



Koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀)'nun sıçanlarda steroide bağlı osteonekroz üzerine önleyici etkisi

Erkam KÖMÜRCÜ¹, Murat OKTAY², Burak KAYMAZ¹,
Umut HATAY GÖLGE¹, Ferdi GÖKSEL¹, Gürdal NUSRAN¹

¹Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Çanakkale;

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Düzce

Amaç: Bu çalışmanın amacı koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀)'nun sıçanlarda steroide bağlı femur başı osteonekrozu (FBON) üzerindeki önleyici etkilerini incelemektir.

Çalışma planı: Osteonekrozu indüklemek için, 20 Sprague-Dawley cinsi sıçanın sağ gluteus medius kası içerisine bir kez 20 mg/kg metilprednizolon asetat enjekte edildi. Hayvanlar iki eşit gruba ayrıldı: 10 sıçandan oluşan Grup 1'e (kontrol grubu) profilaksi uygulanmazken, 10 sıçandan oluşan Grup 2'ye CoQ₁₀ verildi. Steroid enjeksiyonu yapılmadan hemen önce (0. Hafta) ve steroid enjeksiyonundan 4 hafta sonra hematolojik incelemeler yapıldı. Osteonekrozu değerlendirmek amacıyla femur başları histolojik olarak incelendi.

Bulgular: Kandaki glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) konsantrasyonlarına dair değişiklikler CoQ₁₀ grubunda daha az belirgin idi. CoQ₁₀ grubunda erken osteonekroz ile uyumlu histolojik değişikliklerin görülme sıklığı (10 sıçandan 2'si; %20) kontrol grubuna (10 sıçandan 7'si; %70) kıyasla daha düşüktü.

Çıkarımlar: Koenzim Q₁₀ steroide bağlı FBON'yi önleyici bir ajan olarak yararlı olabilir. Oksidatif stresin inhibe edilmesi bu etkiyi açıklayabilecek olası bir mekanizmadır.

Anahtar sözcükler: Glutatyon; koenzim Q₁₀; malondialdehit; steroide bağlı osteonekroz.

Femur başı osteonekrozu (FBON), trabeküler kemik ve kemik iliğinin ciddi morbiditeye ve kalça eklemine hareket kısıtlılığına neden olan harabiyeti olarak tanımlanmaktadır. Femur başı osteonekrozu, kortikosteroidlerin genç erişkinlerde total kalça protezine neden olan, en sık rastlanan ortopedik komplikasyondur.^[1] Kortikosteroid verilmesinden sonra FBON'nin önlenmesi tedaviden daha ideal bir strateji olacaktır. Bu amaç için anti-koagülan ajanlar, anti-lipid ajanlar ve antioksidan ajanlarla farklı tedaviler de önerilmiştir.^[2-4] Steroide

bağlı osteonekrozun kemikteki iskemi nedeniyle geliştiğinin ileri sürülmesine karşın, kortikosteroid kullanımının osteonekrozun gelişimindeki ayrıntılı mekanizması belirsizdir.^[5] Son zamanlardaki çalışmalarda, *in vivo* oksidatif stresin de steroide bağlı osteonekrozun patogenezinde rol oynadığı bildirilmektedir.^[6,7]

Koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀) yağda çözünen, vitamin benzeri bir maddedir ve membran stabilizasyonunda rol oynayan güçlü bir antioksidandır. Kalp hastalıkları, infertilite, kanser ve sinir sistemi hastalıkları gibi çeşitli

Yazışma adresi: Dr. Erkam Kömürcü, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Çanakkale.

Tel: +90 286 – 218 00 18 e-posta: erkakom@yahoo.com

Başvuru tarihi: 07.12.2013 **Kabul tarihi:** 13.02.2014

©2014 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu
www.aott.org.tr adresinde
doi: 10.3944/AOTT.2014.13.0150
Karekod (Quick Response Code)



hastalıkların tedavisinde kullanılabilir.^[8] CoQ₁₀ nöronal hücrelerde oksidatif strese bağlı apoptozun önlenmesinde de rol oynar.^[9] Bildiğimiz kadarıyla, CoQ₁₀'nun FBON'de kullanımına ilişkin her hangi bir yayın bulunmamaktadır.

