukça toksik bir yapıya sahiptir. Bu indirgenme mitokondrial solunum zincirinin ilk basamağında oluşur.

Bu gruba ait enzimler; mitokondri dışı membranındaki monoamin oksidaz, peroksizomlarda acetyl-KoA, ksantin oksidaz, mikrozomal NADH-sitokrom b5 ve sitokrom-P450 redüktaz ve nötrofillerdeki NADPH oksidazdır (54).

Mitokondriyal elektron transport selüler oksijen sarfının üçte ikisini oluşturur, bu miktar selüler seviyede O₂ and H₂O₂ oluşumunda %1-2 seviyesinde sınırlı bir elektron kaçağı görülür (61). Bununla beraber mitokondri matriksdeki süperoksit radikallerin sabit durumdaki konsantrasyonu diğer selüler kompartmanlardan belirgin şekilde yüksektir. Mitokondrinin fonksiyonel aktivitesi ROS oluşumun seviyesini etkiler, düşük ADP ve yüksek mitokondrial membran potansiyeli yüksek seviyede ROS

ile sonuçlanırken yüksek ADP ve düşük membran potansiyeli düşük ROS oluşumu ile sonuçlanır (54).

Serbest radikallerin fazlası, lipidler, proteinler ve DNA gibi temel selüler yapıları etkiler ve oluşan hasar oksidatif stres olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu ayrıntılı çalışılmış ve iyi karakterize edilmiş bir süreçtir (62).

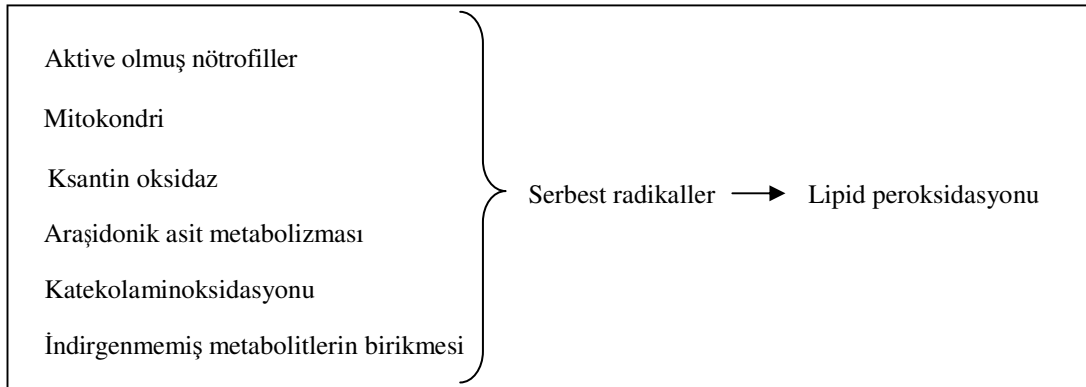
Ekstramitokondrial reaksiyonlarda ise hipoksantin ve ksantin, ksantin oksidaz tarafından ürik aside okside edildikleri reaksiyonda serbest radikaller oluşmaktadır. Bu reaksiyon iskemi, yeniden kanlanma esnasında serbest radikallerin başlıca oluşum şeklidir. Çünkü iskemi esnasında hipoksantin ve ksantin birikimi olmakta ve Ca^{+2} yükselmeside ksantin dehidrogenazı, ksantin oksidaza çeviren proteazları aktive etmektedir. Hidroksil radikali son derece toksik bir yapıdır ve komşu lipid, protein ve DNA molekülleri ile reaksiyona girer. Hidroksil radikali, oksijen radikali ve H_2O_2 'nin oluşturduğu kimyasal reaksiyonda oluşur. Bu reaksiyona "Haber-Weiss reaksiyonu" adı verilmektedir. Bu reaksiyon doğal durumda çok yavaş olurken demir tarafından katalize edildiğinde hızlanmakta ve böylece hidroksil radikali oluşumu hızla artmaktadır (35). Normal şartlar altında taşıyıcı proteinlerine (ferritin ve transferrin) sıkı şekilde bağlı olan Fe^{+3} , oksijen radikali varlığında ferritinden, asidoz varlığında da transferrinden ayrılır (35, 63). Serbest radikaller kimyasal olarak güçlü reaktif moleküllerdir. Hücrenin savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılamazlarsa serbest radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerek yeni serbest radikallerin oluştuğu zincirleme bir reaksiyonu başlatırlar (64). Serbest radikallerin patolojik etkisiyle iki yoldan hücre hasarı gelişir;

- 1) Lipidlerin peroksidasyonu ile hücre zarının geçirgenliği bozular,
- 2) Oluşan serbest radikaller çevrelerindeki zincirleme reaksiyonun yayılmasıyla daha uzaktaki biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek hasar oluşturur.

Reaksiyona girdikleri biyolojik moleküller arasında, plazma membranı, hücre organellerinde bulunan doymamış yağ asitleri, çeşitli enzimlerin yapısına giren proteinler, karbonhidratlar ve çeşitli sentez ve genetik kod aktarımını yöneten nükleik asitler yer alır (35, 63). Travmatik beyin yaralanması sonrası, serbest radikal hasarı oldukça önemlidir. Büyük lipid içeriği ve yüksek oranda oksidatif metabolizması nedeniyle beyin, oksijen radikalleri tarafından oluşturulan hücresel destrüksiyon için iyi

bir hedeftir. Araşidonik asitmetabolizması, kalsiyum tarafından uyarılma ile mitokondriden salınma, katekolaminlerin otooksidasyonu, damar dışına çıkma, hemoglobinin yıkılması ve ksantin oksidaz aktivasyonu gibi çeşitli yollarla oluşabilir. Araşidonik asit döngüsü travmatik yaralanmayı takiben serbest radikallerin oluşmasında en önemli yoldur. Özellikle EAA salınımına bağlı olarak kalsiyum açığa çıkması sonucunda zararlı proteaz ve lipazların artışı olur (fosfolipaz A2, lipooksijenaz ve siklooksijenaz). Bu enzimler tromboksan A2, prostoglandin, lokotrien ve serbest yağ asitlerinden araşidonik asit oluşturur. Bu ürünlerin yıkılmasındaki döngüde serbest oksijen radikalleri üretilir. Hipoksantin-ksantin yolu kafa travmasını takiben serbest radikal kaynağı olarak ikinci önemli yoldur. EAA döngüsü ile tetiklenir, kalsiyum tarafından aktive edilen proteoliz ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza çevirir, sonuçta hipoksantin ksantine oksidasyonu gerçekleştirilir ve ürik asitle birlikte aynı zamanda oksijen radikalleri oluşur (65).

Serbest radikallerin oluşturduğu patolojik süreç; lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre membranının geçirgenliğinin bozulmasına yol açar (Şekil 1). Bu süreçte bağımlı ve bağımsız oluşan zincirleme reaksiyonlar ile hücrenin diğer organelleri içerisinde bulunan doymamış yağ asitleri, bazı enzimlerin yapısına giren proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerde hasar oluştururlar (55, 66-67).



Şekil 1: Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

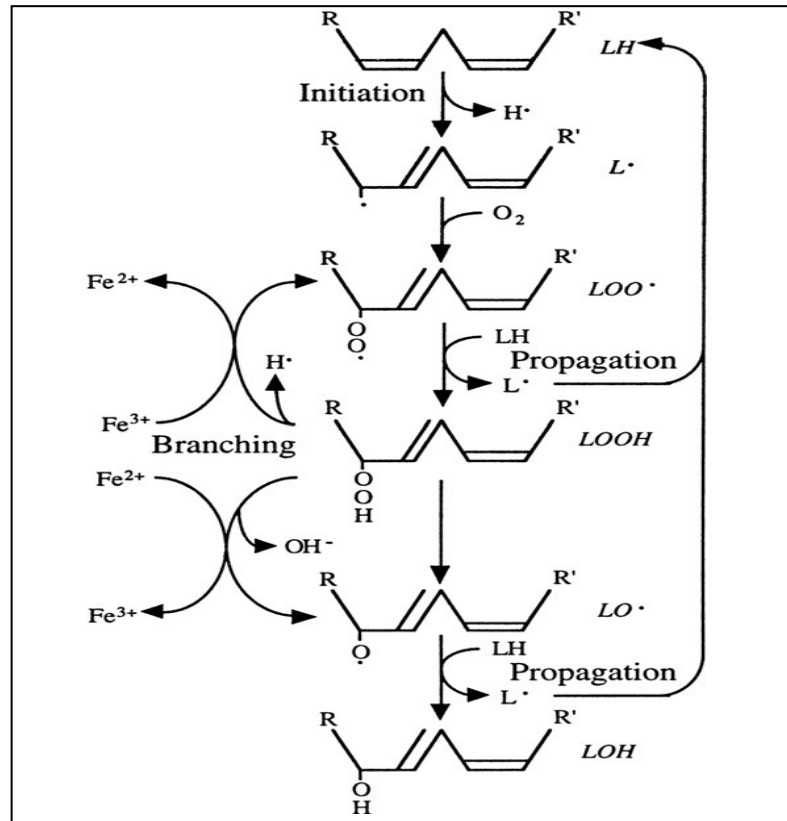
Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile sona erer. Peroksidasyon, membranın lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulması, oluşan serbest O₂ radikallerinin hücrenin diğer bileşenlerine etkisi ile vasküler geçirgenlikte artma, enflamasyon,

ödem, kemotaksis ile sekonder hücre hasarına yol açar (55, 66, 68-69). Lipid peroksidasyonunun son ürünü malonildialdehid (MDA) 'dır.

MDA hücre zarından kolayca geçer ve hücre içinde Schiff bazlarıyla birleşerek, lipofuksin şeklinde sitoplazma içinde toplanır. Hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, MDA'nın genotoksik ve mutajenik etkileri olduğunu ortaya koymuştur (70).

2.2.2. Lipid Peroksidasyonu

Plazma membranındaki doymamış yağ asitleri, fosfolipidler, glikolipidler, gliserid ve steroller, okside olabilen aminoasit içeren transmembran proteinleri, glukoz, mannitol ve deoksi-şekerler serbest radikal hasarına çok duyarlıdır. Reaksiyonlar içinde en önemlisi hidroksil radikalının ($\text{OH}^\cdot$) membran lipidleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatmasıdır. Lipid peroksidasyonu, poliansatüre lipidlerin oksidatif yıkımıdır (Şekil 2).



LH, poliansatüre yağ asiti; $\text{L}^\cdot$, Karbon ortalanmış radikal; $\text{LOO}^\cdot$, lipid peroksil radikal; LOOH , lipid hidroksiperoksit; $\text{LO}^\cdot$, alkoksil radikal; LOH , alkol son ürün.

Şekil 2: Lipid peroksidasyonundaki şematik aşamalar (54).

Bu yıkım, genişleyen bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Plazma membranı ve hücre içi organellerde lipid peroksidasyonu hemen tüm serbest radikal kaynakları tarafından stimüle edilebilir ve ortamdaki Fe^{2+} ve Cu^{2+} gibi transizyonel metallerin varlığında potansiyalize edilebilir. Bu reaksiyon tüm yeni oluşmuş kimyasal serbest radikaller tükeninceye kadar devam eder. Hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin kaybı, lipid peroksit oluşumu, lipid preparasyonlar tarafından oksijen tüketimi peroksidasyonu gösterir. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonundan sonra oluşan kısa zincirli yağ asitleri, membran permeabilitesini ve viskozitesini önemli ölçüde etkiler (71).

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin nöronal hücre, plazma ve organel membranları, vasküler endotel hücre membranı ve myelinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde gelişen lipid peroksidasyonu sırasında, doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme söz konusudur (72). Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehid yapısında yıkılım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu sitotoksik metabolitler, malondialdehid (MDA) gibi alkaneller, 4 hidroksinonenal gibi hidroksialkenallerdir. MDA sınıfından olan tiyobarbitürik asid ile reaksiyon veren maddeler (TBARS), iskemi reperfüzyon olayında lipid peroksidasyonunun en duyarlı göstergelerindendir (73).

İskemide başlayan lipolizin, reperfüzyon süresince de devam ettiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu nedenle reperfüzyonda, enzimatik lipoliz ve lipid peroksidasyonu, membran hasarında sinerjizm içinde sürmektedir. Perokside olmuş yağ asitleri, lipolizi gerçekleştiren fosfolipazlar için doğal yağ asitlerine oranla daha iyi substratlardır. Ayrıca lipid peroksidasyon ürünleri de fosfolipaz aktivitesini stimüle etmektedirler. Lipid peroksidasyonu, ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler (Fe^{2+} , Cu^{2+}) bulunduğu sürece logaritmik olarak artarken yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon dönemi, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlaması bakımından çok uygundur (72). Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır.

Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan ve fonksiyonel hasara neden olan temel yapısal değişiklik; membran yağ asidlerinin interior alkil zincirlerine hidrofilik bir grubun girmesi ve yağ asidlerinin aköz faza doğru dönmeleridir. Bunun sonucunda oluşan fonksiyonel hasarlar şunlardır:

- 1-** Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerde (Örn: Na^+ - K^+ ATPaz) aktivite azalması (74).
- 2-** Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin (mitokondrial matriks enzimleri, lizozomal enzimler gibi) hücre içine salınması. Normal koşullarda lizozomlar içinde güvenli bir şekilde tutulan lizozomal proteolitik enzimlerin stoplazmaya salınmaları ile hücre içi proteolizin hızlanması ve doku hasarının şiddetlenmesi (75).
- 3-** Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan K^+ ve Mg^{2+} konsantrasyonlarının değişmesi ve buna bağlı olarak protein sentezinin inhibisyonu.
- 4-** Lipid peroksidasyonunun yıkılım ürünü olan malondialdehidin, proteinlerin amino grupları ile çift bağ oluşturması ve tiyol grupları ile etkileşimi ve bu şekilde oluşturduğu protein fragmentasyonu ve polimerizasyonunun yanısıra MDA'nın mutajenik etkisi de gösterilmiştir (76).

2.2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar adı verilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar doğal (endojen) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar veya enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (77).

Endojen kaynaklı antioksidanlara örnek olarak mitokondrial sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz, hidroperoksidaz ve KoQ sayılabilir.

Eksojen kaynaklı antioksidanlardan yağda çözünenler; α - tokoferol (E vitamini), β -karoten, östrojenler ve suda çözünenler ise askorbik asit (C vitamini), melatonin, sistein, seruloplazmin, hemoglobin, bilirubin sayılabilir (77-79). KoQ bizim endojen olarak sentez edilen tek yağda çözünen antioksidanımızdır (54).

Süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen fakat enzim olmayan bileşikler de organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar (80).

2.2.3.1. Koenzim Q₁₀ (Ubikinon)

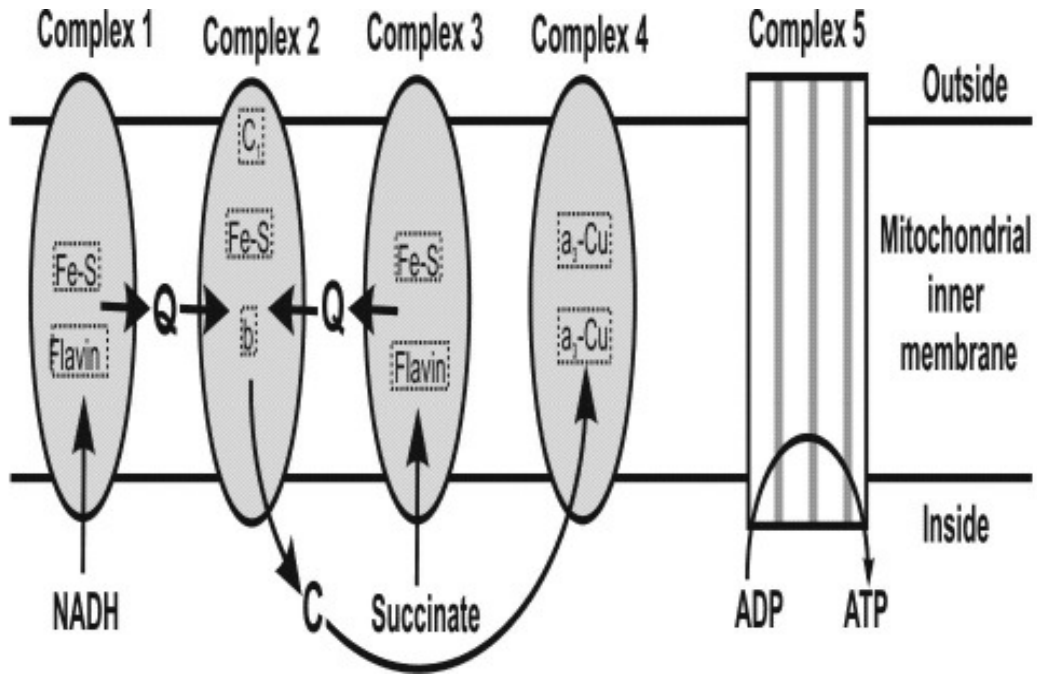
Koenzim Q₁₀ (2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokuinon): Koenzim Q₁₀ (KoQ₁₀) ilk olarak 1957 yılında kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi enerji tüketimi yüksek olan dokularda ve sığır kalp kası hücresi mitokondrisinde bulunmuştur (81-82). , mitokondrial elektron transport geçişinde temel bir komponent olan lipofilik bir endojen antioksidandır (83). KoQ₁₀'nun antioksidan özelliği Mellors ve Tappel tarafından keşfedilmiştir (11). Çift katmanlı fosfolipid yapılı hidrofobik çekirdeğinin içinde hareketli ve yağda çözünebilir bir kinondur (62, 84-85). Başlıca mitokondri membranında bulunur ve enerji üretiminde anahtar rol oynar (86). Endojen antioksidan olan KoQ₁₀ (83). Yaygın olarak ubiquinon, KoQ veya vitamin Q₁₀ olarak bilinir (87). İsminde bulunan Q harfi kinon grubunu, 10 rakamı ise izoprenil alt birimini sembolize etmektedir. Kinon yapıya bağlı izopren ünitenin miktarı farklı memeli türlerinde değişiklik gösterir (88), türe spesifik bu yapı, rat ve farelerde dokuz izopren olmasına karşın insanlarda 10 adettir. İnsan dokusunun çok az bir miktarında (%2-7) total KoQ' nun yan zincirinde solanesol bulunmaktadır. Ratta bir çok dokuda %10, kimi zaman %30 larda dekaprenol içeriği vardır. Farklı araştırmalar zincir uzunluğundaki bu sınırlı farkın KoQ₉ ve KoQ₁₀'un fonksiyonları açısından fark yaratmadığı, doku ve membran seviyesinde düzenli şekilde dağıldıkları ve antioksidan ve redoks taşıma kapasitelerinin eşit seviyede olduğu sonucuna varmıştır (54, 89).