Bu çalışmada biz, CoQ₁₀'nun steroide bağlı FBON'ye karşı önleyici etkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızın hipotezi, CoQ₁₀'nun steroide bağlı FBON'ye karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceği idi.

Gereç ve yöntem

Bu çalışma Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından gözden geçirildi ve onaylandı. Hayvan deneylerinin hepsi ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan (1985'de gözden geçirilen) Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu'na (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) uygun olarak yürütüldü. Çalışmada ağırlıkları 250 ile 300 g arasında değişen, 20 erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Deney boyunca bütün sıçanlar 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü kullanılarak standart laboratuvar koşulları altında, kontrollü sıcaklık (22±1°C) ve nisbi nem şartlarında, her biri ayrı ayrı kafeslerde tutuldu. Bütün sıçanların polikarbonat ünitelerdeki gıda ve suya özgürce ulaşımına izin verildi. Sıçanlar altta yatan bir başka hastalık olasılığını dışlamak için hayvan bakımı laboratuvarında 7 gün süreyle gözlemlendi.

Çalışmanın başında güç analizleri yapıldı ve %80'lik bir güçle ($\alpha=0.05$ ve $\beta=0.20$) her bir grup için 10 hayvanın gerektiğini belirledik.

Yamamoto ve ark.^[10] tarafından tanımlanan kortikosteroidlere bağlı osteonekroz modeli uygulandı. Beslenme ve gruplara ayırmanın başlangıcından 7 gün sonra 20 sıçana osteonekrozu indüklemek amacıyla sağ gluteus medius kası içerisine 20 mg/kg tek yüksek doz metilprednizolon asetat (MPSL) enjeksiyonu yapıldı.

Hayvanlar iki eşit gruba ayrıldı: Grup 1 (Kontrol grubu) 4 hafta süresince 5 günde bir steril %0.9 tuzlu su solüsyonu ve 10 mg/kg dozda soya fasulyesi yağının intraperitoneal olarak verildiği 10 sıçandan; Grup 2 (CoQ₁₀ grubu) ise 4 hafta süresince 5 günde bir 10 mg/kg dozda soya fasulyesi yağında çözünmüş CoQ₁₀'un (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ABD) intraperitoneal olarak verildiği 10 sıçandan oluştu.^[11-13]

Kan örnekleri çalışmanın başlangıcında MPLS verilmenden önce (0. Hafta) ve ayrıca MPLS verildikten 4 hafta sonra (4. Hafta) kuyruk toplardamarından alındı. Örnekler santrifüje edildi ve analiz edilinceye kadar -80°C'de saklandı; serum malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri ölçüldü.

Malondialdehidin plazma düzeyi bir UV-Visible spektrofotometresi (Hitachi High-technologies, Tokyo, Japonya) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yöntemin prensibi tiyobarbitürik aside karşı reaksiyon esnasında 532 nm'de oluşan rengin spektrofotometrik ölçümüne dayanıyordu.^[14]

Glutatyonun plazma düzeyi de bir UV-Visible spektrofotometresi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu yöntemin de prensibi 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asid)e karşı reaksiyon esnasında 412 nm'de oluşan rengin spektrofotometrik ölçümüne dayanıyordu.^[15]

Metilprednizolon asetat verilmesinden 4 hafta sonra bütün sıçanlara yüksek dozda sodyum pentotal verilerek anestezi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildi ve sağ femurları alındı. Femur başları %10 tamponlanmış formalin içerisinde sabitlendi ve kemik örnekleri daha sonra %10 formik asit ile dekalsifiye edildi. Örnekler parafin içerisine gömüldü, 4 µm'lik kesitler alındı ve hematoksin-eozin (HE) ile boyandı.

Osteositlerin apoptozunu belirlemek için deparafinize ve rehidrate edilmiş doku parçaları üzerinde Kaspaz 3 (CPP32) antikorunu kullanılarak (Thermo Scientific, 1:100, tavşan) immünohistokimya uygulandı. X200 büyütme alanındaki apoptotik hücrelerin sayısı (Kaspaz 3 reaksiyona karşı pozitif) Nikon NIS-Elements 3.1 görüntü analiz programına girildi.

Osteonekroz tanısı kemik trabekülünde boş lakünlere veya osteositlerde piknotik nükleusların bol miktarda görülmesi ve çevresindeki kemik iliği hücrelerindeki (KİH) nekrozun buna eşlik etmesi ile konuldu. Yalnızca hiçbir kemik trabekülünün olaya dahil olmadığı, hem hematopoetik hem de yağ hücrelerinde görülen KİH nekrozu kortikosteroidlere bağlı osteonekroz olarak değerlendirildi. Normal kemik trabekülü içerisinde birkaç boş lakünden oluşan lezyonlara ve/veya tek başına yağ hücresi nekrozlarına kortikosteroidlere bağlı osteonekroz tanısı konulmadı.^[10]

Bütün örnekler hangi sıçanların tedavi edildiği konusunda bir ön bilgisi olmayan aynı patoloj tarafından değerlendirildi.

Veriler "SPSS for Windows v.19.0" (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak analiz edildi. Sürekli verilerin normalliği Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Veriler ortalama±standart sapma (SS) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar için Student t-testi ve Mann-Whitney U-testi kullanıldı. Osteonekroz, Fisher'in kesin ki-kare olasılık testi kullanılarak analiz edildi. Boylamsal sayısal veriler ve hematolojik veriler (0. ve 4. hafta) Wilcoxon işaretli sıra testi kullanılarak analiz edildi. Hematolojik verilerin sonuçları arasındaki

Tablo 1. Koenzim Q₁₀'nun steroide bağlı osteonekroz üzerindeki etkileri.

	Grup 1 (Osteonekroz modeli)	Grup 2 (Koenzim Q ₁₀)
Glutasyon μM (0. Hafta)	3.2 \pm 0.2	3.3 \pm 0.3
Glutasyon μM (4. Hafta)	1.8 \pm 0.5	2.7 \pm 0.5
Malondialdehit nmol/ml (0. Hafta)	2.9 \pm 0.2	2.9 \pm 0.1
Malondialdehit nmol/ml (4. Hafta)	4.2 \pm 0.9	2.9 \pm 0.5
Osteosit sayısı (ortalama)	7.90	13.10
Kaspaz-3 apoptoz sayısı (ortalama)	14.40	6.60
Osteonekroz (%)	70	20

fark Student t-testi kullanılarak incelendi. Bütün karşılaştırmalar için $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı şeklinde değerlendirildi.

Bulgular

Bu deneysel çalışmaya 20 erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan dahil edildi. Deneyler süresince yaşanan kilo kaybı iki grup arasında farklılık göstermedi.

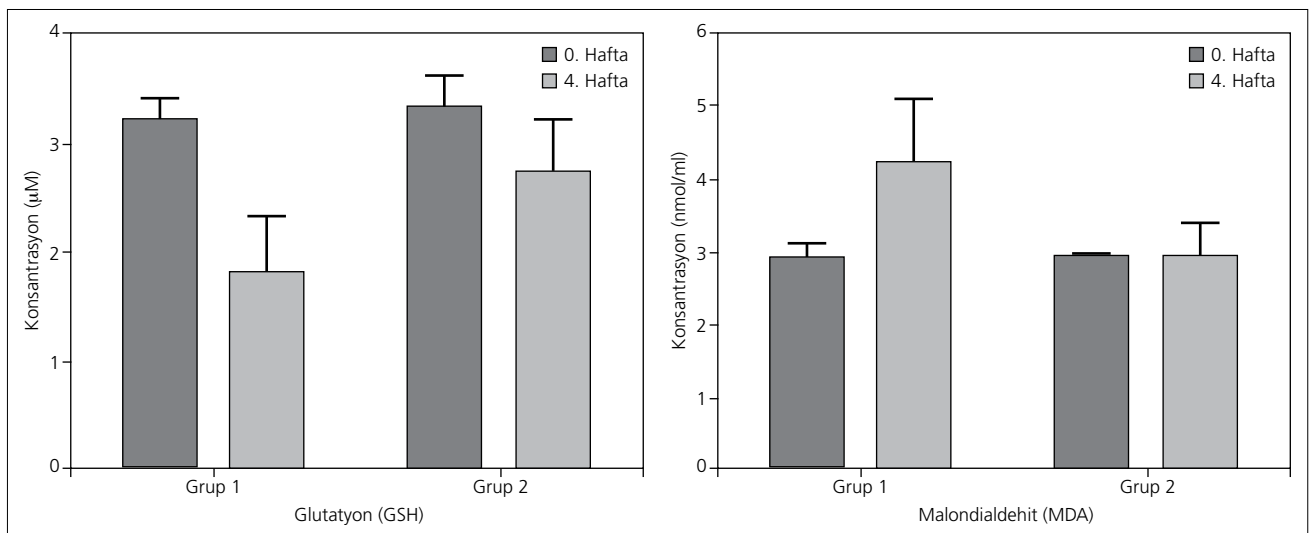
Glutasyon ve MDA düzeyleri çalışmanın başlama-sından önce Grup 1 ve Grup 2 için benzerdi (GSH için, sırasıyla, 3.2 \pm 0.2 μM ve 3.3 \pm 0.3 μM ; MDA için, sırasıyla, $p=0.325$; 2.9 \pm 0.2 nmol/ml ve 2.9 \pm 0.1 nmol/ml). Dördüncü haftada GSH düzeyleri Grup 1 için 1.8 \pm 0.5'e ($p=0.005$) ve Grup 2 için 2.7 \pm 0.5'e düştü ($p=0.028$) (Tablo 1, Şekil 1). Düşüş düzeylerindeki farklılık Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamlı derecede daha azdı ($p=0.029$). Dördüncü haftada MDA düzeyleri Grup 1'de 4.2 \pm 0.9'a yükselirken ($p=0.013$), Grup 2'de değişmedi ($p=0.959$). Artış düzeylerindeki farklılık Grup 2'ye kıyasla Grup 1'de anlamlı derecede daha fazlaydı ($p=0.009$) (Tablo 1, Şekil 1).