KoQ mitokondri iç membranında, redoks taşıyıcı, antioksidan, çiftlenmemiş protein aktivatörü ve geçiş alanı permeabilitesini etkileyen unsur olarak en az dört farklı fonksiyona sahiptir. KoQ biyosentezi canlı organizmasında lipid olan bütün doku ve hücrede yapılır (54, 90). KoQ miktarı dolikol, kolesterol veya α -tokofenol miktarı ile orantılıdır. Tüm intraselüler membranlarda bulunan bu lipidin bir organelde yüksek konsantrasyonda olması farklı fonksiyonlar için ayrıcalık taşıdığını gösterir (54). KoQ₁₀ direkt olarak peroksil radikaline etki eden bir antioksidandır. Endojen üretilen kolesterol gibi membranlarda kuinol'un yüksek konsantrasyonlarda bulunması radikallerde direkt reaksiyonla veya tokoferol ve askorbatın rejenerasyonu ile antioksidan etki için temel oluşturur (91-93).

Beyin, kalp, karaciğer ve böbrek gibi yüksek enerji kullanımı olan dokularda yoğun şekilde bulunan bu endojen molekül, akciğer dokusunda en az düzeydedir. Kalp (114 μ /g dokuda), böbrekler (66,5 μ /g dokuda) ve karaciğerdir (54,9 μ /g) (94). Dokularda esasen diyetten bağımsız olarak aktive (redükte - ubiquinol, KoQ₁₀H₂) formda bulunur (95). Redükte KoQ₁₀ oksijen varlığında hızla oksidize edilir. Oransal olarak bakıldığında plazmadaki redükte form total KoQ₁₀'un %51-96 arasında değiştiği rapor edilmiştir (96-100). Oksidize formu (Ubikinon, KoQ₁₀) mitokondride, mitokondrial süksinat dehidrojenaz ve NADH dehidrojenazı içeren flavoenzimlere redükte forma çevrilir (101).

KoQ₁₀, ana işlevi adenosin trifosfat (ATP) üretimi olan oksidatif fosforilasyon döngüsünde mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bir bileşenidir. Elektron transport zincirinde dört kompleks yer almaktadır. Elektron transport zincirine kompleks I üzerinden giren NADH, elektronları ubikinona aktarılmaktadır. Ubiquinone elektron transport zincirinde elektronlar kompleks I'den kompleks III'e geçirir. Kompleks I aktivitesini artırıcı etki gösterir. Kompleks II de FADH₂ yapısındaki elektronlar ubikinona aktarılır (62, 84). Kompleks I ve kompleks II yapısından elektronları ubikinon, hem proteinleri olan sitokrom b ve sitokrom c1 ile hem yapısında olmayan FeS proteininden (Riske demir kükürt proteini) oluşan kompleks III (sitokrom b-c1 kompleks) yapısına taşımaktadır. Sitokrom c elektronları kompleks IV yapısına taşımaktadır (Şekil 3). Normal koşullarda mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport zincirinde yer alan pek çok bileşik (NAD, FAD,

Koenzim Q₁₀ gibi) oksijen ile tepkimeye girerek O₂ salınımına neden olmaktadır. Bu tek değerli oksijen kaçağı olarak tanımlanmaktadır. Normal koşullarda bu kaçak hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilmektedir. Ancak oksidan stres durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondride hasar oluşmaktadır. Bu hasar sonucu hücrenin enerji sisteminin etkilenmesi ile ATP kullanımındaki artışa ve ATP sentezindeki azalmaya bağlı olarak hücrede ATP düzeyi hızla düşmektedir (102-104).

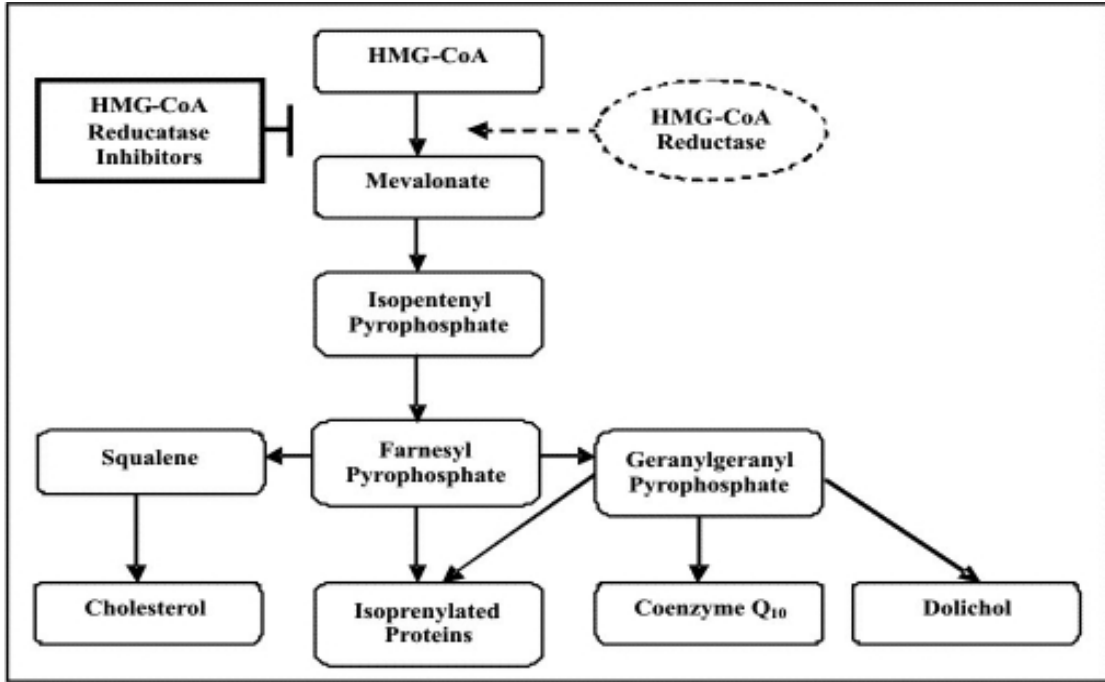


NADH: Nikotinamid adenin dinükleotit, Q: KoQ₁₀, C: Sitokrom, Fe-S: Demir-Sülfür, C1: Sitokrom C1, b: Sitokrom b, a1-Cu: Sitokrom a1-Bakır, ADP: Adenosin difosfat, ATP: Adenosin trifosfat, Oklar elektron akım yolunu göstermektedir.

Şekil 3: Mitokondri elektron transport zinciri (100).

Lipofilik olan KoQ₁₀ kanda lipoproteinler içinde taşınır. Dolayısıyla plazmadaki KoQ₁₀ Plazmadaki total kolesterol ve LDL-kolesterol ile ilişim gösterir (96-97, 105-110). HMG KoA redüktaz enziminin kontrolündedir. HMG KoA redüktaz enziminin etkili olduğu tüm hücrelerde endojen olarak üretilir. Dolayısıyla HMG-KoA redüktaz inhibitörleri (statinler) gibi kolesterol düşürücü tedavilerde kolesterol ile beraber KoQ₁₀' un miktarıda azalır. Hem KoQ₁₀ hem de Kolesterol mevalonat yoluyla sentezlenir. Farklı çalışmalar statin tedavisinin

ardından plazma/serum KoQ₁₀ konsantrasyonunda %54' lere kadar düşme saptanmıştır (100, 111-112). KoQ₁₀' daki düşme statin tedavisindeki doz seviyesi ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 4) (100, 113).



Statinlerle inhibe edilen HMG-KoA redüktaz sonucunda kolesterol ve olasılıkla KoQ₁₀ üretiminde azalma.

Şekil 4: Mevalonat yolu (100).

İnsan ve sıçan dokusunun her ikisinde de yaşın ilerlemesi ile %30 - %60 seviyelerine kadar azalır (114-116). Zhang ve ark.'nın çalışmasında oral olarak alınan KoQ₁₀ ile kan seviyesinde artma olduğu fakat doku konsantrasyonunun anlamlı miktarda değişmediği tespit edilmiştir (89).

KoQ₁₀ apoptozise veya hücre yaşlanmasına, kansere ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma gibi yararlı etkilere sahiptir (86, 117) KoQ₁₀, kas içinde protein sentezi ve gen ekspresyonu için bir aracı olarak fonksiyon görür (86). Plazma askorbat, KoQ₁₀, kan glutatyon ve serum ürik asit konsantrasyonunun egzersiz sırasında arttığı görülmüştür (118). Maraton koşusu sırasında plazmanın ubiquinol miktarının arttığı, gösterilmiştir (119). KoQ₁₀ takviyesinin sıçanların gastrocnemius kaslarında, karaciğer, kalp gibi organlarında egzersize bağlı lipid peroksidasyonunu önlediği bulunmuştur (120)

Membran stabilizasyonunda rol oynayan, güçlü bir antioksidandır (8). KoQ₁₀'un azalması ikincil hasarın gelişmesinin göstergesidir (121). KoQ₁₀'un antioksidan etkisi daha çok son 15 yılda araştırılmıştır (90). Hidrofobik ve büyük moleküler ağırlığına sahip önemli bir antioksidan olan KoQ₁₀'un diyetle emilimi kısıtlı ve yavaştır. İnsanlarda KoQ₁₀ takviyesi serum KoQ₁₀ konsantrasyonunun 3 kattan daha fazla artmasına sebep olur (122). KoQ₁₀ takviyesi alan sağlıklı genç erkeklerde KoQ₁₀ konsantrasyonunun plazmada artarken iskelet kasında artmadığı görülmüştür (123). KoQ₁₀ takviyesi sıçan beyinde endojen KoQ₁₀ içeriğini artırır (117). Kurowska ve arkadaşları KoQ₁₀'un farklı ticari preparatları arasında antioksidan kapasite açısından fark olmadığını göstermişlerdir (124).

KoQ₁₀ takviyesinin kişileri kardiyovasküler hastalıklardan, kas ve dişeti hastalıklarından koruduğu bulunmuştur (82). Parkinson hastalığı, konjestif kalp yetmezliği ve diyabette KoQ₁₀ takviyesinin yararlı olduğu görülmüştür. KoQ₁₀'un kronik kalp yetmezliği olan hastalarda kullanılmasının uygun olduğu gösterilmiştir (125). KoQ₁₀ takviyesinin kalp cerrahisi gereken hastalarda mortaliteyi azaltarak iyi sonuçlar verdiği görülmüştür (126). Konjestif kalp yetmezlikli hastaların miyokardında oksidatif stres artar, dokularda KoQ₁₀ konsantrasyonu azalır (127). Kalp cerrahisini takiben kullanıldığında, KoQ₁₀'un miyokardiyal izoenzim konsantrasyonlarını ve sol ventrikül fonksiyonunu düzelttiği, postoperatif iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiştir (128).

Mitokondrial miyopati, ensefalopati, laktik asidoz, strok benzeri atak (MELAS) kliniğindeki hastalarda; normal mitokondrial enzim aktivitesine rağmen; tam olarak mekanizması bilinmemekle beraber KoQ tedavisi uygulandığında BOS'nda artmış pürivat ve laktat seviyesinde düzelme gösterilmiştir (129-130).

Diyabetli hastalarda KoQ₁₀ konsantrasyonunun kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür (131). KoQ₁₀ takviyesi Tip 1 diyabetli hastalarda glisemik kontrolü sağlar, insülinin kan glikozunu düzenlemesine yardımcı olur (132). Henriksen ve arkadaşları diyabetli hastalarda KoQ₁₀ takviyesinin glisemi kontrolüne, insülin düzenlemesine, kan glikoz konsantrasyonuna etkili olmadığını göstermişlerdir (133). KoQ₁₀ takviyesi yapılan diyabetik sıçanlarda, karaciğerde glutatyon peroksidaz aktivitesi %44, böbrekte süperoksit dismutaz aktivitesi %87, beyinde GSSG konsantrasyonu %54, beyin glutatyon peroksidaz aktivitesi %17,

kalp katalaz aktivitesi %70 artmış, kalpte lipit peroksidasyonu % 33 azalmıştır (134). KoQ₁₀ özellikle hipertansiyon, koroner arter hastalığı veya kalp yetmezliği olan Tip2 diyabetli hastalarda güvenle kullanılmıştır (122).

KoQ₁₀'un sinir koruyucu mekanizması dikkat çekicidir. Bazı nörolojik hastalıklar mitokondriyal disfonksiyona ve oksidatif strese bağlıdır. Oral yolla alınan KoQ₁₀'un Parkinson hastalığında ve Friedreich ataksisinde yararlı olduğu gösterilmiştir (135). Parkinsonlu hastaların trombositlerinden izole edilen mitokondrilerinde KoQ₁₀ seviyelerinin düşük olduğu, oral KoQ₁₀ verildiğinde farelerde dopamin ve dopaminerjik aksonlarının kaybının azaldığı saptanmıştır (136-137). Migren profilaksisinde KoQ₁₀'un ve riboflavinin yararlı etki gösterdikleri ortaya konulmuştur (138). Zhao ve arkadaşlarının (47) yaptığı çalışmada, serebral iskemideki oksidatif stres sürecinde KoQ₁₀' un potent bir serbest radikal temizleyicisi olduğu not edilmiştir. Grieb ve ark. (19) tavşanlarda KoQ₁₀ tedavisi ile histolojik olarak tespit edilebilir beyin dokusu hasarını ve nörolojik defisit gelişiminin engellendiğini belirtmişlerdir (95).

Miles ve ark.'nın Trisomi 21 hastalarına Ubikinol-10 desteği verilerek oksidatif imbalansı düzeltmelerine yönelik olan çalışmada, Trizomi 21'li 14 çocuk hastanın plazma ubikinon-10 (oksidize KoQ₁₀) değerleri, genetik olarak sağlıklı aynı yaş ve seks grubundaki 12 çocuğun plazma değerleri ile kıyaslandığında belirgin olarak yüksek tespit edilmiştir (p<0.0001). Aynı çalışmada ubikinol(redükte KoQ₁₀)/total KoQ'nun mean oranında belirgin şekilde düşük (p<0.0001) tespit edilmiştir. Trizomi 21'li 10 hastaya 10mg/kg/gün dozunda 3 ay süre ile yapılan ubikinol desteği ile ubikinol/total KoQ₁₀ mean oranı istatistiksel olarak anlamlı şekilde (p<0.0001) yükselmiş, ortalama seviyenin %80' i yakalanmıştır. bu süreç içerisinde hastalarda belirgin bir yan etki gözlenmemiştir. Trisomi 21 hastalarında oksidatif inbalansı gösteren bu çalışma, klinik katkının tespiti için ileri çalışmalar gerektiğini vurgulamıştır (139).

Kaikkonen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 2 ay boyunca günde 90 mg/kg KoQ₁₀ takviyesinin; VLDL ve LDL konsantrasyonunu iki kattan fazla artırdığı, lipoproteinlerin oksidasyonuna dirençte değişiklik oluşturmadığı bulunmuştur (140). KoQ₁₀'un oksidatif stresi azalttığı, invivo ortamlarda antioksidatif kapasiteyi artırdığı gözlemlenmiştir (141). 2 hafta günlük 90 mg

KoQ₁₀ alımının plazmadaki TBARS (alfa-tokofenol, askorbik asit, lipid peroksidasyonu seviyesi) konsantrasyonunu azalttığı görülmüştür (142). Plazmadaki KoQ miktarının çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL), yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) deki miktarı sırasıyla; 1.2, 1.0, 0.1 nmol/mg proteindir. Diyetle alınan lipid ile miktarları artar sırasıyla; 3.2, 3.5, 0.3 nmol/mg protein (119). Vitamin E ile kıyaslandığında KoQ' nun tüm dokulardaki miktarı 6-10 kat fazla iken, kandaki yağda çözünen antioksidan miktarı 10 kat azdır. Ancak kandaki etkili redüktif mekanizmalar KoQ' yu aktif formda tutar ve α -tokoferoksil radikalinden vitamin E rejenerasyonu için aktif rol oynar. KoQ' nun kanda LDL-oksidasyonunun engellenmesinde yağda çözünen diğer antioksidanlar olan likopen, β -karoten ve α -tokoferol' e göre daha çok tercih edildiği ve daha etkili olduğu gösterilmiştir (143).