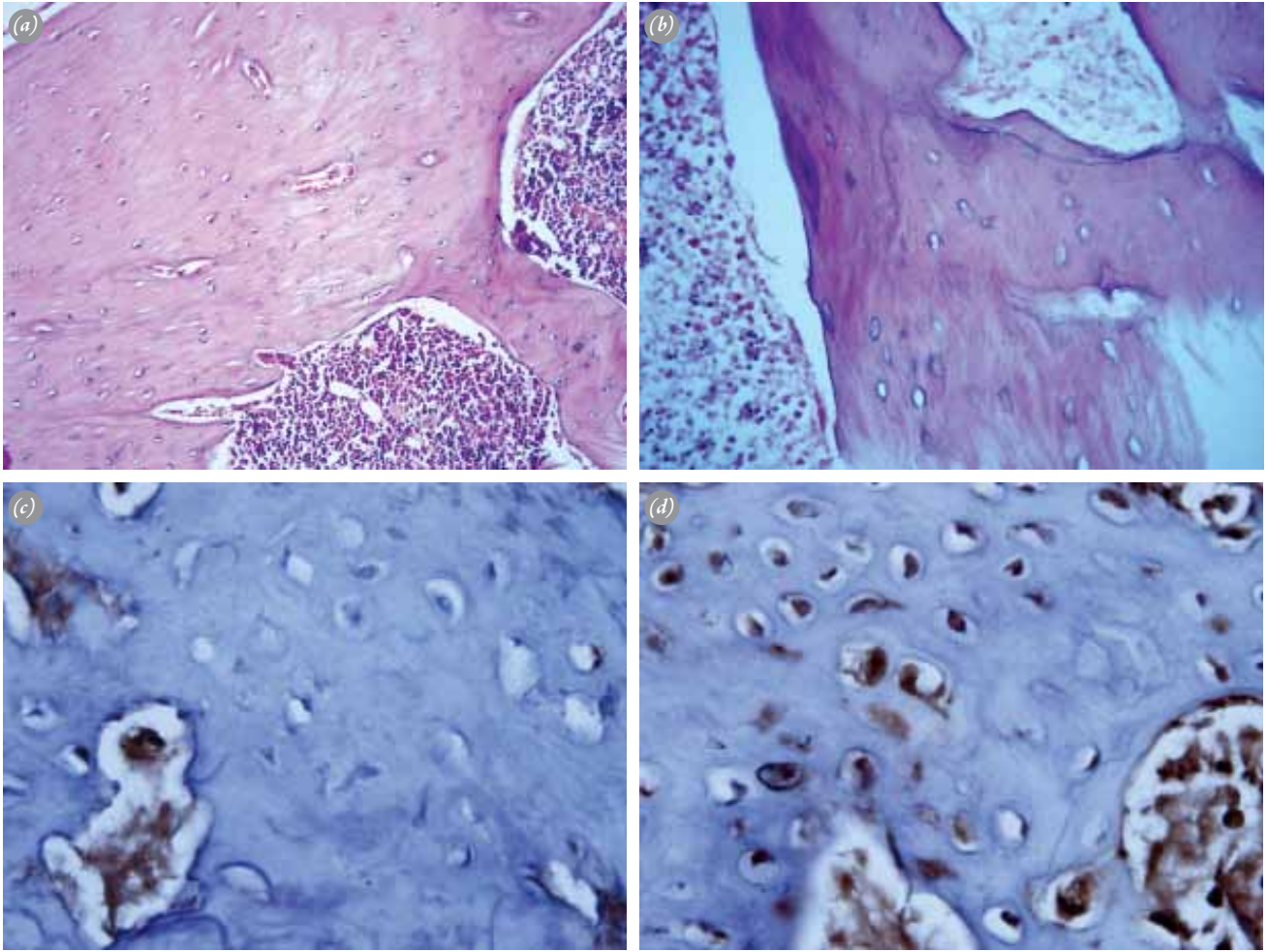
Osteonekroz histolojik olarak gözlemlendi. Grup 1'deki 7 sıçanda (%70) ve Grup 2'deki 2 sıçanda (%20) osteonekroz gelişti (Şekil 2a ve b). CoQ₁₀ grubundaki osteonekroz görülme sıklığı kontrol grubundakinden anlamlı derecede daha düşüktü ($p=0.021$). Osteosit sayısı kontrol grubunda daha azdı, ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.05$) (Tablo 1).

Apoptozu saptamak için Kaspaz 3 (CPP32) antikorları kullanılarak yapılan immünohistokimya incelemeleri apoptozun CoQ₁₀ grubunda daha az belirgin olduğunu ortaya çıkardı (Grup 1 ve Grup 2 için, sırasıyla, 14.40 ve 6.60) ($p=0.002$) (Tablo 1, Şekil 2c ve d).

Tartışma

Femur başı osteonekrozu ağır bir engellilik haline ve morbiditeye neden olabilen ciddi bir sorundur. Ciddi bir sorun olmasına karşın, bu hastalığı önleyecek veya tedavi edecek etkili bir tedavi bulunmamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalar, sıçanlarda steroid enjeksiyonu yapıldıktan 4 hafta sonra osteonekroz oranlarının en yüksek noktaya ulaştığını ve oksidatif stresin osteoblastların

**Şekil 1.** Çalışmanın başlangıcında (0. Hafta) ve dördüncü haftada kontrol ve CoQ₁₀ gruplarında GSH ve MDA düzeyleri.



Şekil 2. (a) Lameller kemiğin lakünlerinde normal osteositler ve kemik iliği hücreleri (H-E x 200). (b) Osteonekrozu ve kemik iliği hücrelerinin koagülasyon nekrozunu gösteren boş lakünler (H-E x 400). (c) Anti-Kaspaz 3 (-) apoptotik olmayan osteositler (IHC x 1000). (d) Anti-Kaspaz 3 (+) apoptotik osteositler (IHC x 1000). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

çoğalmasını baskıladığını ve apoptozu indüklediğini göstermiştir.^[7,16] Apoptoz, ayrıca, steroide bağlı osteonekrozun altında yatan mekanizmalardan biri olarak sunulmuştur.^[17] CoQ₁₀'un oksijen radikalleri ile reaksiyona girdiği, biyomoleküllerin doğrudan hasar görmesini ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunu önlediği belirtilmiştir.^[18] Bu nedenle, kardiyak, nörolojik ve immünolojik hastalıklarda bu enzim incelenmiş ve farklı türdeki doku iskemisi/reperfüzyon hasarlarına ve omurilik travmalarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir.^[8,19-21]

Malondialdehit lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür ve GSH de organizmadaki en önemli antioksidanlardan birisidir. Azalmış GSH düzeyleriyle birlikte yükselmiş MDA düzeyleri oksidatif hasarın önemli göstergeleridir.^[22] Bu nedenle, oksidatif stresi değerlendirmek için MDA ve GSH düzeylerini araştırdık ve CoQ₁₀ ile tedavi edilen grupta GSH düzeylerindeki azalmanın ve MDA düzeylerindeki artışın daha az belirgin oldu-