Altı hafta günde 120 mg KoQ₁₀ takviyesinin aerobik performansı etkilemediği, egzersiz testinden sonra alınan kas biopsisinde KoQ₁₀ konsantrasyonunun değişmediği bulunmuştur (144). KoQ₁₀ takviyesinin sıçanların gastrokinemius kaslarında, karaciğer, kalp gibi organlarında egzersize bağlı lipidperoksidasyonunu önlediği bulunmuştur (120).

Hayvan çalışmalarında KoQ₁₀ takviyesinin, reperfüzyon hasarına ve iskemi hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir (145). Erol, B ve ark.'nın 21 ratla yaptığı çalışmada; testiküler I/R hasarı uygulanan ratlarda KoQ₁₀' un lipid peroksidasyon, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz (eNOS) ve germ hücre spesifik apoptozise olan etkisi çalışılmış, Reperfüzyondan önce verilen KoQ tedavisi ile testiküler MDA seviyesinde belirgin azalma saptanmış, mevcut verilerle KoQ₁₀ tedavisi ile I/R sonrasında artan lipid peroksidasyonunun engellenebileceği ifade edilmiştir (146). 6 ay süreyle KoQ₁₀ takviyesinin seminal plazma ve sperm hücrelerini önemli oranda artırdığı görülmüştür (147).

Premkumar ve ark.'nın yaptığı çalışmada; tümör anjiojenezisi, sekresyon ve tümör hücreleri, aktive proteolitik enzimler, proliferasyon, migrasyon ve endotel hücrelerin farklılaşmasını içeren anjiojenetik faktörlerin aktivasyonu içeren çok adımlı kompleks bir mekanizma olduğu ve memenin primer ve metastatik tümörlerinin anjiojenezisle bağlantısı ifade edilmiştir. Tamoksifen (TAM) tedavisi

alan 84 randomize meme kanserli hastanın günlük tedavisine ilave edilen 100mg KoQ₁₀, 10mg rivo flavin ve 50mg niasin desteği ile yapılan 45-90 günlük çalışmalarda pro-anjiojenik faktörlerin seviyesinde azalma ve anti-anjiojenik faktörlerin seviyesinde artma saptanmıştır (148).

Zhipeng W. ve ark.'nın KoQ₁₀' un potansiyel toksisitesi yönünde 150 ratla yaptıkları çalışmada, 90 gün süre ile ratlara gavaj yolu ile 500-1500-3000mg/kg/gün dozundan KoQ₁₀ verilmiş, fareler tedavi süresince ve iyileşme dönemlerinde hematolojik ve kan kimyası parametreleri ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak 3000mg/kg/günlük dozun iyi tolere edildiği grlmştır (93).

Bununla beraber ara sıra görülen yan etkileri rapor edilmiş bunlar; bulantı, kusma, mide yanması, göğüs ağrısı, ishal, iştahsızlık, cilt kaşıntıları, döküntüler, uykusuzluk, baş ağrısı, sersemlik, iritabilite, gözlerin ışıktan rahatsız olması veya gribal semptomlardır (149-150).

Son 40 yıl içindeki çalışmalar toplandığında KoQ, lipozom, mitokondri, mikrozom, kalp submitokondrial partikülü ve kan lipoproteinlerinde indirgenmiş formda (ubikuinol) görünür, bu form efektif antioksidan formdur ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder. ADP-Fe⁺³ ile indüklenen lipid peroksidasyonu, suksinat veya NADH ile submitokondrial partiküllerde oluşturulan lipid redüksiyonu ile ortadan kaldırılır. Fakat bu protektif etki nötral lipidlere uygulanan pentan ekstraksiyonu ile kaybolur (12, 54). Pentan prosedürü kullanılarak çıkarılan partiküllerin yerine KoQ yerleştirildiğinde suksinat veya NADH ile lipid redüksiyonunun ardından malonildialdehid formasyonunda azalma antioksidan olarak KoQ' nun kapasitesini ortaya koymaktadır. Pentan ekstraksiyonu yöntemi α-tokofenol içinde kullanılmaktadır. Bu yöntemle çıkarılan α-tokofenol yerine tek başına KoQ konulduğunda, KoQ (UQH₂)'nin kendi başına, α-tokofenol yokluğunda lipid peroksidasyonunu direkt olarak engelleyebileceği sonucuna varılmıştır (54, 151).

KoQ'nun lipid peroksidasyonundaki inhibitör etkinliği, lipid peroksidasyonu esnasındaki karmaşık interaksiyonuna bağlıdır. Redükte lipidler etkin şekilde α-tokoferoksil radikalinden α-tokofenol (vitamin E) oluştururlar. Bu durumda askorbat rejenerasyonu ile kıyaslandığında tercih edilen bir durumdur (54, 152). Endojen KoQ proteinleri oksidasyondan koruyucu önemli bir role de sahiptir (153). ADP-Fe⁺³ ve askorbat'ın ilavesi ile lipid oksidasyonunun da olduğu ortamda,

submitokondrial partiküller intensif protein oksidasyonu gösterirler ve protein karboksilasyonu olarak ölçülürler (54).

KoQ efektif şekilde sadece lipid peroksidasyonunu değil, aynı zamanda protein sentezinde başlatıcı radikalleri azaltarak ve zincir kırıcı antioksidasyon gösterip propagasyonu engelleyerek de protein oksidasyonunu önler (54). Protein oksidasyonda farklı mekanizmalar olmakla beraber, en sık amino asit kalıntılarının direkt oksidasyonu görülür (154). Bir nokyata kadar protein oksidasyonu; lipid kaynaklı serbest radikaller ve fosfolipid hiperperoksitlerin yıkım ürünleri, malonildialdehit ve 4-hidroksineonetal nedeniyle olur (155). Bu yapılar temel aminoasit rezidülerine kovalent bağlarla bağlanır, ayrıca sülfidril gruplar intra ve intermoleküler karşılıklı bağlanmaya neden olur. Farklı proteinlerin oksidatif strese olan hassasiyetleri, yapıları, kompozisyon ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir. KoQ her tür oksidatif hasara karşı koruyucu değildir. Dokudaki nitrik oksit ve süperoksit üretimindeki fazlalık ile oluşan peroksinitrat, mitokondriyal nikotinamid nükleotid transhidroksijenaz'ı hasarlayarak oluşan oksidasyonun KoQ tarafından engellenmesine izin vermez (156). KoQ'ya komşu olan membran proteinlerini, protein oksidasyonuna karşı koruyumak ana faktördür (54).

Hücredeki metabolik reaksiyonların başlaması ile DNA arka zincirini kıran nükleaz enzimlerin aktivasyonu sağlanır, sonucunda oluşan oksidatif stres DNA ya zarar verir. En sık görülen, H_2O_2 'nin DNA'ya bağlı metal iyonlarla reaksiyona girerek hidroksiradikal oluşumudur. Temel oksidasyon miktarı, 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OH-dG) miktarının ölçülmesi ile sağlanır. İzole mitokondrideki DNA oksidasyonu $ADP-Fe^{+3}$ ve askorbat varlığında, yükselmiş 8-OH-dG miktarı ile sonuçlanır (62).

Aantioksidan olarak KoQ'nun lipid peroksidasyonunu engellemesi vitamin E'den farklı olarak başlangıç ve propagasyon aşamalarının her ikisinde engellemesi ile sağlanır. Vitamin E'de zincir kırıcı antioksidan etki sadece propagasyonu engeller. Lipid solubilité ve membranlardaki dağılım membranda oluşan hidroksil ve süperoksit kadar önemlidir. Bu sayede komşu lipid ve protein molekülleri ile hızla reaksiyona girer. Lipidlerdeki antioksidan yeterlilikteki en önemli unsur hücredeki büyük indirgeme kapasitesidir, bu süreçte indirgenen hücre, tüm lokalizasyonlarda redüksiyon sağlayarak, KoQ'yu tekrar oluşturabilir.

Mitokondride, solunum esnasında ubisemikinon radikali oluşur buda “protonmotif Q siklusu” ile etkin şekilde ubikinol a indirgenir (54, 157).

Azalmış siklooksijenaz aktivitesi ve bazı inflamatuvar prostoglandinlerin azaltmasının sonucunda monositlerin fosfolipidlerinde araşidonik asitler birikir. Babunlarda vitamin E’nin KoQ ile desteklenmesi, vitamin E’nin anti-inflamatuvar etkisini belirgin şekilde artırmıştır (158). Sağlıklı yaşlı bayan popülasyonunda, NK (doğal öldürücü) hücre sitotoksitesisi plazmadaki KoQ₁₀ konsantrasyonuna bağlıdır (159). KoQ’ nun kandaki antioksidan koruma dışındaki birçok faydalı etkisi gelecekte ortaya konacaktır.

Dokularda KoQ miktarındaki primer azalma, yaşlanma veya hastalıklardaki biyosentetik sistem hasarı gibi genetik nedenlerle ve toksik yaralanmaya bağlı olabilir. KoQ’nun kadaki miktarının ölçülmesi önemli bir diagnostik değerdir, ancak farklı dokulardaki KoQ miktarının ölçüsü değildir. Yaşlanmayla organlardaki KoQ seviyesi %30-60 lara kadar düşer (115). Günümüzde hücrelerin desteklenmesinde ilacın dietle uygulanması en olası yol olarak görülmekle beraber, optimal bir çözüm de değildir. Gelecek dönemdeki eğilim, farmakolojik yaklaşımlarla hücredeki endojen KoQ₁₀ biyosentezi arttırmak olacaktır (54).

KoQ’nun biyosentezinde tespit edilen ligandlar intereaksiyona giren iki nükleer reseptör; PPAR α ve RXR α olarak bulunmuştur (54, 160-161). RXR α eksik rat çalışmaları, bu reseptörün KoQ biyosentezinde temel unsur olduğunu göstermiştir (54).

2.2.4. Malondialdehit (MDA)

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Membran komponentlerinin (protein, lipid gibi) polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA; deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi, intrinsek membran özelliklerini değiştirebilir. MDA ayrıca, nükleer membrandan diffüze olabildiğinden, DNA’nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilmekte ve pürin-primidin yapılarında modifikasyona ve DNA iplikçiklerinde kopmalara neden olabilmektedir (87). LP sırasında açığa çıkan ürünlerden olan

MDA, konjuge dien, organik hidroperoksit ve pentan gibi ürünlerin seviyeleri kantitatif olarak ölçülebilmekte ve böylece SOR (serbest oksijen radikalleri) ile indüklenen peroksidasyonun derecesi belirlenebilmektedir (88).

3. MATERİYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkez laboratuvarı, Biyokimya Anabilim Dalı Merkez Laboratuvarı ve Patoloji Anabilim Dalı Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Kullanılan denekler Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilmiştir. Çalışmada hepsi erkek olan 28 adet, ağırlıkları 350-400 gram arası değişen Wistar Albino cinsi erişkin rat kullanılmıştır.

Deneyde Beyin ve sinir cerrahisi Anabilim Dalı cerrahi deney aletleri, monoküler mikroskop, deneysel kafa travması düzeneği kullanılmıştır.

3.1. Anestezi

Cerrahi uygulanacak ratlar bir gün önceden aç bırakılmıştır. İntraperitoneal yolla verilen 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar 50 mg/ml 10 ml flakon, Pfizer İlaçları Ltd. İstanbul) ve 10 mg/kg xylazine ksilazin hidroklorür (Rompun %2 solüsyon, 50 cc. flakon, Bayer-Türk İlaç Ltd. İstanbul) ile spontan solunumda genel anestezi sağlanmıştır.

3.2. Deney

Çalışmada toplam 28 adet, ortalama ağırlıkları 350-400 gram arası değişen Wistar Albino cinsi erişkin erkek rat kullanıldı.

Kafa travmasının, kapalı kafa travması olması ve tekrarlanabilir beyin hasarı oluşturmaları için Marmarou ve ark. (1) tarafından tanımlandığı model modifiye edilerek uygulandı. Uyguladığımız modifiye modelde; Kafa travması, kafatasının frontoparyetal konveksitesinde, koronal suture üstünde, orta hattın ortasında tespit edilen metal diskin yerleştirdiği noktaya uygulandı (Şekil 5). Bunun için 70 cm yükseklikten düşürülen 450 gr'lık kurşun ağırlık içinden kayarak geçtiği bakır tüpten ratın kafatası üzerindeki metal diske düşürüldü. Oluşturulan enerji "Joule" olarak altta belirtilen formülizasyon ile hesaplandı.

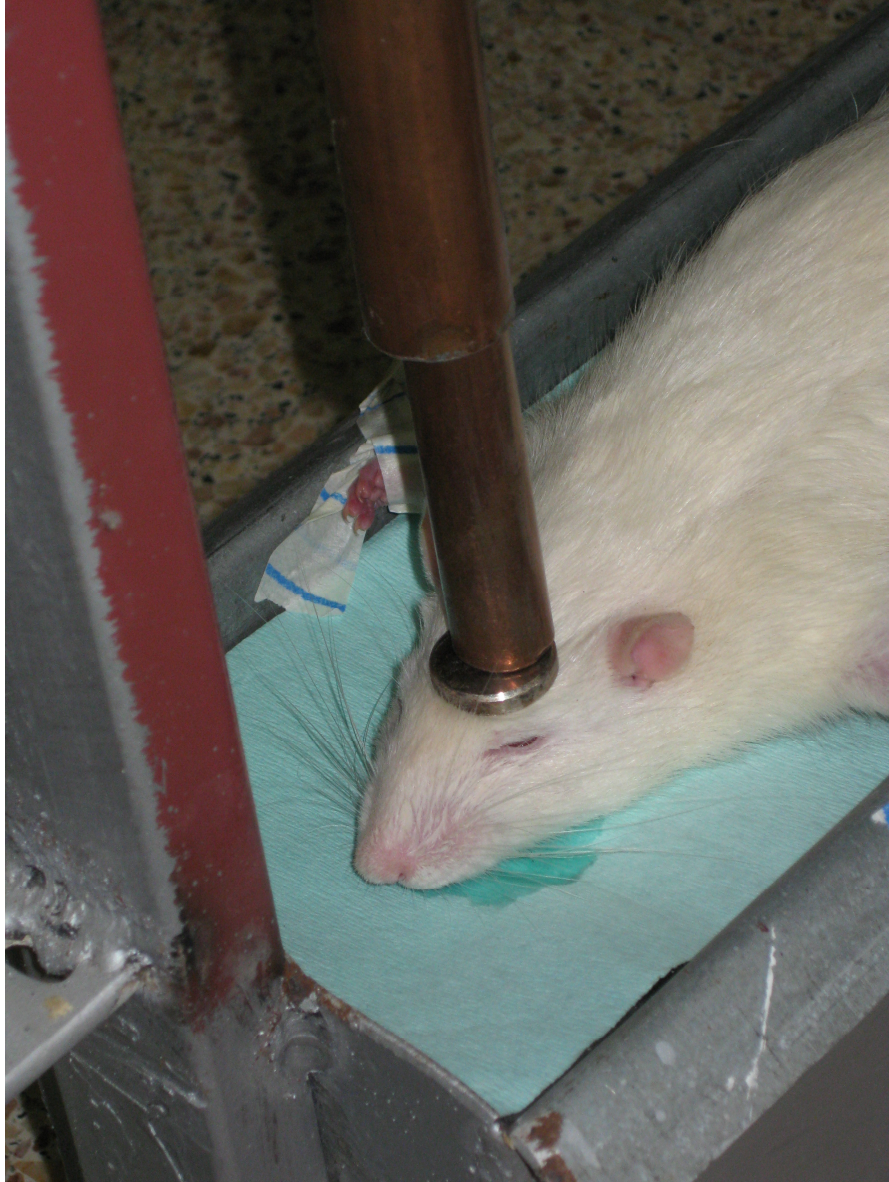
E : mgh

m: kurşunun ağırlığı (kg),

g: gravitasyonel akselerasyon (9.8 m/ s²),

h: yükseklik (metre).

Bu formül ile E: 0,45 X 9,8 X 0,7 = 3,087 joule olan potansiyel enerji ratta hedeflenen noktaya uygulanmış oldu.



Şekil 5: Travma düzeneği

3.3. Deney Grupları

Başlıca dört grup oluşturuldu:

Grup 1: Kontrol grubu (7 rat). Bu grupta kafa travması oluşturulmadı.

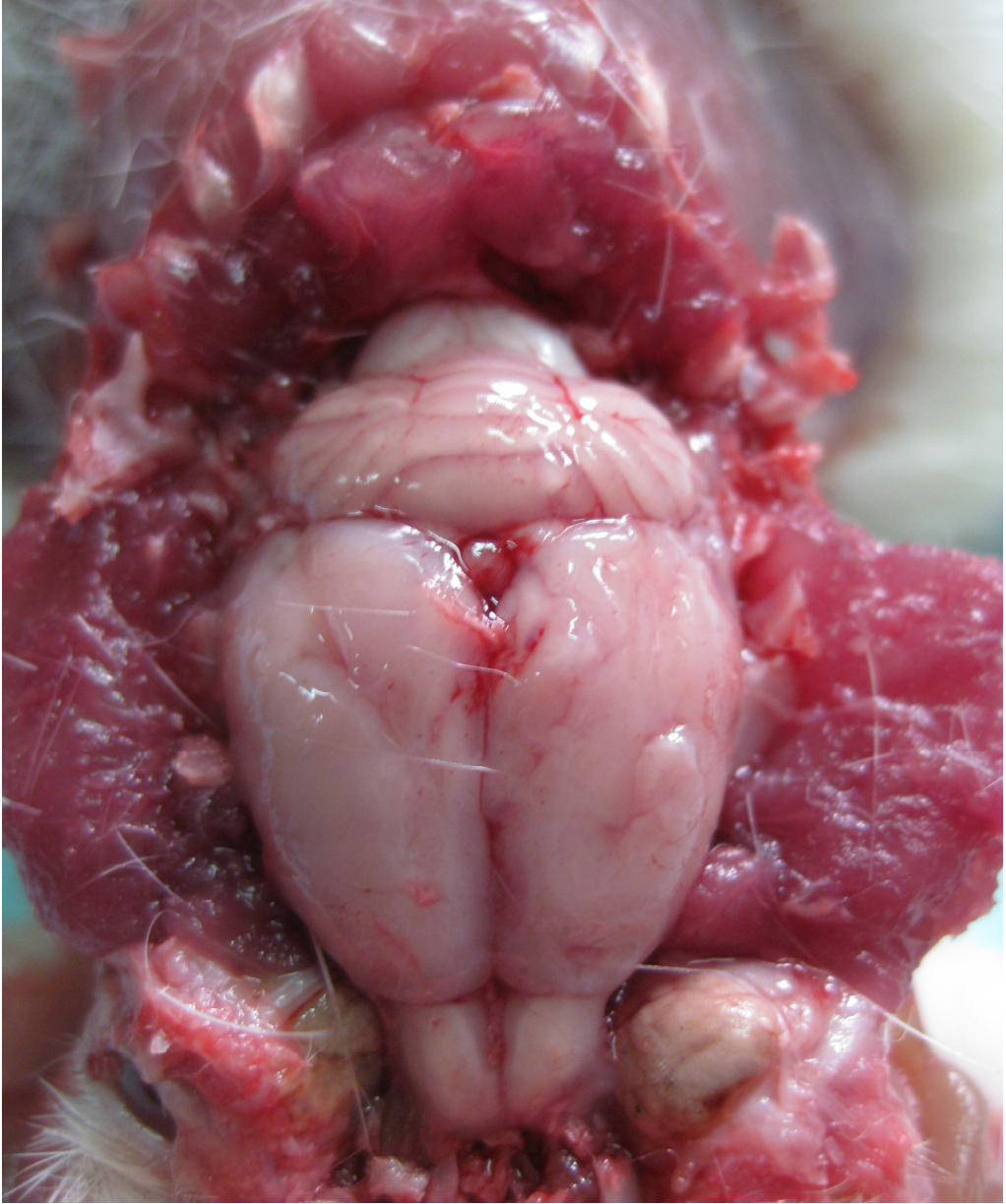
Grup 2: Travma grubu (7 rat). Anestezi altında hesaplanan dozda kafa travması oluşturuldu. Herhangi bir tedavi desteği verilmedi.

Grup 3: Travma ve SF grubu (7 rat). Travma oluşturulduktan hemen sonra ve travmanın 24. saatinde gavaj yolu ile 2ml SF verildi.

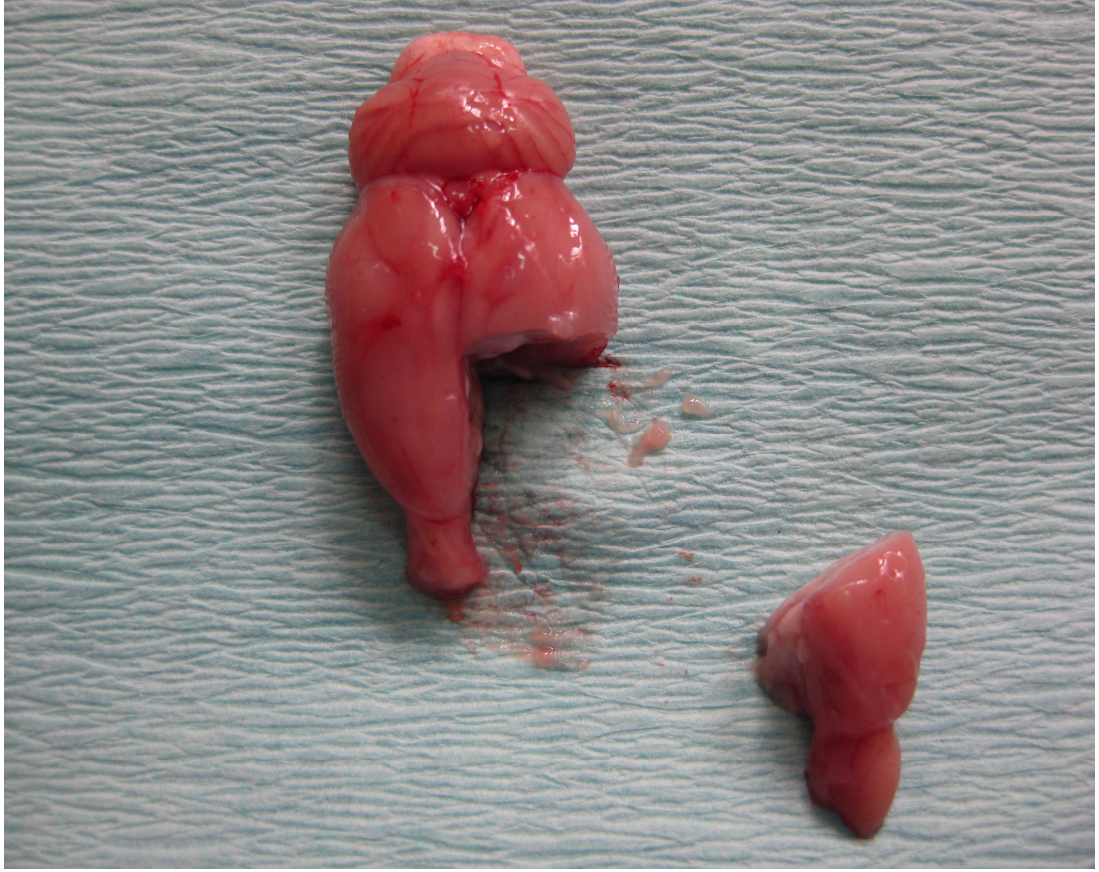
Grup 4: Travma ve Koenzim Q₁₀ tedavi grubu (7 rat). Travma oluşturulduktan hemen sonra ve travmanın 24. saatinde gavaj yolu ile 10mg/kg dozda (ortalama 4mg) Koenzim Q₁₀ verildi.

Travma modeli uygulanması esnasında, travmayı takiben jeneralize nöbet ve arrest kliniği nedeniyle toplam 4 denek kaybedildi. İstatistiksel anlamlılık amaçlanarak, her grupta 7'şer rat olmak üzere toplam 28 denek çalışmaya dahil edildi.

Travmanın sonrasındaki 48. saatte bütün gruplardaki 28 adet rat anestezi altında dekapitasyon uygulanmasının ardından sakrifiye edildiler (Şekil 6). Beyinleri hasar verilmeden hızlı bir şekilde çıkarıldı. İnterhemisferik fissür sınırından sol frontoparietal lobları eksize edilerek biyokimya için nöral doku örnekleri alındı (Şekil 7) ve ratların serum örnekleri ile beraber -70° C de tetkik için saklandı. Beynin diğer bölümü ise formaldehit solüsyonuna konarak patolojik inceleme için saklandı.



Şekil 6: Dekapitasyon



Şekil 7: Rat beyinde sol frontoparietal bölgeden doku örneği alınması.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Doku MDA ölçümü: 50mmol pH 7.4 Tris-HCl tampon ile % 10 luk homojenat haline getirilmiş dokuda Immundiagnostik (Bensheim, Germany) markalı kitler kullanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ölçülmüştür. Numune ayrışması analitik kolon ile yapılmıştır (Phenomenex, USA). Mobil faz, isokratik pompa ile 1.0 ml/dakika akış hızında sisteme enjekte edildi. Ölçümler, Zivak Technologies cihazında Floresan dedektör kullanılarak eksitasyon 515 nm, emisyon 553 nm dalga boyunda yapıldı. MDA konsantrasyonları gr doku ağırlığına bölünerek nMol/gr doku olarak değerlendirildi.

SOD aktivitesi ölçümü: Tris tampon ile % 10 luk homojenat haline getirilmiş dokuda SOD ölçümü için Yi Sun'un metodu (120) kullanılmıştır. Metodun prensibi süperoksit oluşturucusu olarak kullanılan xanthine, xanthine oksidase ile oluşturulan nitro blue tetrazoliumun indirgenmesini SOD enziminin inhibe etmesine

dayanmaktadır. Shimadzu UV 1601 spektrofotometrede 560 nm de numune absorbansları ölçülerek;

% inhibisyon= (A kör – A numune)/(A kör) X % 100 formülünden % inhibisyon hesaplandı.

1 Ü SOD'un NBT redüksiyon hızını % 50 inhibe eden protein miktarı tanımından SOD değerleri Ü olarak hesaplandı ve Ü/ mg doku proteini başına olarak değerlendirildi (162).

Paraoksonaz ölçümü: Serum paraoksonaz aktiviteleri Eckerson 'un metodu ile ölçüldü. Metodun prensibi Paraoksonaz (PON) enzimi ile paraoksondan p-nitrofenolün hidroliz hızının ölçülmesine dayanmaktadır. Reaksiyon sonucu oluşan paranitrofenolün 412 nm dalga boyunda başlangıç ve 5. dakikalar arasındaki absorbans değişimi ölçülerek ve Molar ekstinksiyon katsayısı $16\ 900\ \text{Mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılarak IU/L cinsinden serum paraoksonaz enzim aktivitesi hesaplanmıştır (163).

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmada her grupta yer alan tüm rat beyin parankim dokusu (sağ frontoparietal bölgeyi içeren) materyalleri %10'luk tamponlu formalinde 24 saat tespit edilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak, rutin histopatolojik inceleme için Hematoksilen & Eozin ile boyandı. Tüm doku örneklerine ait kesitler Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda ışık mikroskopunda (Leica DMLS) incelendi.

3.5.1. Histopatolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Tüm histolojik örneklerde, beyin dokusundaki histopatolojik değişikliklerle (vasküler konjesyon, intraparakimal hemoraji, inflamasyon, nöronal kayıp, gliosis) ve nöronal dejenerasyon bulguları (nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eozinofili, aksonal ödem) için, her biri ayrı ayrı olmak üzere 0-3 arasında değişen semikantitatif skorlama sistemi kullanıldı. Histopatolojik olarak değerlendirilen dokuz farklı parametre şu şekilde skorlandı: 0;yok, 1:hafif, 2:orta, 3:yaygın/yoğun olarak belirtildi (Tablo 2)

Tablo 2: Histopatolojik parametrelerin değerlendirilmesi

Histopatolojik değerlendirme	Yok	Az	Orta	Yoğun
Vasküler Konjesyon	0	1+	2+	3+
İntraparankimal hemoraji	0	1+	2+	3+
İnflamasyon	0	1+	2+	3+
Nöronal kayıp	0	1+	2+	3+
Gliozis	0	1+	2+	3+
Nükleer piknoz	0	1+	2+	3+
Nükleer hiperkromazi	0	1+	2+	3+
Sitoplazmik eosinofili	0	1+	2+	3+
Aksonal ödem	0	1+	2+	3+

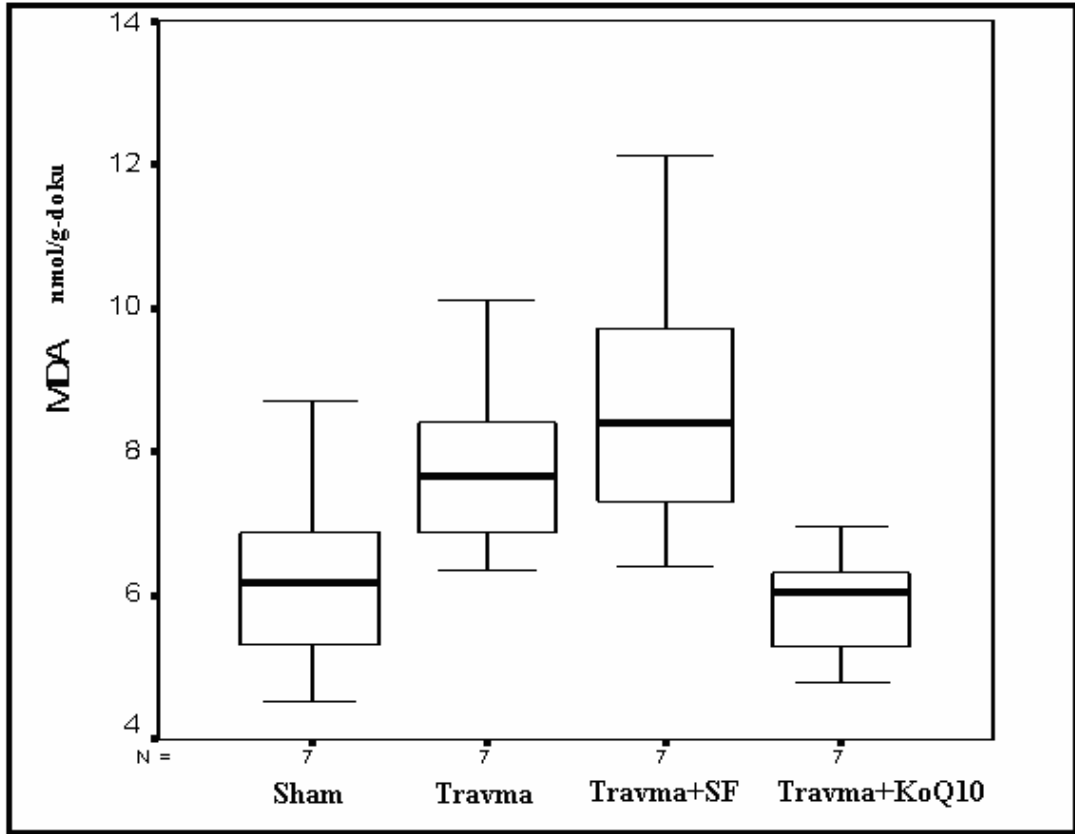
3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler SPSS 11,5 paket programı kullanılarak bilgisayar ortamında değerlendirilmiştir. Sonuçlar; frekanslar, medyan, minimum ve maksimum değerler olarak sunulmuştur. Biyokimyasal değerlerin gruplar arasındaki karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analizi kullanılmıştır. Farklılık bulunduğunda ikişerli grup karşılaştırmaları ise Conover’e göre yapılmıştır. Histopatolojik değerlendirme sonuçlarının karşılaştırılmasında Likelihood oranı ve Fisher kesin ki-kare testi kullanılmıştır. “p” değeri 0,05’ten küçük olan değerler anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

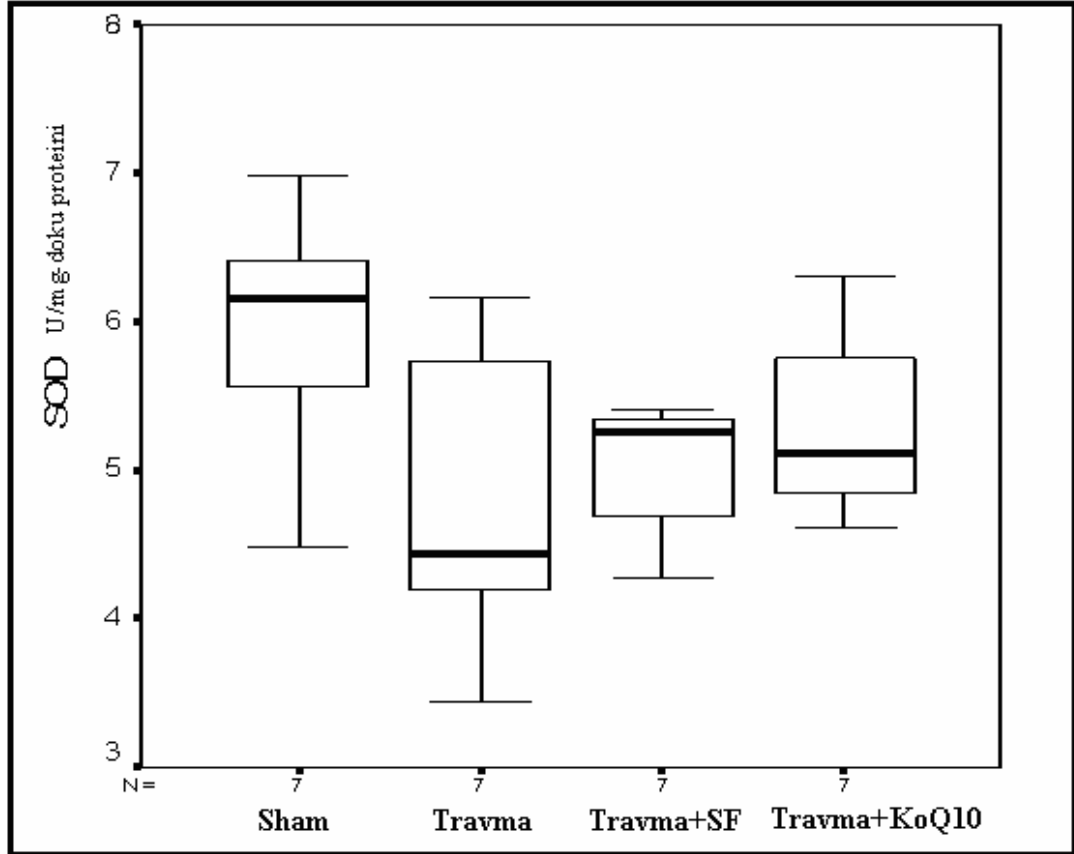
4.1. Biyokimya Sonuçları

Grupların biyokimya sonuçları Tablo 3’te gösterilmiştir. Sham grubu (G1) ile kıyaslandığında travma grubunda (G2) MDA düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı ($p<0,05$) görüldü. Travmadan hemen sonra KoQ₁₀’un verildiği grupta (G4), travma uygulanan gruba (G2) göre MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma ($p<0,05$), hatta sham grubundaki değerin bile altında kaldığı görüldü. Travma + SF grubu (G3), travma grubu (G2) ile kıyaslandığında ise MDA değerinin daha fazla artmış olduğu görüldü, ancak iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı (Şekil 8).