ğunu saptadık. Bu, antioksidanlar üzerine daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen oksidatif stresin CoQ₁₀ ile inhibe edildiği görüşünü destekleyen bir veridir.^[7,14,23] CoQ₁₀'nun deneysel modellerde iskemik hasara karşı koruyucu bir etkisi olduğu bildirilmiştir.^[19,21] Erol ve ark., testiküler iskemisi/reperfüzyon hasarı modelinde CoQ₁₀ grubunda MDA düzeylerinin anlamlı derecede daha düşük olduğunu göstermişler ve bunun lipid peroksidasyonunu azaltmak suretiyle bir antioksidan etki gösteren CoQ₁₀'a bağlanabileceği sonucuna varmışlardır.^[19] Ostrowski, CoQ₁₀'nun güçlü bir antioksidan olarak serebral iskemisi modeli üzerindeki nöroprotektif etkisini göstermiştir.^[24] Bundan başka, Yenilmez ve ark., CoQ₁₀ tedavisinin sıçan böbreklerinde okratoksin A (OTA) ile oluşturulan oksidatif hasarı iyileştirdiğini göstermişlerdir.^[23] Bu bulgular, CoQ₁₀'nun oksidatif hasara karşı güçlü bir koruyucu etkisi olduğunu, ancak steroide bağlı osteonekrozdaki koruyucu etkisinin hala çok bilinen bir

konu olmadığını düşündürmektedir.

Pek çok hayvan ve insan çalışması anti-koagülan ajanlar, anti-lipid ajanlar ve antioksidan ajanları içeren farmakolojik yaklaşımların steroide bağlı osteonekrozu önleyebileceğini öne sürmüştür.^[2-4] Biz FBON'deki en önemli etiyolojik faktörün oksidasyon süreci olduğunu düşündüğümüz için, güçlü bir antioksidan olan CoQ₁₀'nun steroide bağlı osteonekrozun gelişimini önlemede kullanılabileceği kanaatine vardık.

Çalışmamızda, CoQ₁₀ ile tedavi edilen sıçanlardaki FBON insidansı CoQ₁₀ ile tedavi edilmeyen sıçanlardakinden anlamlı derecede daha düşüktü. Her ne kadar CoQ₁₀ FBON'yi önlemek için verilmiş olsa da, sıçanların %20'sinde yine de osteonekroz gelişmişti. Bunun nedeni, osteonekroz gelişiminin yalnızca oksidasyon süreçlerine değil, aynı zamanda çok bileşenli etkilere bağlı olmasıdır.^[5,7]

Bildiğimiz kadarıyla, literatürde FBON'in önlenmesi için CoQ₁₀ verilmesinin etkileri üzerine yapılmış deneysel bir çalışma bulunmamaktadır. Biz bu ajanın kullanımının güvenilir olduğuna ve insanlarda osteonekrozun önlenmesi üzerine etkilerinin klinik çalışmalarda kolaylıkla test edilebileceğine inanıyoruz. Bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı, steroid tedavisi süresinin bir osteonekroz tanısını doğrulayabilmek için kısa olmasıdır. Daha önce yapılan çalışmalar, histopatolojik değişikliklerin steroid verilmesinden sonra 2 ila 20. haftalarda ortaya çıktığını belirtmektedir.^[7,10,25,26] Bu çalışmada, biz histolojik değişiklikleri her hangi bir çökme olmadan önce dördüncü haftada inceledik. Bu nedenle, sonuçlarımızın osteonekrozdaki erken değişiklikleri yansıttığını varsayıyoruz.

Sonuç olarak, CoQ₁₀ steroide bağlı FBON'de önleyici bir ajan olarak yararlı olabilir. Bu etki için olası mekanizma oksidatif stresin inhibe edilmesidir. Kesin mekanizmanın belirlenmesi için gelecek *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar örtüşmesi: Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