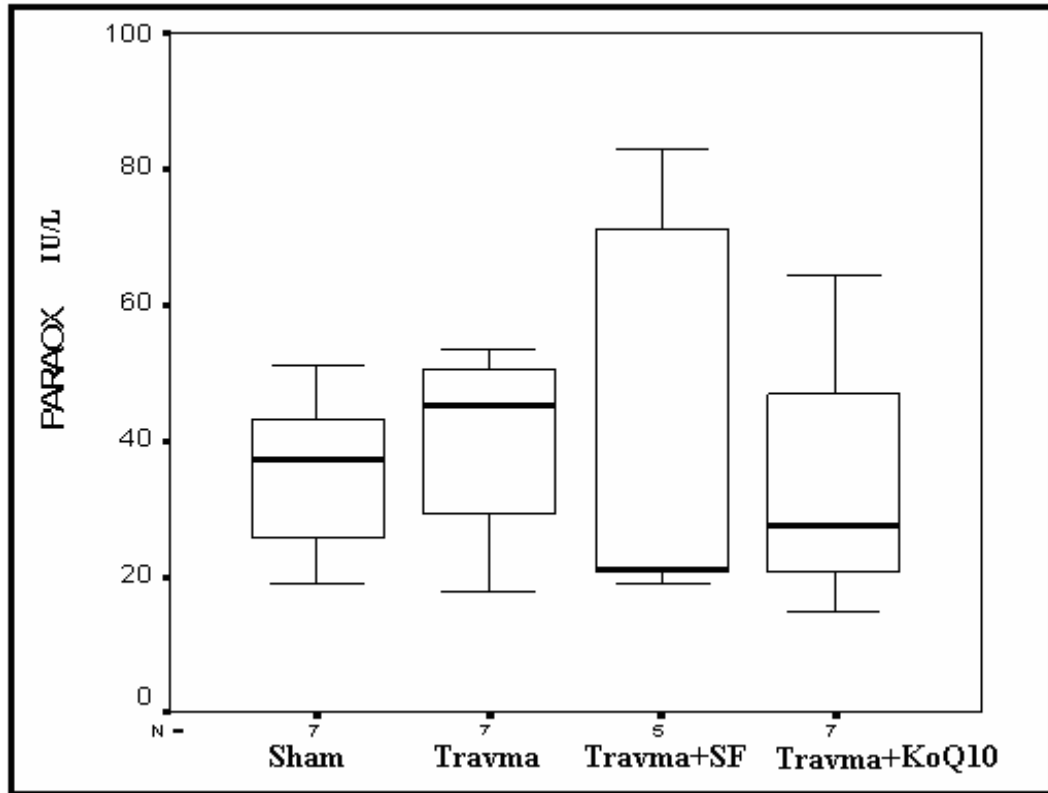
Şekil 8: Gruplarda MDA düzeyleri değişiklikleri

Dokudaki SOD değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Travma grubu ve travma + SF grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında SOD değerlerinde istatikselsel olarak anlamlı derecede azalma ($p<0,05$) grld. Sham grubu KoQ₁₀ uygulanan grup ile kıyasladığımızda SOD değerleri sham grubu ile travma grubu arasında kaldı ve istatikselsel olarak anlamlı bir artma saptanmadı (şekil 9).



şekil 9: Graplarda SOD düzeyi değişiklikleri

HDL yapısında bulunan bir antioksidan enzim olan Paraoksanaz (PON)'un, HDL ve LDL'nin oksidatif hasardan korunmasında rol oynadığı bilinmektedir (164). Plazmada kalsiyum bağımlı bir arilesteraz (AE) olan PON değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Sham grubu (G1) ile kıyaslandığında travma grubunda (G2) Travma + SF grubu (G3), Travma + KoQ₁₀ (G4) grubu arasında istatistiksel fark saptanmadı (Şekil 10).



Şekil 10: Gruplarda Paraoksanaz düzeyi değişiklikleri

Tablo 3: Gruplarda MDA, SOD, PARAOKSANAZ değişiklikleri (medyan) (minimum-maksimum)

	Sham Grubu		Travma Grubu		Travma + SF Grubu		Travma + KoQ ₁₀ Grubu	
	medyan	min-max	medyan	min-max	medyan	min-max	medyan	min-max
MDA	6,20	(4,54-8,71)	7,66	(6,34-10,12) *	8,40	(6,40-12,13) ‡	6,04	(4,79-6,96) #
SOD	6,15	(4,49-6,98)	4,44	(3,44-6,15) *	5,25	(4,26-5,41) ‡	5,11	(4,61-6,29)
PARAOKSANAZ	37,14	(19,10-51,10)	45,42	(17,74-53,47)	21,05	(18,92-82,80)	27,44	(15,14-64,35)

*p<0,05 (Sham grubu ile kıyaslandığında)

#p<0,05 (Travma grubu ile kıyaslandığında)

‡ p<0,05 (Sham grubu ile kıyaslandığında)

4.2. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Grup 1 örneklerde beyaz ve gri cevher parankim özellikleri, nöronal morfoloji, vasküler yapılar normal sınırlarda değerlendirildi. Grup 2 ve Grup 3'e ait histopatolojik örneklerde travma uygulanan beyin parankimi dokusunda beyaz ve gri cevherde belirgin ödem, vasküler konjesyon yanı sıra nöronal zedelenmenin bulguları olarak nöronal nükleuslarda hiperkromazi, nükleer piknoz, stoplazmada eozinofilik dejenerasyon, aksonal ödem izlenmiştir. Travma alanına uyan bölgede fokal nöronal kayıp yanı sıra gliosis alanları görölmektedir. Grup 1 ve Grup 2 örnekdeki histopatoloji bulguları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında parankimal konjesyon, nöronal kayıp, gliosis, nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eosinofili ve aksonal ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p<0,05). İntraparankimal hemoraji ve inflamasyon açısından ise her üç grupta (Grup 1, Grup 2, Grup 3) kontrol grubuna göre anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Grup 4'e ait histopatolojik örneklerde Grup 2 ve Grup 3 ile karşılaştırıldığında vasküler konjesyon, nöronal kayıp, nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eosinofili ve aksonal ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0,05). Grup 4'te nöronal dejenerasyon bulgularının şiddetinin Grup 2 ve Grup 3 ile karşılaştırıldığında belirgin olarak daha az yoğunlukta olduğu göröldü. Gliosis, İntraparankimal hemoraji ve inflamasyon açısından ise her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4 ve Şekil 11).

Tablo 4: Gruplar arasındaki parankim özellikleri, nöronal morfoloji dağılımı

Nöronal kayıp	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	1	4	12
1	0	6	4	3	13
2	0	1	2	0	3
Toplam	7	7	7	7	28

Nöronal ödem	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	0	0	7
1	0	0	0	5	5
2	0	7	7	2	16
Toplam	7	7	7	7	28

Nükleer piknoz	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	0	0	7
1	0	0	1	5	6
2	0	7	6	2	15
Toplam	7	7	7	7	28

Nöronal hiperkromazi	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	0	0	7
1	0	0	0	6	6
2	0	7	7	1	15
Toplam	7	7	7	7	28

Sitoplazmik eosinofili	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	0	1	8
1	0	2	3	6	11
2	0	5	4	0	9
Toplam	7	7	7	7	28

Tablo 4: Gruplar arasındaki parankim özellikleri, nöronal morfoloji dağılımı (devamı)

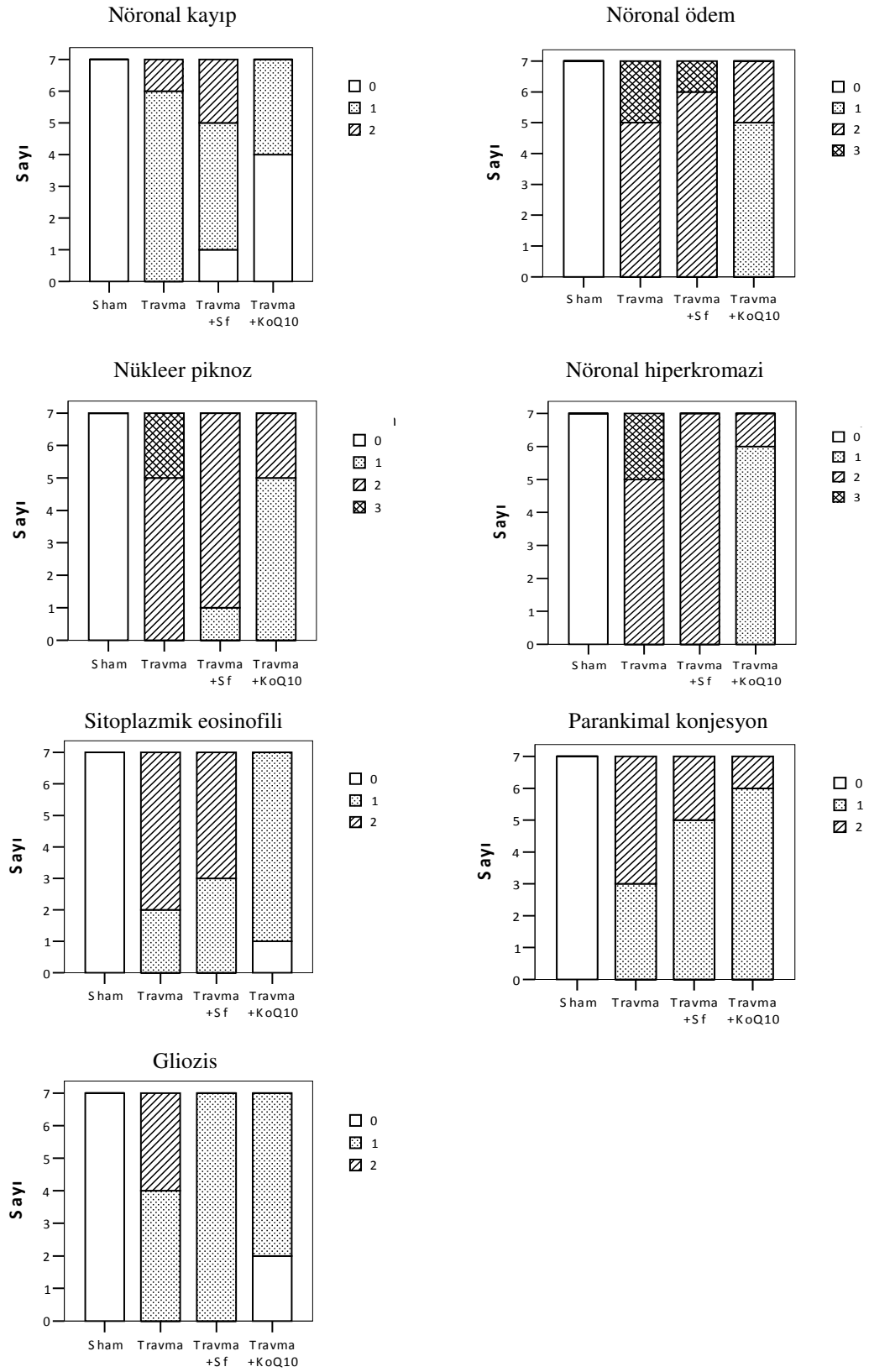
Parankimal konjesyon	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	0	0	7
1	0	3	5	6	14
2	0	4	2	1	7
Toplam	7	7	7	7	28

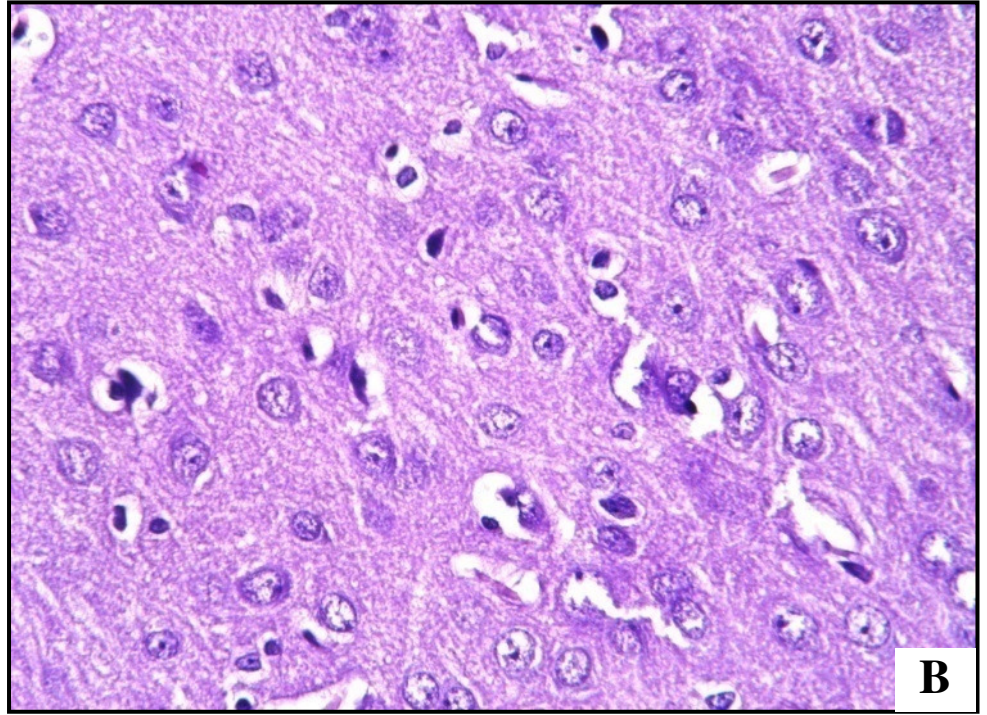
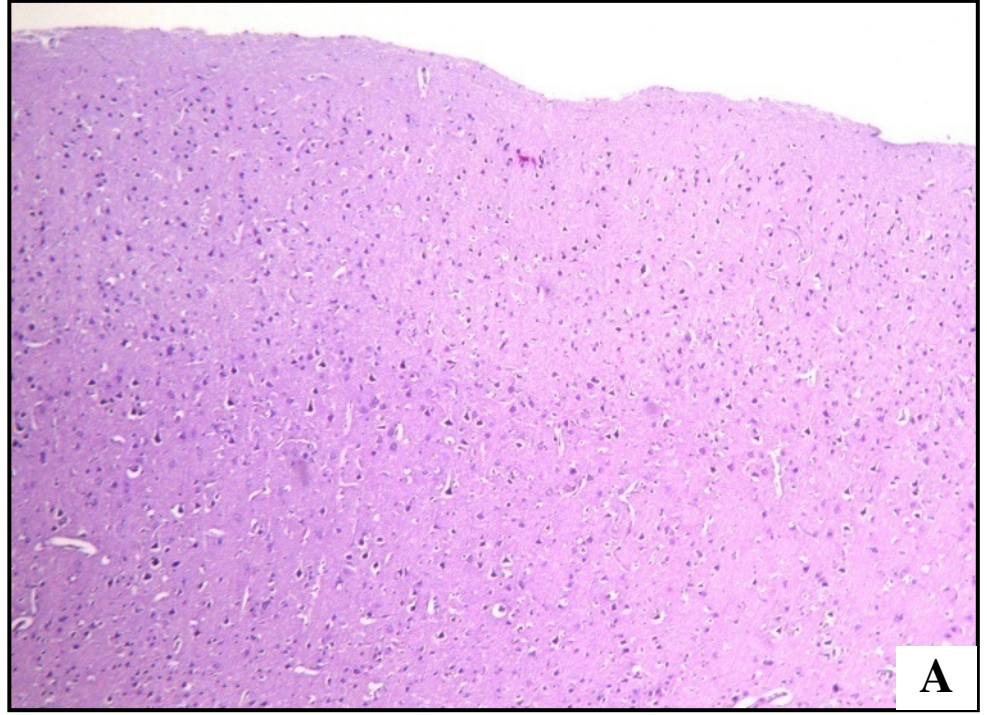
Parankimal hemoraji	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	6	7	7	27
1	0	1	0	0	1
Toplam	7	7	7	7	28

İnflamasyon	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	5	7	7	26
1	0	2	0	0	2
Toplam	7	7	7	7	28

Gliosis	Grup				Toplam
	Sham	Travma	Travma+SF	Travma+Q ₁₀	
0	7	0	0	2	9
1	0	4	7	5	16
2	0	3	0	0	3
Toplam	7	7	7	7	28

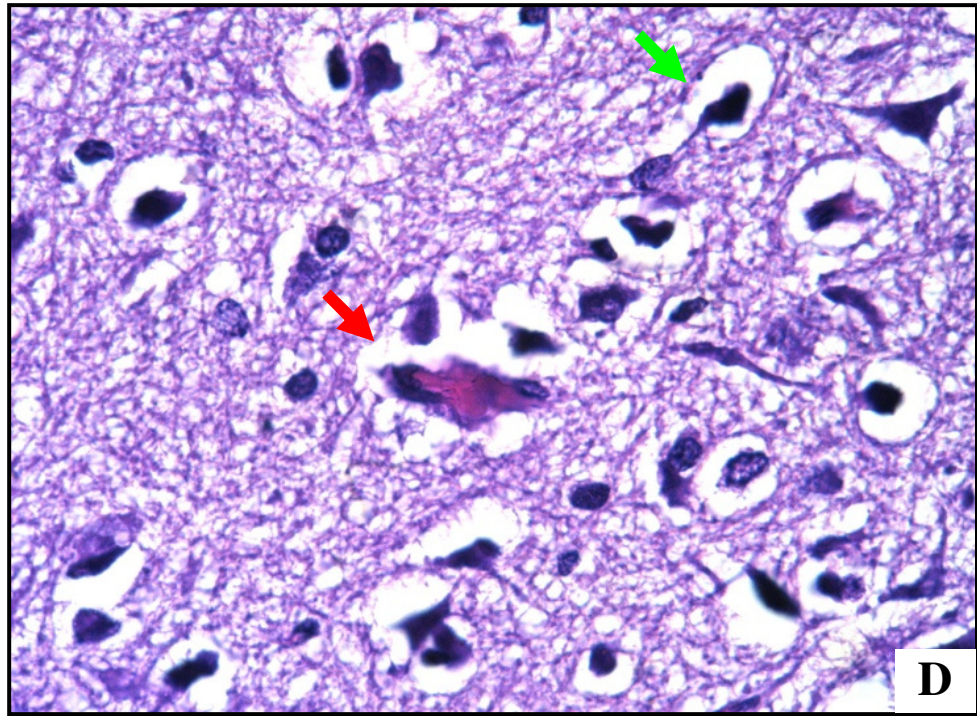
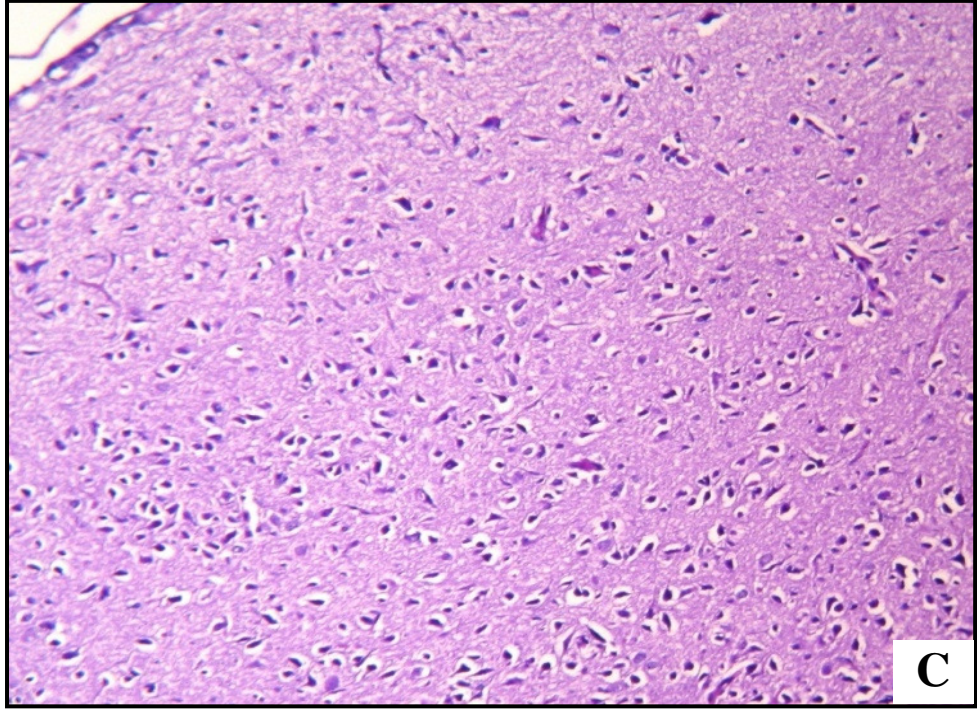
Şekil 11: Gruplar arasındaki parankim özellikleri, nöronal morfoloji dağılımı





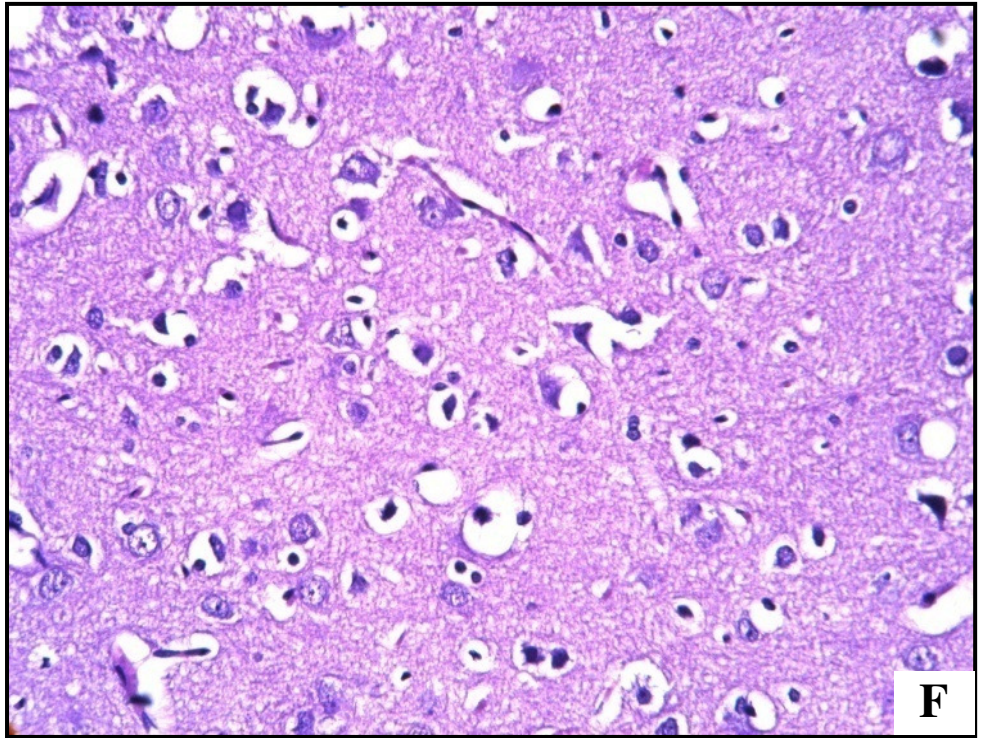
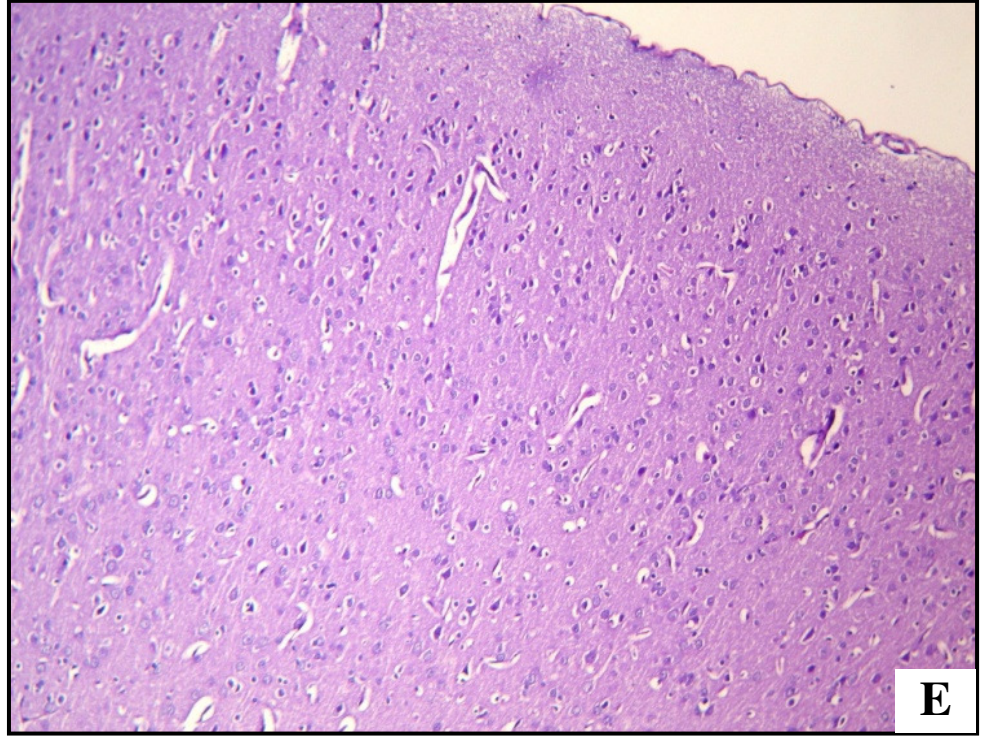
Grup I örneklerde normal beyin parankimine ait histolojik görünüm (A-B) (H&E, A; x100, B; x400).

Şekil 12: Histomorfoloji



Grup 2 örnekler (C-D). Travma sonrası beyin parankiminde ödem, nöronlarda nükleer hiperkromazi, piknotik değişiklikler (yeşil ok) ve sitoplazmik eozinofili (kırmızı ok) dikkati çekmektedir (H&E, C; x100, D; x1000 imm. oil).

Şekil 13. Histomorfoloji



Grup 4 örneklerde aksonal ödem ve nöronal yapılarda orta derecede reaktif ve dejeneratif değişiklikler izlenmektedir (E-F) (H&E, E; x100, F; x400).

Şekil 14. Histomorfoloji

5. TARTIŞMA

Kafa travması nöral dokuda primer ve sekonder hasarla sonuçlanabilir. TBH sonrasında gelişen ikincil faktörlerin iskemi, serebral ödem, serbest oksijen radikalleri kaynaklı lipid peroksidasyonu olduğu gösterilmiştir (165-170). Lipid peroksidasyonu, membranın lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulmasına yol açar. Oluşan serbest O² radikallerinin hücrenin diğer bileşenlerine etkisi ile vasküler geçirgenlikte artma, enflamasyon, ödem, kemotaksis ile sekonder hücre hasarı görülür (55, 66, 68-69).

Oksidatif stres olarak bilinen mekanizmanın oldukça reaktif molekülleri olan süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil gibi oksijen serbest radikalleri, TBH'nın patogeneğinde mikrovasküler otoregülasyonun kaybı, hipoperfüzyon, travmatik subaraknoid kanama kaynaklı vazospazm, vasojenik ödem, enerji metabolizmasındaki yetersizlik, serbest radikallerin oluşumundaki patofizyolojik süreçten sorumludur (85, 171-174).

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Endojen kaynaklı antioksidanlara örnek olarak; mitokondrial sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz, hidroperoksidaz ve KoQ sayılabilir (54, 77). KoQ₁₀ endojen olarak sentez edilen ve yağda çözünen tek antioksidandır, dokularda esasen diyetten bağımsız olarak aktive (redükte) formda bulunur (54).

KoQ₁₀'un nöronal hasar üzerine olası koruyucu etkisini araştırmak amaçlı planladığımız çalışmamızda, travma modeli olarak Marmarou ve ark.'nın tanımladığı model modifiye edilerek uygulanmıştır. Marmarou modelinde, koronal ile lamdoid sütürler arası bölge hedeflenmiş ve 2 metre yüksekten pleksiglas tüp içinden 450gr ağırlık düşürülerek, diffüz beyin hasarı oluşturulmuştur. Kalvariumda oluşabilecek fraktür, bizimde uyguladığımız şekliyle paslanmaz çelik diskin kalvariuma yapıştırılması ile engellenmiştir. Marmarou modelinde, 54 adet rat'ın %44 'de mortalite ve %12,5'de kranium fraktörü tespit edilmiştir. Çalışmamızda, yüksek mortalite ve posttravmatik nöbet riski olan Marmarou modelindeki ağır kafa travması yerine, Uçar ve ark.'larının tanımladığı (175) ve klinikte daha sık karşılaştığımız

ılımlı kafa travması modelini uyguladık. Bu amaçla, 70 cm yüksekten pleksiglas tüp içinden 450 gr ağırlığı koronal sütürü merkez alan hedef noktalara uyguladık. 32 rat'ın %12,5'da mortalitemiz oldu, kranium fraktürü tespit etmedik.

Birçok çalışmada KoQ₁₀'un doku hasarının farklı formlarına karşı koruyucu etkinliğinin olduğu gösterilmiştir (47, 93, 95, 148, 176). KoQ₁₀ deneysel çalışmalarda iskemi reperfüzyon hasarının tedavisinde de etkili bulunmuştur (145-146). Ancak ılımlı kafa travması modelinde KoQ₁₀'un etkinliği daha önce araştırılmamıştır.

Nörolojik, kardiyak, onkolojik ve immünolojik pek çok hastalıkta kullanımına yönelik çalışmalar yapılan KoQ₁₀'un serebral-nöronal iskemide uygun dozaj ve etkin doz aralıkları da tam belirlenememiştir. Serebral iskemi, doku iskemi-reperfüzyon hasarı ve omurilik yaralanması gibi deneysel travma modellerinde, sıklıkla bizim de uyguladığımız 10 mg/kg dozun, oluşturulan travmanın hemen ardından verilmesinin iskemik hasarı engelleyici özelliği olduğu belirtilmektedir (10, 95, 146, 177-179). Farklı bir çalışma olarak, Hiu ve ark'ları, ratlarda damar oklüzyonu ile oluşturdukları fokal ve global iskemiden üç saat geçtikten sonra kullanılan KoQ₁₀'un oluşan nöral hasarlanmaya karşı koruyucu etkisi olmadığını göstermiştir (180).

Biz çalışmamızda oksidatif stresi değerlendirmek için, lipid peroksidasyon son ürünlerinden biri olan MDA, antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için ise SOD ve PON ölçtük. Travmadan hemen sonra KoQ₁₀ verilen grupta (G4), travma uygulanan gruba (G2) göre MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma ($p<0,05$), hatta sham grubundaki değerlerin bile altında kalan sonuçlar görüldü. Oksidatif strese karşı savunma mekanizması olarak çalışan, dokudaki endojen kaynaklı bir antioksidan enzim olan SOD sonuçları değerlendirildiğinde ise KoQ₁₀ uygulanan gruptan (G4) elde edilen değerlerin, sham grubundaki (G1) değerlere yakın olduğu tespit edildi ($p>0,05$). KoQ₁₀'un uygulandığı G4 grubunda, travma uygulanan gruba (G2) göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde MDA değerlerinde düşme; istatistiksel olarak anlamlı olmasada SOD değerlerinde nisbi yükselme saptamamız KoQ₁₀'un lipid peroksidasyonunu inhibe ederek oksidatif hasara karşı nöronal koruyucu olduğu sonucunu düşündürmektedir (9, 14, 95, 146, 181). HDL yapısında bulunan bir antioksidan enzim olan PON verilerini değerlendirdiğimizde ise gruplar arasında anlamlı fark tespit etmedik.

Ostrowski yaptığı çalışmada, ratlara intraventriküler endotelin vererek serebral iske­mi oluşturmuş. 10 mg/kg KoQ₁₀'u intraperitoneal uyguladığı gruptaki deneklerin, 24.saat sonunda sakrifiye edilmesi ile elde edilen örneklerde, SOD aktivitesinin kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını göstermiş. Bu sonucu KoQ₁₀'un endojen SOD aktivitesini artırarak serebral iskemik hasarı azaltabileceği şeklinde yorumlamıştır (10).

Erol ve ark.'nın (146) oluşturdukları iske­mi-reperfüzyon modelinde, intraperitoneal 10mg/kg tek doz KoQ₁₀ uyguladıkları gruptan elde ettikleri MDA değerlerinin, kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmasını; KoQ₁₀'un lipid peroksidasyonunu azaltarak antioksidan etkinlik göstermesi yönünde yorumlamışlardır.

Kerimoğlu ve ark.'ları (179) ratlarda T4-5 seviyesine ekstrakrural anevrizma klibi yerleştirerek oluşturdukları deneysel spinal kord yaralanmasında KoQ₁₀'in etkinliğini araştırmışlar, SOD aktivitesi yalnız travma uygulanan “kontrol” gruba göre istatistiksel anlamlı ($p<0,05$) derecede düşük bulunmuş. Bizim çalışmamızda ise SOD aktivitesi Kerimoğlu'nun çalışmasından tamamen farklı sonuçlanmıştır. (Şekil 8, Tablo 3). Yine Kerimoğlu'nun çalışmasının MDA değerlerinde kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmemiş ($p>0,05$). Bizim çalışmamızda ise kontrol grubu ile kıyaslandığında KoQ₁₀ uygulanan grupta MDA değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Kerimoğlu ve ark.'larının histopatolojik değerlendirmesinde, kontrol grubunda ödem şiddeti diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olmasına rağmen grup M, Grup KoQ ve grup M + KoQ arasında ödem ve kanama açısından istatistiksel fark saptanmamıştır.