- Mont MA, Jones LC, Hungerford DS. Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: ten years later. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1117-32.
- Kuribayashi M, Fujioka M, Takahashi KA, Arai Y, Ishida M, Goto T, et al. Vitamin E prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Acta Orthop* 2010;81:154-60.
- Lu BB, Li KH. Lipoic acid prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatol Int* 2012;32:1679-83.
- Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Tsukamoto H, Horiuchi T, Yoshizawa S, et al. Prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus by anti-coagulant. *Lupus* 2006;15:354-7.
- Mont MA, Hungerford DS. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:459-74.
- Ichiseki T, Kaneuji A, Katsuda S, Ueda Y, Sugimori T, Matsumoto T. DNA oxidation injury in bone early after steroid administration is involved in the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:456-60.
- Ichiseki T, Matsumoto T, Nishino M, Kaneuji A, Katsuda S. Oxidative stress and vascular permeability in steroid-induced osteonecrosis model. *J Orthop Sci* 2004;9:509-15.
- Overvad K, Diamant B, Holm L, Holmer G, Mortensen SA, Stender S. Coenzyme Q10 in health and disease. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:764-70.
- Naderi J, Somayajulu-Nitu M, Mukerji A, Sharda P, Sikorska M, Borowy-Borowski H, et al. Water-soluble formulation of Coenzyme Q10 inhibits Bax-induced destabilization of mitochondria in mammalian cells. *Apoptosis* 2006;11:1359-69.
- Yamamoto T, Irida T, Sugioka Y, Sueishi K. Effects of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissues: corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum* 1997;40:2055-64.
- Binukumar BK, Gupta N, Bal A, Gill KD. Protection of dichlorvos induced oxidative stress and nigrostriatal neuronal death by chronic coenzyme Q10 pretreatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011;256:73-82.
- Farswan M, Rathod SP, Upaganlawar AB, Semwal A. Protective effect of coenzyme Q10 in simvastatin and gemfibrozil induced rhabdomyolysis in rats. *Indian J Exp Biol* 2005;43:845-8.
- Upaganlawar A, Farswan M, Rathod S, Balaraman R. Modification of biochemical parameters of gentamicin nephrotoxicity by coenzyme Q10 and green tea in rats. *Indian J Exp Biol* 2006;44:416-8.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963;61:882-8.
- Ding S, Peng H, Fang HS, Zhou JL, Wang Z. Pulsed electromagnetic fields stimulation prevents steroid-induced osteonecrosis in rats. *BMC Musculoskelet Disord* 2011;12:215.
- Kabata T, Kubo T, Matsumoto T, Nishino M, Tomita K, Katsuda S, et al. Apoptotic cell death in steroid induced osteonecrosis: an experimental study in rabbits. *J Rheumatol* 2000;27:2166-71.
- Dallner G, Sindelar PJ. Regulation of ubiquinone metabo-

- lism. *Free Radic Biol Med* 2000;29:285-94.
19. Erol B, Bozlu M, Hanci V, Tokgoz H, Bektas S, Mungan G. Coenzyme Q10 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* 2010;93:280-2.
 20. Kerimoğlu A, Paşaoğlu O, Kanbak G, Hanci V, Ozdemir F, Atasoy MA. Efficiency of coenzyme Q(10) at experimental spinal cord injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2007;13:85-93.
 21. Yokoyama K, Itoman M, Takagishi K, Yamamoto M. Protective effects of coenzyme Q10 on ischemia-induced reperfusion injury in ischemic limb models. *Plast Reconstr Surg* 1992;90:890-8.
 22. Mohammadi S, Najafi M, Hamzeiy H, Maleki-Dizaji N, Pezeshkian M, Sadeghi-Bazargani H, et al. Protective effects of methylsulfonylmethane on hemodynamics and oxidative stress in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *Adv Pharmacol Sci* 2012;2012:507278.
 23. Yenilmez A, Isikli B, Aral E, Degirmenci I, Sutken E, Baycu C. Antioxidant effects of melatonin and coenzyme Q10 on oxidative damage caused by single-dose ochratoxin A in rat kidney. *Chin J Physiol* 2010;53:310-7.
 24. Ostrowski RP. Effect of coenzyme Q(10) on biochemical and morphological changes in experimental ischemia in the rat brain. *Brain Res Bull* 2000;53:399-407.
 25. Miyanishi K, Yamamoto T, Irida T, Yamashita A, Jingushi S, Noguchi Y, et al. A high low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ratio as a potential risk factor for corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:196-201.
 26. Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, Jingushi S, Iwamoto Y. Combined effects of an anticoagulant and a lipid-lowering agent on the prevention of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum* 2004;50:3387-91.