Histomorfolojik değerlendirmemiz sonucunda; G1'de beyaz ve gri cevher parankim özellikleri, nöronal morfoloji, vasküler yapılar normal sınırlarda değerlendirildi. G2 ve G3'de travma uygulanan beyin parankimi dokusunda beyaz ve gri cevherde belirgin ödem, vasküler konjesyon yanı sıra nöronal zedelenmenin bulguları olarak nöronal nükleuslarda hiperkromazi, nükleer piknoz, stoplazmada eozinofilik dejenerasyon, aksonal ödem izlendi. Travma alanına uyan bölgede fokal nöronal kayıp yanı sıra gliosis alanları görüldü. G2 ve G3, G1 ile karşılaştırıldığında vasküler konjesyon, nöronal kayıp, gliosis, nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi,

sitoplazmik eosinofili ve aksonal ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). G4, G2 ve G3 ile karşılaştırıldığında vasküler konjesyon, nöronal kayıp, nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eosinofili ve aksonal ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$). G4 de nöronal dejenerasyon bulgularının şiddetinin G2 ve G3 ile karşılaştırıldığında belirgin olarak daha az yoğunlukta olduğu görüldü. Bizim çalışmamızda kontrol (G1) ve KoQ₁₀ (G4), travma (G2) grubu ve Travma + SF (G3) grubu ile kıyaslandığında özellikle nöronal ödem, nöronal hiperkromazi ve sitoplazmik eosinofili açısından istatistiksel anlamlı fark saptandı.

6. SONUÇ

Sonuç olarak ratlara deneysel ılımlı kafa travması modeli uygulayarak, birincil hasar oluşturduk. 48. saatin sonunda sakrifiye ettiğimiz deneklerden elde ettiğimiz biyokimyasal ve histopatolojik verileri değerlendirdiğimizde; ikincil hasar üzerine antioksidan etkinliği daha önceki klinik deneylerle ispatlanmış olan KoQ₁₀'un; nöronal koruyucu etkinlik gösterdiğini tespit ettik.

Çalışmamızda; travma uygulanan grup ile travma sonrasında KoQ₁₀ verilen grup kıyaslandığında,

- 1- Nöral dokuda lipid peroksidasyonunun en iyi göstergelerinden olan MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düşme saptanmıştır.
- 2- Histopatolojik bulgularda özellikle; vasküler konjesyon, nöronal kayıp, gliosis, nükleer piknoz, nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eosinofili ve aksonal ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır.

Özetle, çalışmanın sonucunda kafa travmasının hemen sonrasında başlanarak devam edilen 10mg/kg/gün dozundaki KoQ₁₀ desteğinin, antioksidan aktivite göstererek lipid peroksidasyonu engellediği ve TBH sonrasında gelişen ikincil nöronal hasarlara karşı koruma sağlamada etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak KoQ₁₀'un klinik etkinliğinin belirlenmesi için ileri çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Marmarou A, Foda MA, van den Brink W, Campbell J, Kita H, Demetriadou K. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg.* Feb;80(2):291-300, 1994.
2. Masters SJ. Evaluation of head trauma: efficacy of skull films. *AJR Am J Roentgenol.* Sep;135(3):539-47, 1980.
3. Kraus JF, Black MA, Hessol N, Ley P, Rokaw W, Sullivan C, et al. The incidence of acute brain injury and serious impairment in a defined population. *Am J Epidemiol.* Feb;119(2):186-201, 1984.
4. Jenneth B GS. Head injuries. London, 1983.
5. Hall ED, Braugher JM. Central nervous system trauma and stroke. II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.*;6(3):303-13, 1989.
6. Leibovitz BE, Siegel BV. Aspects of free radical reactions in biological systems: aging. *J Gerontol.* Jan;35(1):45-56, 1980.
7. Ozben T. Mechanisms and strategies to overcome multiple drug resistance in cancer. *FEBS Lett.* May 22;580(12):2903-9, 2006.
8. 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 U S A.* Nov;87(22):8931-4, 1990.
9. Portakal O, Inal-Erden M. Effects of pentoxifylline and coenzyme Q10 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin Biochem.* Aug;32(6):461-6, 1999.
10. 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.*;37(4):247-51, 1999.
11. Mellors A, Tappel AL. The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *J Biol Chem.* Oct 10;241(19):4353-6, 1966.

12. 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.* Dec 15;192(3):853-60, 1980.
13. 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.* Jan 1;108(1-2):201-6, 1990.
14. 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)]. *Neurol Neurochir Pol.* Nov-Dec;32(6):1397-404, 1998.
15. Koroshetz WJ, Jenkins BG, Rosen BR, Beal MF. Energy metabolism defects in Huntington's disease and effects of coenzyme Q10. *Ann Neurol.* Feb;41(2):160-5, 1997.
16. 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.* Dec;36(6):882-8, 1994.
17. Erbenli A. Dünyada ve ülkemizde nöroşirürjinin gelişimi, 2005.
18. Alexander RHP, H.J. Head Trauma in Advanced Trauma Life Support. Chicago, 1993.
19. Jennett B, Bond M. Assessment of outcome after severe brain damage. *Lancet.* Mar 1;1(7905):480-4, 1975.
20. Cirak B, Rousan N, Kocak A, Palaoglu O, Palaoglu S, Kilic K. Melatonin as a free radical scavenger in experimental head trauma. *Pediatr Neurosurg.* Dec;31(6):298-301, 1999.
21. Tuzgen S, Tanriverdi N, Uzan M, Tureci E, Tanriverdi T, Gumustas K, et al. Nitric oxide levels in rat cortex, hippocampus, cerebellum, and brainstem after impact acceleration head injury. *Neurol Res.* Jan;25(1):31-4, 2003.

22. Uzan M, Tanrioer N, Bozkus H, Gumustas K, Guzel O, Kaday C. Nitric oxide (NO) metabolism in the cerebrospinal fluid of patients with severe head injury. Inflammation as a possible cause of elevated no metabolites. Surg Neurol. Dec;56(6):350-6, 2001.
23. Ommaya AK, Grubb RL, Jr., Naumann RA. Coup and contre-coup injury: observations on the mechanics of visible brain injuries in the rhesus monkey. J Neurosurg. Nov;35(5):503-16, 1971.
24. Povlishock JT. Pathobiology of traumatically induced axonal injury in animals and man. Ann Emerg Med. Jun;22(6):980-6, 1993.
25. Miller JD, Butterworth JF, Gudeman SK, Faulkner JE, Choi SC, Selhorst JB, et al. Further experience in the management of severe head injury. J Neurosurg. Mar;54(3):289-99, 1981.
26. Wang H, Duan G, Zhang J, Zhou D. Clinical studies on diffuse axonal injury in patients with severe closed head injury. Chin Med J (Engl). Jan;111(1):59-62, 1998.
27. Rosenberg WSH, G.R. Grossman, G.R.. Penetrating cerebral trauma. 2 ed. Philadelphia,Pa: Lippincott-Raven, 1999.
28. Graham DI, Ford I, Adams JH, Doyle D, Teasdale GM, Lawrence AE, et al. Ischaemic brain damage is still common in fatal non-missile head injury. J Neurol Neurosurg Psychiatry. Mar;52(3):346-50, 1989.
29. Regner A, Alves LB, Chemale I, Costa MS, Friedman G, Achaval M, et al. Neurochemical characterization of traumatic brain injury in humans. J Neurotrauma. Aug;18(8):783-92, 2001.
30. Siesjo BK. Basic mechanisms of traumatic brain damage. Ann Emerg Med. Jun;22(6):959-69, 1993.
31. Şahinoğlu H. Yoğun bakım, 2003.
32. Koldaş I. Hipertansiyon Acilleri, 2002.
33. Strandgaard S. Autoregulation of cerebral blood flow in hypertensive patients. The modifying influence of prolonged antihypertensive treatment on the tolerance to acute, drug-induced hypotension. Circulation. Apr;53(4):720-7, 1976.

34. Wallace JD, Levy LL. Blood pressure after stroke. JAMA. Nov 13;246(19):2177-80, 1981.
35. Kellly DFD, C. Becker, D.P. General principles of head injury management. New York: McGraw Hill, 1996.
36. Becker DP, Miller JD, Ward JD, Greenberg RP, Young HF, Sakalas R. The outcome from severe head injury with early diagnosis and intensive management. J Neurosurg. Oct;47(4):491-502, 1977.
37. Tietjen CS, Hurn PD, Ulatowski JA, Kirsch JR. Treatment modalities for hypertensive patients with intracranial pathology: options and risks. Crit Care Med. Feb;24(2):311-22, 1996.
38. Ergüngör MF. Kafa travmalarında klinik tablolar. Herniasyonlar-Beynin Sekonder yer Değiştirmeleri. Kafa Travmaları ve akut kafa travmalarının tıbbi tedavisi. Sivas:Cumhuriyet Üniversitesi yayınları. (22):118-23, 1988.
39. Çobanoğlu SH, M.K. Kılınçer, C. Hiçdönmez, T. Şimşek, O. Özsüer, H. beyin-omurilik-sinir cerrahisi dersleri: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.
40. Kraus JF, McArthur DL. Epidemiologic aspects of brain injury. Neurol Clin. May;14(2):435-50, 1996.
41. Andrews BT. History, classification and epidemiology of cranial trauma. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2003.
42. Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. Lancet. Jul 13;2(7872):81-4, 1974.
43. Born JD, Albert A, Hans P, Bonnal J. Relative prognostic value of best motor response and brain stem reflexes in patients with severe head injury. Neurosurgery. May;16(5):595-601, 1985.
44. Choi SC, Narayan RK, Anderson RL, Ward JD. Enhanced specificity of prognosis in severe head injury. J Neurosurg. Sep;69(3):381-5, 1988.
45. Hahn YS, Chyung C, Barthel MJ, Bailes J, Flannery AM, McLone DG. Head injuries in children under 36 months of age. Demography and outcome. Childs Nerv Syst. Feb;4(1):34-40, 1988.

46. Stein SC, Spettell C. The Head Injury Severity Scale (HISS): a practical classification of closed-head injury. *Brain Inj.* Jul;9(5):437-44, 1995.
47. Levin HS, Mattis S, Ruff RM, Eisenberg HM, Marshall LF, Tabaddor K, et al. Neurobehavioral outcome following minor head injury: a three-center study. *J Neurosurg.* Feb;66(2):234-43, 1987.
48. Hsiang JN, Yeung T, Yu AL, Poon WS. High-risk mild head injury. *J Neurosurg.* Aug;87(2):234-8, 1997.
49. Marion DW. Pathophysiology of cranial trauma. *Textbook of Neurological Surgery.*:2798-803, 2003.
50. Valadka ABN, R.K. Emergency room management of the head-injured patient. New York: McGraw Hill, 1996.
51. Marion DW. Pathophysiology of cranial trauma. Philadelphia: Lippincott William&Wilkins, 2003.
52. Pieper DR, Valadka AB, Marsh C. Surgical management of patients with severe head injuries. *AORN J.* May;63(5):854-64, 67, 1996.
53. Jennett B, Teasdale G, Braakman R, Minderhoud J, Heiden J, Kurze T. Prognosis of patients with severe head injury. *Neurosurgery.* Apr;4(4):283-9, 1979.
54. Bentinger M, Brismar K, Dallner G. The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion.* Jun;7 Suppl:S41-50, 2007.
55. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc.* Apr;63(4):390-408, 1988.
56. Shutter LJ, J.I. Narayan, R.K. Clinical syndromes after traumatic brain injury. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2003.
57. Kaday C. Resimli Kafa Travmaları El Kitabı. İstanbul: Logos Yayıncılık, 1997.
58. Sen CK, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J.* May;10(7):709-20, 1996.
59. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol.* Jul;192(1):1-15, 2002.

60. Cadenas E, Hochstein P, Ernster L. Pro- and antioxidant functions of quinones and quinone reductases in mammalian cells. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.*;65:97-146, 1992.
61. Papa S, Skulachev VP. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol Cell Biochem. Sep*;174(1-2):305-19, 1997.
62. Ernster L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta. May 24*;1271(1):195-204, 1995.
63. Narayan RK. Closed head injury. London, 1994.
64. Greenberg MS. Handbook of Neurosurgery. Florida, 2001.
65. Lanzino G, Kassell NF, Germanson TP, Kongable GL, Truskowski LL, Torner JC, et al. Age and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: why do older patients fare worse? *J Neurosurg. Sep*;85(3):410-8, 1996.
66. Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. *Neurosurgery. Jul*;27(1):1-11, 1990.
67. Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke. Jul*;21(7):1086-90, 1990.
68. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengesini etkileyen kosullar. *Klinik Gelism.*;66:423-30, 1988.
69. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. *J Neurosurg. Aug*;77(2):169-84, 1992.
70. Steinberg GK, George CP, DeLaPaz R, Shibata DK, Gross T. Dextromethorphan protects against cerebral injury following transient focal ischemia in rabbits. *Stroke. Sep*;19(9):1112-8, 1988.
71. Anderson DK, Demediuk P, Saunders RD, Dugan LL, Means ED, Horrocks LA. Spinal cord injury and protection. *Ann Emerg Med. Aug*;14(8):816-21, 1985.
72. White BC, Grossman LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology. Sep*;43(9):1656-65, 1993.

73. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* Dec;41(12 Pt 2):1819-28, 1995.
74. Esterbauer HS, R.J. Zollner, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal in situ perfused rat kidney. *J Lipid Res.*;38:1660-5, 1997.
75. Hue RTP, S. The reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res Commun.*;18:1620-24, 1993.
76. Rice-Evans CA. Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. Elsevier Science Press.:131-53, 1994.
77. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995.
78. Akgül Eİ, N. Halifeoglu, İ. Tip II Diabetes mellitusta lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri, 1999.
79. Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I, Millan I, Rojas-Hidalgo E. Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives. *Clin Sci (Lond).* Feb;94(2):189-95, 1998.
80. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clin Nutr.* Jan;53(1 Suppl):189S-93S, 1991.
81. Crane FL, Hatefi Y, Lester RL, Widmer C. Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. *Biochim Biophys Acta.* Jul;25(1):220-1, 1957.
82. Greenberg S, Frishman WH. Co-enzyme Q10: a new drug for cardiovascular disease. *J Clin Pharmacol.* Jul;30(7):596-608, 1990.
83. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behav Brain Res.* Jul 15;171(1):9-16, 2006.
84. Beyer RE. An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. *Biochem Cell Biol.* Jun;70(6):390-403, 1992.
85. Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol Rev.* Jun;54(2):271-84, 2002.

86. Linnane AW, Zhang C, Yarovaya N, Kopsidas G, Kovalenko S, Papakostopoulos P, et al. Human aging and global function of coenzyme Q10. *Ann N Y Acad Sci.* Apr;959:396-411; discussion 63-5, 2002.
87. Bonakdar RA, Guarneri E. Coenzyme Q10. *Am Fam Physician.* Sep 15;72(6):1065-70, 2005.
88. Battino M, Ferri E, Gorini A, Federico Villa R, Rodriguez Huertas JF, Fiorella P, et al. Natural distribution and occurrence of coenzyme Q homologues. *Membr Biochem.* Jul-Sep;9(3):179-90, 1990.
89. Zhang Y, Aberg F, Appelkvist EL, Dallner G, Ernster L. Uptake of dietary coenzyme Q supplement is limited in rats. *J Nutr.* Mar;125(3):446-53, 1995.
90. Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim Biophys Acta.* Jan 28;1660(1-2):171-99, 2004.
91. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr.* Dec;20(6):591-8, 2001.
92. Shults CW, Haas R. Clinical trials of coenzyme Q10 in neurological disorders. *Biofactors.*;25(1-4):117-26, 2005.
93. Zhipeng W, Mingkai L, Shuyu C, Min J, Jingru M, Xue M, et al. Toxicity of coenzyme Q(10): a report of 90-day repeated dose toxicity study in rats. *J Toxicol Sci.* Dec;32(5):505-14, 2007.
94. Donovan KL, Davies M, Coles GA, Williams JD. Relative roles of elastase and reactive oxygen species in the degradation of human glomerular basement membrane by intact human neutrophils. *Kidney Int.* Jun;45(6):1555-61, 1994.
95. Ostrowski RP. Effect of coenzyme Q(10) on biochemical and morphological changes in experimental ischemia in the rat brain. *Brain Res Bull.* Nov 1;53(4):399-407, 2000.
96. Edlund PO. Determination of coenzyme Q10, alpha-tocopherol and cholesterol in biological samples by coupled-column liquid chromatography with coulometric and ultraviolet detection. *J Chromatogr.* Mar 4;425(1):87-97, 1988.

97. Lagendijk J, Ubbink JB, Vermaak WJ. Measurement of the ratio between the reduced and oxidized forms of coenzyme Q10 in human plasma as a possible marker of oxidative stress. *J Lipid Res.* Jan;37(1):67-75, 1996.
98. Okamoto T, Fukui K, Nakamoto M, Kishi T, Okishio T, Yamagami T, et al. High-performance liquid chromatography of coenzyme Q-related compounds and its application to biological materials. *J Chromatogr.* Jul 12;342(1):35-46, 1985.
99. Wang Q, Lee BL, Ong CN. Automated high-performance liquid chromatographic method with precolumn reduction for the determination of ubiquinol and ubiquinone in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* Apr 16;726(1-2):297-302, 1999.
100. Molyneux SL, Young JM, Florkowski CM, Lever M, George PM. Coenzyme q10: is there a clinical role and a case for measurement? *Clin Biochem Rev.* May;29(2):71-82, 2008.
101. Lass A, Sohal RS. Electron transport-linked ubiquinone-dependent recycling of alpha-tocopherol inhibits autooxidation of mitochondrial membranes. *Arch Biochem Biophys.* Apr 15;352(2):229-36, 1998.
102. Onat TE, K. Sözmen, E.Y. İnsan Biyokimyası. 2002.
103. Baynes JD, M.H. Medical Biochemistry: Mosby, 1999.
104. Simith CA, D. Marks, M.D. Lieberman, M. Basic Medical Biochemistry. :382,5, 2005.
105. Molyneux SL, Florkowski CM, Lever M, George PM. Biological variation of coenzyme Q10. *Clin Chem.* Feb;51(2):455-7, 2005.
106. Kontush A, Reich A, Baum K, Spranger T, Finckh B, Kohlschutter A, et al. Plasma ubiquinol-10 is decreased in patients with hyperlipidaemia. *Atherosclerosis.* Feb 28;129(1):119-26, 1997.
107. Kaikkonen J, Nyysönen K, Tuomainen TP, Ristonmaa U, Salonen JT. Determinants of plasma coenzyme Q10 in humans. *FEBS Lett.* Jan 25;443(2):163-6, 1999.
108. Tomasetti M, Littarru GP, Stocker R, Alleva R. Coenzyme Q10 enrichment decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Free Radic Biol Med.* Nov;27(9-10):1027-32, 1999.

109. Wolters M, Hahn A. Plasma ubiquinone status and response to six-month supplementation combined with multivitamins in healthy elderly women--results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Int J Vitam Nutr Res.* May;73(3):207-14, 2003.
110. Menke T, Niklowitz P, de Sousa G, Reinehr T, Andler W. Comparison of coenzyme Q10 plasma levels in obese and normal weight children. *Clin Chim Acta.* Nov;349(1-2):121-7, 2004.
111. Strey CH, Young JM, Molyneux SL, George PM, Florkowski CM, Scott RS, et al. Endothelium-ameliorating effects of statin therapy and coenzyme Q10 reductions in chronic heart failure. *Atherosclerosis.* Mar;179(1):201-6, 2005.
112. Ghirlanda G, Oradei A, Manto A, Lippa S, Uccioli L, Caputo S, et al. Evidence of plasma CoQ10-lowering effect by HMG-CoA reductase inhibitors: a double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Pharmacol.* Mar;33(3):226-9, 1993.
113. Watts GF, Castelluccio C, Rice-Evans C, Taub NA, Baum H, Quinn PJ. Plasma coenzyme Q (ubiquinone) concentrations in patients treated with simvastatin. *J Clin Pathol.* Nov;46(11):1055-7, 1993.
114. Beyer RE, Burnett BA, Cartwright KJ, Edington DW, Falzon MJ, Kreitman KR, et al. Tissue coenzyme Q (ubiquinone) and protein concentrations over the life span of the laboratory rat. *Mech Ageing Dev.* Nov;32(2-3):267-81, 1985.
115. Kalen A, Appelkvist EL, Dallner G. Age-related changes in the lipid compositions of rat and human tissues. *Lipids.* Jul;24(7):579-84, 1989.
116. Alleva R, Tomasetti M, Battino M, Curatola G, Littarru GP, Folkers K. The roles of coenzyme Q10 and vitamin E on the peroxidation of human low density lipoprotein subfractions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Sep 26;92(20):9388-91, 1995.
117. Kwong LK, Kamzalov S, Rebrin I, Bayne AC, Jana CK, Morris P, et al. Effects of coenzyme Q(10) administration on its tissue concentrations, mitochondrial oxidant generation, and oxidative stress in the rat. *Free Radic Biol Med.* Sep 1;33(5):627-38, 2002.

118. Kaikkonen J, Tuomainen TP, Nyyssonen K, Salonen JT. Coenzyme Q10: absorption, antioxidative properties, determinants, and plasma levels. *Free Radic Res.* Apr;36(4):389-97, 2002.
119. Mohr D, Bowry VW, Stocker R. Dietary supplementation with coenzyme Q10 results in increased levels of ubiquinol-10 within circulating lipoproteins and increased resistance of human low-density lipoprotein to the initiation of lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta.* Jun 26;1126(3):247-54, 1992.
120. Frankiewicz-Jozko A, Faff J, Sieradzan-Gabelska B. Changes in concentrations of tissue free radical marker and serum creatine kinase during the post-exercise period in rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*;74(5):470-4, 1996.
121. 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.* Aug 12;245(2):307-16, 1982.
122. Eriksson JG, Forsen TJ, Mortensen SA, Rohde M. The effect of coenzyme Q10 administration on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biofactors.*;9(2-4):315-8, 1999.
123. Svensson M, Malm C, Tonkonogi M, Ekblom B, Sjodin B, Sahlin K. Effect of Q10 supplementation on tissue Q10 levels and adenine nucleotide catabolism during high-intensity exercise. *Int J Sport Nutr.* Jun;9(2):166-80, 1999.
124. Kurowska EM, Dresser G, Deutsch L, Bassoo E, Freeman DJ. Relative bioavailability and antioxidant potential of two coenzyme q10 preparations. *Ann Nutr Metab.*;47(1):16-21, 2003.
125. Mortensen SA. Overview on coenzyme Q10 as adjunctive therapy in chronic heart failure. Rationale, design and end-points of "Q-symbio"--a multinational trial. *Biofactors.*;18(1-4):79-89, 2003.
126. Kucharska J, Gvozdjakova A, Mizera S, Braunova Z, Schreinerova Z, Schramekova E, et al. Participation of coenzyme Q10 in the rejection development of the transplanted heart: a clinical study. *Physiol Res.*;47(6):399-404, 1998.
127. Folkers K, Wolaniuk A. Research on coenzyme Q10 in clinical medicine and in immunomodulation. *Drugs Exp Clin Res.*;11(8):539-45, 1985.

128. Judy WV, Stogsdill WW, Folkers K. Myocardial preservation by therapy with coenzyme Q10 during heart surgery. *Clin Investig.*;71(8 Suppl):S155-61, 1993.
129. Abe K, Fujimura H, Nishikawa Y, Yorifuji S, Mezaki T, Hirono N, et al. Marked reduction in CSF lactate and pyruvate levels after CoQ therapy in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Acta Neurol Scand.* Jun;83(6):356-9, 1991.
130. Goda S, Hamada T, Ishimoto S, Kobayashi T, Goto I, Kuroiwa Y. Clinical improvement after administration of coenzyme Q10 in a patient with mitochondrial encephalomyopathy. *J Neurol.* Jan;234(1):62-3, 1987.
131. Kishi T, Kishi H, Watanabe T, Folkers K. Bioenergetics in clinical medicine. XI. Studies on coenzyme Q and diabetes mellitus. *J Med.*;7(3-4):307-21, 1976.
132. Andersen CB, Henriksen JE, Hother-Nielsen O, Vaag A, Mortensen SA, Beck-Nielsen H. The effect of coenzyme Q10 on blood glucose and insulin requirement in patients with insulin dependent diabetes mellitus. *Mol Aspects Med.*;18 Suppl:S307-9, 1997.
133. Henriksen JE, Andersen CB, Hother-Nielsen O, Vaag A, Mortensen SA, Beck-Nielsen H. Impact of ubiquinone (coenzyme Q10) treatment on glycaemic control, insulin requirement and well-being in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med.* Apr;16(4):312-8, 1999.
134. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins JB, 3rd. Effects of coenzyme Q10 treatment on antioxidant pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol.*;15(1):41-6, 2001.
135. Hart PE, Lodi R, Rajagopalan B, Bradley JL, Crilley JG, Turner C, et al. Antioxidant treatment of patients with Friedreich ataxia: four-year follow-up. *Arch Neurol.* Apr;62(4):621-6, 2005.
136. 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.* Aug;42(2):261-4, 1997.

137. Beal MF, Matthews RT, Tieleman A, Shults CW. Coenzyme Q10 attenuates the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (MPTP) induced loss of striatal dopamine and dopaminergic axons in aged mice. *Brain Res.* Feb 2;783(1):109-14, 1998.
138. Rozen TD, Oshinsky ML, Gebeline CA, Bradley KC, Young WB, Shechter AL, et al. Open label trial of coenzyme Q10 as a migraine preventive. *Cephalalgia.* Mar;22(2):137-41, 2002.
139. Miles MV, Patterson BJ, Chalfonte-Evans ML, Horn PS, Hickey FJ, Schapiro MB, et al. Coenzyme Q10 (ubiquinol-10) supplementation improves oxidative imbalance in children with trisomy 21. *Pediatr Neurol.* Dec;37(6):398-403, 2007.
140. Kaikkonen J, Nyyssonen K, Porkkala-Sarataho E, Poulsen HE, Metsa-Ketela T, Hayn M, et al. Effect of oral coenzyme Q10 supplementation on the oxidation resistance of human VLDL+LDL fraction: absorption and antioxidative properties of oil and granule-based preparations. *Free Radic Biol Med.*;22(7):1195-202, 1997.
141. Kaikkonen J, Nyyssonen K, Tomasi A, Iannone A, Tuomainen TP, Porkkala-Sarataho E, et al. Antioxidative efficacy of parallel and combined supplementation with coenzyme Q10 and d-alpha-tocopherol in mildly hypercholesterolemic subjects: a randomized placebo-controlled clinical study. *Free Radic Res.* Sep;33(3):329-40, 2000.
142. Weber C, Jakobsen TS, Mortensen SA, Paulsen G, Holmer G. Effect of dietary coenzyme Q10 as an antioxidant in human plasma. *Mol Aspects Med.*;15 Suppl:s97-102, 1994.
143. Stocker R, Bowry VW, Frei B. Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does alpha-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar 1;88(5):1646-50, 1991.
144. Laaksonen R, Fogelholm M, Himberg JJ, Laakso J, Salorinne Y. Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*;72(1-2):95-100, 1995.
145. Mortensen SA. Perspectives on therapy of cardiovascular diseases with coenzyme Q10 (ubiquinone). *Clin Investig.*;71(8 Suppl):S116-23, 1993.

146. Erol B, Bozlu M, Hanci V, Tokgoz H, Bektas S, Mungan G. Coenzyme Q(10) treatment reduces lipid peroxidation, inducible and endothelial nitric oxide synthases, and germ cell-specific apoptosis in a rat model of testicular ischemia/reperfusion injury. *Fertil Steril*. Aug 13, 2009.
147. Balercia G, Arnaldi G, Fazioli F, Serresi M, Alleva R, Mancini A, et al. Coenzyme Q10 levels in idiopathic and varicocele-associated asthenozoospermia. *Andrologia*. Apr;34(2):107-11, 2002.
148. Premkumar VG, Yuvaraj S, Sathish S, Shanthi P, Sachdanandam P. Anti-angiogenic potential of CoenzymeQ10, riboflavin and niacin in breast cancer patients undergoing tamoxifen therapy. *Vascul Pharmacol*. Apr-Jun;48(4-6):191-201, 2008.
149. Hathcock JN, Shao A. Risk assessment for coenzyme Q10 (Ubiquinone). *Regul Toxicol Pharmacol*. Aug;45(3):282-8, 2006.
150. Feigin A, Kiebertz K, Como P, Hickey C, Claude K, Abwender D, et al. Assessment of coenzyme Q10 tolerability in Huntington's disease. *Mov Disord*. May;11(3):321-3, 1996.
151. Forsmark P, Aberg F, Norling B, Nordenbrand K, Dallner G, Ernster L. Inhibition of lipid peroxidation by ubiquinol in submitochondrial particles in the absence of vitamin E. *FEBS Lett*. Jul 8;285(1):39-43, 1991.
152. Mukai K, Kikuchi S, Urano S. Stopped-flow kinetic study of the regeneration reaction of tocopheroxyl radical by reduced ubiquinone-10 in solution. *Biochim Biophys Acta*. Jul 20;1035(1):77-82, 1990.
153. Forsmark-Andree P, Dallner G, Ernster L. Endogenous ubiquinol prevents protein modification accompanying lipid peroxidation in beef heart submitochondrial particles. *Free Radic Biol Med*. Dec;19(6):749-57, 1995.
154. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci*.;899:191-208, 2000.
155. Rohn TT, Nelson LK, Waeg G, Quinn MT. U-101033E (2,4-diaminopyrrolopyrimidine), a potent inhibitor of membrane lipid peroxidation as assessed by the production of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde, and 4-hydroxynonenal--protein adducts. *Biochem Pharmacol*. Nov 15;56(10):1371-9, 1998.

156. Forsmark-Andree P, Persson B, Radi R, Dallner G, Ernster L. Oxidative modification of nicotinamide nucleotide transhydrogenase in submitochondrial particles: effect of endogenous ubiquinol. *Arch Biochem Biophys.* Dec 1;336(1):113-20, 1996.
157. Mitchell P. Protonmotive redox mechanism of the cytochrome b-c1 complex in the respiratory chain: protonmotive ubiquinone cycle. *FEBS Lett.* Aug 1;56(1):1-6, 1975.
158. Wang XL, Rainwater DL, Mahaney MC, Stocker R. Cosupplementation with vitamin E and coenzyme Q10 reduces circulating markers of inflammation in baboons. *Am J Clin Nutr.* Sep;80(3):649-55, 2004.
159. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Bastagli L, Facchini A, Mariani E, et al. Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged ≥ 90 y. *Am J Clin Nutr.* Feb;71(2):590-8, 2000.
160. Turunen M, Peters JM, Gonzalez FJ, Schedin S, Dallner G. Influence of peroxisome proliferator-activated receptor alpha on ubiquinone biosynthesis. *J Mol Biol.* Mar 31;297(3):607-14, 2000.
161. Bentinger M, Turunen M, Zhang XX, Wan YJ, Dallner G. Involvement of retinoid X receptor alpha in coenzyme Q metabolism. *J Mol Biol.* Feb 21;326(3):795-803, 2003.
162. Sun YL, W. Li, Oberley. Li, Ying. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, 1988.
163. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet.* Nov;35(6):1126-38, 1983.
164. Nguyen SD, Sok DE. Oxidative inactivation of paraoxonase1, an antioxidant protein and its effect on antioxidant action. *Free Radic Res.* Dec;37(12):1319-30, 2003.
165. Ates O, Cayli S, Altinoz E, Gurses I, Yucel N, Sener M, et al. Neuroprotection by resveratrol against traumatic brain injury in rats. *Mol Cell Biochem.* Jan;294(1-2):137-44, 2007.

166. Awasthi D, Church DF, Torbati D, Carey ME, Pryor WA. Oxidative stress following traumatic brain injury in rats. *Surg Neurol.* Jun;47(6):575-81; discussion 81-2, 1997.
167. Kontos HA, Povlishock JT. Oxygen radicals in brain injury. *Cent Nerv Syst Trauma.* Fall;3(4):257-63, 1986.
168. Kontos HA, Wei EP. Superoxide production in experimental brain injury. *J Neurosurg.* May;64(5):803-7, 1986.
169. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem.* Nov;59(5):1609-23, 1992.
170. Nishio S, Yunoki M, Noguchi Y, Kawauchi M, Asari S, Ohmoto T. Detection of lipid peroxidation and hydroxyl radicals in brain contusion of rats. *Acta Neurochir Suppl.*;70:84-6, 1997.
171. Hicdonmez T, Kanter M, Tiryaki M, Parsak T, Cobanoglu S. Neuroprotective effects of N-acetylcysteine on experimental closed head trauma in rats. *Neurochem Res.* Apr;31(4):473-81, 2006.
172. Clausen F, Lundqvist H, Ekmark S, Lewen A, Ebendal T, Hillered L. Oxygen free radical-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase mediates apoptosis-like cell death after traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* Sep;21(9):1168-82, 2004.
173. Smith SL, Andrus PK, Zhang JR, Hall ED. Direct measurement of hydroxyl radicals, lipid peroxidation, and blood-brain barrier disruption following unilateral cortical impact head injury in the rat. *J Neurotrauma.* Aug;11(4):393-404, 1994.
174. Hall ED. Inhibition of lipid peroxidation in central nervous system trauma and ischemia. *J Neurol Sci.* Dec;134 Suppl:79-83, 1995.
175. Ucar T, Tanriover G, Gurer I, Onal MZ, Kazan S. Modified experimental mild traumatic brain injury model. *J Trauma.* Mar;60(3):558-65, 2006.
176. Littarru GP, Tiano L. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* Nov;8(6):641-6, 2005.

177. Yokoyama 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*. Mar;33(1):1-5, 1999.
178. 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*. Nov;90(5):890-8, 1992.
179. Kerimoglu A, Pasaoglu O, Kanbak G, Hanci V, Ozdemir F, Atasoy MA. [Efficiency of coenzyme Q(10) at experimental spinal cord injury]. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. Apr;13(2):85-93, 2007.
180. Li H, Klein G, Sun P, Buchan AM. CoQ10 fails to protect brain against focal and global ischemia in rats. *Brain Res*. Sep 15;877(1):7-11, 2000.
181. Ostrowski RP, Piotrowski P, Pankowska T, Smialek M. Evaluation of morphological changes after treatment with coenzyme Q10 (CoQ10) in endothelin-1 induced experimental ischemia in the rat. *Folia Neuropathol*.;36(3):185-8, 1998.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 28/05/2009
TOPLANTI NO : 2009/05

- 6- Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, 2009-009-28/05 Protokol nolu "Deneysel Kafa Travması Modelinde KoQ10'un İskemi ve Nöronal Hasar Üzerine Etkisi" konulu çalışmasının ZKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı