

SIÇANLARDA DENEYSEL SPİNAL KORD İSKEMİ/ REPERFÜZYON YARALANMASINDA KARVEDİLOL'UN ETKİLERİ

Effects of Carvedilol on Experimental Spinal Cord Ischemia/ Reperfusion Injury in Rats

Atanur KURU¹, Uğur YAZAR², Süleyman Caner KARAHAN³, İsmail SAYGIN⁴, Serap ÖZER YAMAN³

ÖZET

Amaç: Spinal kord yaralanmalarında sekonder hasarın önlenmesi için nöroprotektif ajan kullanımı yaygın olarak denlenmektedir. Bu çalışmada nöroprotektif özelliği bilinen, beta-adrenerjik ve α 1-reseptör antagonisti karvedilolun spinal kord iskemi reperfüzyon yaralanmasında koruyucu etkisi metilprednizolon ile karşılaştırılmalı olarak araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 32 (otuz iki) adet Sprague-Dawley dişi sıçan dört eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubu hayvanlarına laparotomi uygulandı, abdominal aortaları ortaya konuldu fakat iskemi yapılmadı. İskemi grubuna laparotomi yapıldı, abdominal aortaları kliplendi. Karvedilol grubuna laparotomi uygulandı, abdominal aortaları kliplendi ve karvedilol verildi. Metilprednizolon grubuna laparotomi yapıldı, abdominal aortaları kliplendi ve metilprednizolon uygulandı. Her dört grubun 1. saatte ve 24. saatte Tarlov skalası kullanılarak motor muayeneleri yapıldı. Sakrifiye edilen sıçanların spinal kordları çıkartıldı, histopatolojik olarak değerlendirildi ve lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için MDA (malondialdehit) düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Karvedilol'un travma sonrası 24. saatte Tarlov motor skalasında istatistiksel olarak anlamlı bir düzelmeye neden olduğu saptandı. Histopatolojik olarak iskemi grubuna göre nöronal nekrozu azalttığı gözlemlendi. MDA düzeylerine göre spinal kord iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde karvedilol'un yararlı olduğu, fakat bu etkinin istatistiksel olarak metilprednizolondan anlamlı ölçüde farklı olmadığı belirlendi.

Sonuç: Karvedilol 24. saatte sıçanların Tarlov motor muayenesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düzelmeye sağladı ve nöronal nekroza azalmaya neden oldu. Fakat MDA düzeylerini düşürmede metilprednizolon kadar etkin olmadığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Spinal kord; Karvedilol; İskemi; Metilprednizolon

ABSTRACT

Objective: Neuroprotective agents in preventing secondary damages after spinal cord injury has been commonly applied. In this study, protective effect of carvedilol, a beta-adrenergic and α 1-receptor antagonist and known with its neuroprotective property in spinal cord ischemia reperfusion injury was investigated in comparison to methylprednisolone.

Material and Methods: 32 (thirty-two) Sprague-Dawley female rats were equally divided into four groups. Rats in the control group underwent laparotomy and their abdominal aortas were exposed without ischemia. The ischemia group was subject to laparotomy, followed by clamping abdominal aorta. The carvedilol group underwent laparotomy, followed by clamping abdominal aorta and received carvedilol. In the methylprednisolone group, laparotomy was performed, followed by clamping abdominal aorta and received methylprednisolone. The motor functions were evaluated by using the Tarlov scale at the first and twenty four hours for all four groups. Spinal cords of the rats were harvested after sacrifice for histopathologic assessments and measurement of MDA (malondialdehyde) levels in order to determine lipid peroxidation.

Results: Carvedilol provided a statistically significant improvement at 24th hour after trauma based on the Tarlov scale and reduced neuronal necrosis in comparison to the ischemia group according to histopathological findings. Based on MDA levels, carvedilol was effective to prevent spinal cord ischemia reperfusion injury but did not display statistically significant difference from methylprednisolone.

Conclusion: Carvedilol made a statistically significant improvement at 24th hour on the Tarlov scale and provided reduction of neuronal necrosis but was not as effective as methylprednisolone to decrease MDA levels.

Key Words: Spinal cord; Carvedilol; Ischemia; Methylprednisolone

¹Gümüşhane Devlet Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Gümüşhane

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Trabzon

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıbbi Biokimya Anabilim Dalı, Trabzon

⁴Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Trabzon

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıbbi Biokimya Anabilim Dalı, Trabzon.

Atanur KURU, Dr.

Uğur YAZAR, Dr. Öğr. Üyesi

Süleyman Caner KARAHAN, Prof. Dr.

İsmail SAYGIN, Dr. Öğr. Üyesi

Serap ÖZER YAMAN, Arş. Gör.

İletişim:

Dr. Atanur KURU, Gümüşhane

Devlet Hastanesi, Beyin ve Sinir

Cerrahisi Anabilim Dalı, Gümüşhane

Tel: 0 554 989 88 02

e-mail:

ata_pasa_@hotmail.com

Geliş tarihi/Received: 25.05.2018

Kabul tarihi/Accepted: 01.08.2018

DOI : 10.16919/bozoktip.426971

Bozok Tıp Derg 2018;8(4):74-80

Bozok Med J 2018;8(4):74-80

GİRİŞ

Spinal kord yaralanması spinal kordu etkileyen, değişken derecelerde motor ve duygusal defisitlere neden olan travmatik bir yaralanmadır (1). Bireyin yaşam kalitesini ciddi oranda azaltır (2). Yaralanma sonucu ortaya çıkan ağrı, hayat boyu devam edebilen, kontrol edilmesi en zor klinik durumdur. Spinal kord yaralanmasını takiben yaşanan fiziksel ve psikolojik travmaya ağrının da eklenmesiyle motivasyonlarını kaybeden hastalar rehabilitasyon sürecinde güçlük çekmekte ve günlük yaşam aktiviteleri ile uyku düzenleri olumsuz yönde etkilenmekte, yaşam kaliteleri belirgin olarak düşmektedir (3-6).

Spinal kord yaralanmasında tedavi stratejileri sınırlıdır (7). Metilprednizolon spinal kord yaralanmasında kullanılan bir ilaçtır. Fakat mide kanaması, sepsis, pnömoni, akut miyopati ve enfeksiyon gibi ciddi yan etkilere sahiptir (8-10). Bu nedenle yeni tedavi uygulamaları bulma çalışmaları devam etmektedir (7). Seçici olmayan beta-adrenerjik ve α 1-reseptör antagonisti karvedilol yaygın olarak hipertansiyon ve kronik kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, anti-inflamatuar özellikleri ve güçlendirici antioksidan özellikleri ile nöroprotektif ajan davranışı ortaya konulmuştur (11-14). Karvedilolun beyin iskemisinde nöroprotektif etki oluşturmasından dolayı spinal kord hasarlarındaki etkisi, yükseklik düşürülerek oluşturulan travma modelinde araştırılmıştır (15). Bu çalışmanın amacı, karvedilolun spinal kord iskemisi reperfüzyon yaralanmasında koruyucu etkisinin metilprednizolon etkinliği ile karşılaştırmalı olarak fonksiyonel, biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi ve tedavi edici bir ajan olarak yarar derecesinin ortaya konulmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Hayvanlar

Bu çalışmada ağırlıkları 220 gr ile 280 gram arasında değişen 32 (otuz iki) adet sağlıklı Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanılmış olup, çalışma için Karadeniz Teknik Üniversitesi (K.T.Ü.) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alındı. Sıçanlar deney süresince K.T.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde 20-22°C sıcaklık, 12 saat gündüz/gece (aydınlık/karanlık) ışık döngüsünde ayrı kafeslerde muhafaza edildi ve

standart hayvan yemi ve suyla beslendi.

Deney hayvanları, her biri 8 hayvandan oluşan rastgele seçilmiş dört gruba ayrıldı. I. grup kontrol grubu, II. grup iskemi grubu, III. grup karvedilol grubu ve IV. grup metilprednizolon grubu olarak tanımlandı.

Spinal Kord İskemi Reperfüzyonunun Oluşturulması

Sıçanlar işlem öncesi 12 saat önce aç bırakıldı ve sadece su verildi. Deneklere intraperitoneal yoldan preanestezik ajan olarak 10 mg/kg Ksilazin (Rompun, Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Sirketi, İstanbul, Türkiye) ve yine intraperitoneal yoldan 50 mg/kg dozunda ketamine HCl (Ketalar, Pfizer İlaçları Limited Şirketi, İstanbul, Türkiye) verilerek anestezi sağlandı. Cerrahi saha povidon iyot ile boyandı ve deneklerin karın ön duvarına orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanların batın içi organları sağa devrili olarak abdominal aorta bulundu, anevrizma klibi ve herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. İskemi grubundaki sıçanlara laparotomi yapıldı. Batın içi organlar sağa devrili olarak abdominal aorta bulundu ve düz, geçici Yaşargil anevrizma klibi ile 45 dakika boyunca komprese edildi. 45 dakika sonunda klip çıkartılarak katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. Karvedilol grubundaki sıçanlara laparotomi yapıldı. Batın içi organlar sağa devrili olarak abdominal aorta bulundu ve düz, geçici Yaşargil anevrizma klibi ile 45 dakika boyunca komprese edildi. 45 dakika sonunda klip çıkartıldı ve periton kapatılmadan hemen önce 0.5 mg/kg dozunda karvedilol intraperitoneal olarak uygulandı ve katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. Metilprednizolon grubundaki sıçanlara laparotomi yapıldı. Batın içi organlar sağa devrili olarak abdominal aorta bulundu ve düz, geçici Yaşargil anevrizma klibi ile 45 dakika boyunca komprese edildi. 45 dakika sonunda klip çıkartıldı ve periton kapatılmadan hemen önce 30 mg/kg dozunda metilprednizolon intraperitoneal olarak uygulandı ve katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. Postoperatif antibiyotik kullanılmadı. Metilprednizolon grubundaki iki sıçan 24 saat içinde öldüğünden deneyden çıkartıldı.

Motor muayeneleri yapıldıktan sonra tüm gruplar kansızlaştırma yoluyla sakrifiye edildi. T8-T12 arası spinal kordlar çıkartıldı ve alınan örnekler ikiye ayrıldı.

Her bir deneğe ait etiketlenmiş spinal kordların yarısı etüvler içerisinde K.T.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılacak olan biyokimyasal analiz için -76 C° saklandı, diğer yarısı histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehit çözeltisi içeren numaralandırılmış cam kavanozlar içinde K.T.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

Motor Muayenenin Değerlendirilmesi

Motor yanıtlar değerlendirilmesi işlem öncesi, işlem sonrası 1. saatte ve 24. saatte Tarlov skalasına (16) göre motor muayenenin gözlenerek kaydedilmesiyle yapıldı. Motor yanıtlar, 0, Tam plejik; 1, Eklemlerde minimal hareket mevcut; 2, Arka bacaklarını iyi oynatıyor fakat ayağa kalkamıyor; 3, Ayağa kalkabiliyor fakat normal olarak yürüyemiyor; 4, Normal olarak yürüyebiliyor, şeklinde kabul edildi.

Dokularda MDA Tayini

Malondialdehit (MDA) seviyesi, Uchiyama ve Mihara yöntemi (17) ile yapıldı. Bu metodun esası, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorpsiyonunun ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Elde edilen standart absorpsiyon sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MDA standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanılarak doku MDA miktarı nmol MDA/gram ıslak doku olarak hesaplandı.

Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu altında yapıldı. Yaklaşık 5 mm kalınlığındaki spinal kord parçalarından örnekler hazırlandı, alkol, ksilol ve formol solüsyonlarından geçirildi ve parafin bloklara gömüldü. Ardından doku örnekleri mikrotom yardımı ile 5 mikrometre kalınlığında kesilerek etüvde 60°C altında 3 defa ksilen yardımıyla deparafinizasyon işlemi uygulandı. Rehidratasyonu alkol yardımı ile yapılan örnekler su ile yıkandı. Takiben hemotoksilen-eozin (HE) boyası ile boyandı ve ışık mikroskobunda değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede; ödem, aksonal dejenerasyon, miyelin hasarı, inflamatuvar yanıt dikkate alındı. Mikro fotoğraflar Olympus BX51 mikroskobu ile 40'luk büyütmede (x400) çekildi.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirilme SPSS 23.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uygunluk için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan parametrelerde gruplar arası karşılaştırma için One-Way ANOVA testi, normal dağılıma uymayan parametrelerde Kruskal-Wallis testi uygulandı. One-Way ANOVA testi anlamlı çıktığında, gruplar arası karşılaştırmalarda gruplar homojen ise Tukey, homojen değilse Tamhane's testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Tarlov motor muayene sonuçlarının öncesi ve sonrasının karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon testi $p < 0.016$ anlamlılık seviyesi ile kullanıldı.

BULGULAR

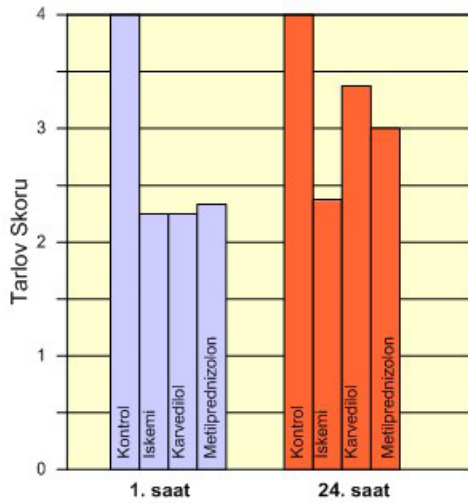
Motor Muayenenin Değerlendirilmesi

Sıçanlar, normal değerlerinin sonuçlarının tespiti için deneyden önce Tarlov skalasına göre değerlendirildi. Bütün sıçanların deneye başlamadan önceki Tarlov motor skoru 4 olarak bulundu. Motor yanıtlar işlem sonrası 1. saatte ve 24. saatte Tarlov skalasına göre tekrar değerlendirildi ve sonuçlar Şekil 1'de grafiksel olarak verildi. İskemi grubu ile karşılaştırıldığında karvedilol ve metilprednizolon gruplarında fonksiyonel iyileşmenin özellikle 24. saatte daha iyi olduğu görüldü (Şekil 1). Grupların 0-1, 0-24 ve 1-24 saat Tarlov skorlarının istatistiksel karşılaştırılması Tablo 1'de verildi. Kontrol ve metilprednizolon gruplarının 0-1 saat, 1-24 saat arasında yapılan muayenelerinin karşılaştırılmasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo 1). İskemi grubunda 0-1, 0-24 saatlerdeki Tarlov skalası karşılaştırıldığında ilk muayeneye göre istatistiksel olarak anlamlı hasar tespit edildi. 1-24. saatlerdeki muayeneler arasında istatistiksel açıdan fark yoktu yani anlamlı bir düzelme saptanmadı. Ancak, karvedilol grubunda özellikle 1. saatteki motor muayene ile karşılaştırıldığında 24. saatteki Tarlov motor skorunda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.016$) bir düzelme mevcuttu.

Tablo 1. Çalışma gruplarında Tarlov motor muayene skorlarının istatistiksel karşılaştırılması

	0-1 saat sonuçlarının	0-24 saat sonuçlarının karşılaştırılması	1-24 saat sonuçlarının karşılaştırılması
Kontrol (n=8)	1.000	1.000	1.000
İskemi (n=8)	0.008*	0.009*	0.317
Karvedilol (n=8)	0.008*	0.025	0.014*
Metilprednizolon (n=6)	0.023	0.063	0.102

Hesaplamalar "Bonferroni düzeltilmeli Wilcoxon testi"ne göre verilmiştir, *p<0.016.



Şekil 1. Tüm grupların 1. ve 24. saatte ortalama Tarlov skorları grafiği

Histopatolojik Bulgular

Her bir grubun HE ile boyanan kesitleri karşılaştırıldı. Buna göre, kontrol grubundan elde edilen transvers

kesitlerin ışık mikroskop incelemesinde normal omurilik yapısı ile uyumlu bulgular izlendi (Şekil 2a). İskemi grubunda piknotik nükleus, nükleol kaybı, nöronal nekroz ve kromatin kümelenmesi ile karakterize iskemik hasar bulgusu tespit edildi (Şekil 2b). Karvedilol uygulanan grupta geri dönüşümlü hücre zedelenmesi olan kromatin kümelenmesi, seyrek nöronal nekroz bulguları saptandı (Şekil 2c). Metilprednizolon grubunda ise karvedilol grubuyla karşılaştırıldığında aynı morfolojik değişiklikler belirlendi. Farklı olarak daha az nöronal nekroz ve piknotik nöronlar izlendi (Şekil 2d).

Doku MDA değerleri

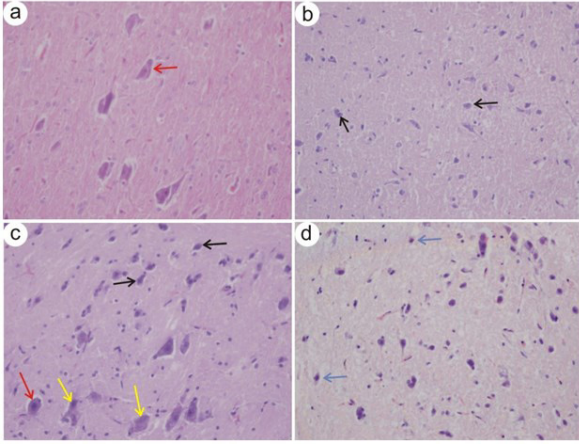
Deney gruplarındaki MDA değerleri Tablo 2’de ortalama ve standart sapma olarak verildi. Kontrol grubunda bulunan MDA ortalaması 304.3±77.3, iskemi grubunda MDA ortalaması 465.0±131.8, karvedilol grubunda MDA ortalaması 388.9±72.3, metilprednizolon grubunda MDA ortalaması 325.2±46.3 nmol/g ıslak doku olarak saptandı.

Yapılan istatistiksel karşılaştırmada gruplar arasında MDA ortalamaları yönünden p<0.05 düzeyinde anlamlı bir fark saptandı (Tablo 3). Spinal doku MDA düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubu ile iskemi grubu arasında anlamlı bir fark tespit edildi (p=0.007). Karvedilol grubu ile kontrol, iskemi ve metilprednizolon grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla p=0.262, p=0.348, p=0.567). Metilprednizolon grubu ile iskemi grubu arasında ise MDA düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi (p=0.038; Tablo 3).

Tablo 2. Deneklerde çalışılan gruplara göre MDA ortalamaları (nmol/g ıslak doku). n, denek sayısı

Parametre	Kontrol n=8	İskemi n=8	Karvedilol n=8	Metilprednizolon n=6	p
MDA (nmol/g ıslak doku)	304.3±77.3	465.0±131.8a	388.9±72.3	325.3±46.4b	0.0001

p, "One-Way ANOVA testi"ne göre verilmiştir. Grup içerisindeki posthoc değerlendirmeler "Tukey" ve "Tamhane's" testleri ile yapılmıştır.
aKontrol grubu ile karşılaştırıldığında p<0.01
bİskemi grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05



Şekil 2. a) Kontrol, b) İskemi, c) Kalvedilol ve d) Metilprednizolon gruplarında normal hücre (kırmızı ok), kromatin kümelenmesi (sarı ok), nöronal nekroz (siyah ok) ve piknotik nöronların (mavi ok) histopatolojik bulgularını gösteren mikro fotoğraflar (HEEx400).

Tablo 3. Çalışma gruplarının MDA ortalamalarının istatistiksel karşılaştırılması.

Karşılaştırılan Grup		p değeri
Kontrol Grubu	İskemi Grubu	0.007*
Kontrol Grubu	Karvedilol Grubu	0.262
Kontrol Grubu	Metilprednizolon Grubu	0.973
İskemi Grubu	Karvedilol Grubu	0.348
İskemi Grubu	Metilprednizolon Grubu	0.038*
Karvedilol Grubu	Metilprednizolon Grubu	0.567

*p<0.05

TARTIŞMA

Spinal kord yaralanması karşılaşma sıklığı, fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan büyük hasara neden olması, etkin ve herkes tarafından kabul edilen bir tedavi yönteminin belirlenmemiş olması nedenlerinden dolayı araştırma konusudur. Spinal kord yaralanmasında primer ve sekonder yaralanma mekanizmaları devreye girerek değişken derecelerde motor ve duyuşsal kayıplara neden olur ve bireyin yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltır (1, 2). Primer yaralanma irreversibl bir hasara neden olur. Sekonder yaralanma ise oluşan primer yaralanmanın ardından gelişen, metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasardır (24). Spinal kordun iskemik reperfüzyon hasarı da genellikle torasik ve torako-abdominal aorta

üzerinde yapılan operasyonlardan sonra gelişen akut bir durumdur (25). İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası gelişen nörolojik kaybın patojenezi temelde oksidatif stres ve enerji yetmezliğidir (26, 27). Serbest radikaller ve lipid peroksidi kapsayan reaktif oksijen türevlerinin büyük miktarlarda üretilmesiyle birlikte oksidatif stress nörolojik vasküler yaralanmalarda yer alır (28). Lipidler oksidatif hasara karşı korunmasız oldukları için sinir sistemi lipid peroksidasyonuna karşı duyarlıdır (29).

Travmatik spinal kord yaralanmasının primer etkilerini takiben meydana gelen ikincil hasarları iyileştirmede kullanılan yöntemler oldukça sınırlıdır (7). Geçtiğimiz yıllarda yapılan araştırmalar, spinal kordu iskemik-reperfüzyon hasarından koruyacak veya bu hasarı azaltacak antioksidan özelliklere sahip sayısız diyet ve botanik doğal bileşiklere odaklanmıştır (30). Metilprednizolonun spinal kord yaralanmasında serbest radikal moleküllerini azaltıcı, anti lipid peroksidasyon ve nöroprotektif etkilerinden dolayı yararlı olduğu gösterilmiştir (18). Üçüncü jenerasyon, seçici olmayan $\beta 1$ ve $\beta 2$ ve seçici $\alpha 1$ -blokeri karvedilol güçlü antioksidan potansiyeline sahiptir ve hipertansiyon, anjin ve kronik kalp yetmezliğinde kullanılmaktadır (11). Karvedilolun NMDA reseptör antagonisti olduğu, Ca^{++} kanal inhibisyonu yaptığı da bilinmektedir ve nöroprotektif etkisi hayvan modellerinde incelenmiştir (15, 19-22). Karvedilolun spinal kord yaralanmasındaki nöroprotektif etkilerinin araştırıldığı çalışma sayısı ise oldukça azdır (7, 15, 31). Bu çalışmalarda spinal kord yaralanmaları yüksekte ağırlık düşürme yöntemi ile sağlanmış (7, 15) veya in-vitro modelde hasarlı spinal kord kullanılmıştır (31). Bizim çalışmamızda ise spinal kord yaralanması geçici Yaşargil anevrizma klibi kullanılarak iskemik reperfüzyon modeli üzerinde gerçekleştirildi ve karvedilolun nörolojik fonksiyonları iyileştirmekteki etkileri metilprednizolon ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

Spinal kord yaralanmasından sonra fonksiyonel iyileşmeyi ortaya koymak için davranışsal bir test olan Tarlov motor muayenesi kullanıldı. Karataş ve ark. spinal kord hasarını takiben özellikle 24. saat sonrasında karvedilolun fonksiyonel iyileşme oranını istatistiksel olarak artırdığını ortaya koydu. Bizim sonuçlarımıza göre de spinal kord hasarı sonrası

iyileşmede karvedilolun özellikle 24. saati takiben sağladığı fonksiyonel iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı yararı olduğu ortaya kondu.

Reaktif oksijen türevleri spinal kord hasarı sonrasında nöronal hasar, DNA hasarı ve nöronal apoptosise neden olur. Oluşan hasarın giderilmesi ve etkilerinin tersine çevirilmesinde antioksidan ajanlar kullanılmaktadır (15). Travmatik spinal kord modellerinde karvedilolun nöroprotektif etkilerinin araştırılmasında ışık mikroskobu çalışmaları karvedilolun apoptosise ve nöronal kaybı azalttığını göstermiştir (7, 15). Bizim çalışmamızda da doku örneklerinin ışık mikroskobunda yapılan histopatolojik değerlendirilmesinde iskemi grubunda piknotik nükleus, nükleol kaybı, nöronal nekroz ve kromatin kümelenmesi ile karakterize iskemik hasar bulgusu elde edildi. Karvedilol grubunun histopatolojik bulguları iskemi grubuna göre öncel çalışmalarla uyumlu olarak daha iyi sonuçlar sergiledi. Ancak, metilprednizolon grubu ile karvedilol grubunun karşılaştırılmasında metilprednizolon grubunda daha az nöronal nekroz saptandı. Bu veri spinal kordda histopatolojik olarak karvedilolun oksidatif hasarı önlemede işe yaradığına, ancak metilprednizolon kadar etkin olmadığına işaret etmektedir.

Oksidatif stress protein, lipidler ve DNA gibi hücrenel bileşenleri hasara uğrattır (15, 31). MDA seviyeleri lipid peroksidasyon için en önemli gösterge olarak kabul edilmektedir (7, 23). Bu çalışmada spinal doku MDA düzeyleri kullanılarak lipid peroksidasyon oranları saptanmış ve gruplar arasındaki değişimler istatistiksel olarak ifade edilmiştir. Öncel çalışmalarla uyumlu olarak (7, 32, 33) bu çalışmada da spinal kord hasarına uğratılmış sıçanların MDA seviyelerinde artış tespit edildi. MDA düzeyleri açısından kontrol-iskemi ve iskemi-metilprednizolon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. Karvedilol ve metilprednizolon uygulanan gruplardan elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. Elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında; spinal kord iskemi reperfüzyonunda lipid peroksidasyonu azaltmada karvedilolun etkin olduğu ve metilprednizolondan daha yüksek MDA değerleri sunmasına karşın bu farkın istatistiksel olarak anlamlı kabul edilemeyeceği belirlendi.

Sonuç olarak, karvedilolun spinal kord iskemi-reperfüzyon yaralanmasından sonra nöroprotektif etkileri motor muayene, histopatoloji ve biyokimyasal verilerle ortaya konuldu ve metilprednizolona bir alternatif olarak kullanılabilmesi işaret edildi. Yapılan çalışma 24 saatle sınırlı tutuldu ve karvedilol sadece ilk gün, tek dozda 0.5 mg/kg olarak verildi. Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda bekleme süresinin daha uzun tutulması ve karvedilolun tekrarlayan farklı dozlarda verilmesi çalışmadan elde edilecek sonuçların geliştirilmesi ve istatistiksel olarak daha anlamlı olarak değerlendirilmesi açılarından düşünülmelidir. Ayrıca, özellikle hipertansiyon ve kronik kalp yetmezliği olan spinal kord yaralanmalı hastalarda karvedilol hem tansiyonu kontrol altına almak hem de nöroprotektif amaçla kullanılabilmesi göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kraus JF, Franti CE, Riggins RS, Richards D, Borhani NO. Incidence of traumatic spinal cord lesions. *J Chronic Dis.* 1975;28(9):471-92.
2. Budh CN, Osteråker AL. Life satisfaction in individuals with a spinal cord injury and pain. *Clin Rehabil.* 2007;21(1):89-96.
3. Norrbrink Budh C, Hultling C, Lundberg T. Quality of sleep in individuals with spinal cord injury: a comparison between patients with and without pain. *Spinal Cord* 2005;45:85-95.
4. Dijkers M. Comparing quantification of pain severity by verbal rating and numeric rating scales. *J Spinal Cord Med* 2010;33:232-42.
5. Ravenscroft AJ. Chronic pain after spinal cord injury: a survey of practice in spinal injury units in the USA. *Spinal Cord* 2000;38:658-60.
6. Rekan T, Hagen EM, Gronning M. Chronic pain following spinal cord injury. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2012;132:974-9.
7. Liu D, Huang Y, Li B, Jia C, Liang F, Fu Q. Carvedilol promotes neurological function, reduces bone loss and attenuates cell damage after acute spinal cord injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2015;42(2):202-12.
8. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon J, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med.* 1990;322(20):1405-11.
9. Gerndt SJ, Rodriguez JL, Pawlik JW, Taheri PA, Wahl WL, Micheals AJ, Papadopoulos SM. Consequences of high-dose steroid therapy for acute spinal cord injury. *J Trauma.* 1997;42(2):279-84.
10. Qian T, Guo X, Levi AD, Vanni S, Shebert RT, Sipski ML. High-dose methylprednisolone may cause myopathy in acute spinal cord injury patients. *Spinal Cord.* 2005;43(4):199-203.
11. Yue TL, Lysko PG, Barone FC, Gu JL, Ruffolo RR Jr, Feuerstein GZ. Carvedilol, a new antihypertensive drug with unique antioxidant activity: potential role in cerebroprotection. *Ann N Y Acad Sci.*

- 1994;738:230-42.
12. Kim YH, Park SM, Kim M, Kim SH, Lim SY, Ahn JC, Song WH, Shim WJ. Cardioprotective effects of rosuvastatin and carvedilol on delayed cardiotoxicity of doxorubicin in rats. *Toxicol Mech Methods*. 2012;22(6):488-98.
13. Kumar A, Dogra S. Neuroprotective effect of carvedilol, an adrenergic antagonist against colchicine induced cognitive impairment and oxidative damage in rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009;92(1):25-31.
14. Li B, Liao YH, Cheng X, Ge H, Guo H, Wang M. Effects of carvedilol on cardiac cytokines expression and remodeling in rat with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2006;111(2):247-55.
15. Karataş Y, Cengiz ŞL, Esen H, Tokar A, Savaş Ç: Effect of carvedilol on secondary damage in experimental spinal cord injury in rats. *Turk Neurosurg*, 25(6):930-35, 2015.
16. Tarlov IM, Klingler H: Spinal cord compression studies. *AMA Arch Neurol Psychiatry* 71:271-290, 1954.
17. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86:271-278.
18. Topsakal C, Erol FS, Ozveren MF, Yilmaz N, Ilhan N. Effects of methylprednisolone and dextromethorphan on lipid peroxidation in an experimental model of spinal cord injury. *Neurosurg Rev*. 2002;25(4):258-66.
19. Lysko PG, Lysko KA, Yue TL, Webb CL, Gu JL, Feuerstein G. Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. *Stroke*. 1992;23(11):1630-5; discussion 1635-6.
20. Savitz SI, Erhardt JA, Anthony JV, Gupta G, Li X, Barone FC, Rosenbaum DM. The novel beta-blocker, carvedilol, provides neuroprotection in transient focal stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000;20(8):1197-204.
21. Abreu RM, Santos DJ, Moreno AJ. Effects of carvedilol and its analog BM-910228 on mitochondrial function and oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000;295(3):1022-30.
22. Yaoita H, Sakabe A, Maehara K, Maruyama Y. Different effects of carvedilol, metoprolol, and propranolol on left ventricular remodeling after coronary stenosis or after permanent coronary occlusion in rats. *Circulation*. 2002;105(8):975-80.
23. Bao F, Chen Y, Dekaban GA, Weaver LC. Early anti-inflammatory treatment reduces lipid peroxidation and protein nitration after spinal cord injury in rats. *J Neurochem*. 2004;88(6):1335-44.
24. İplikçioğlu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. In Zileli M., Özer AF, eds. *Omurilik Omurga Cerrahisi*. 1. Baskı, İzmir, Saray Medikal Yayıncılık, 2002. s. 459-465.
25. Kanellopoulos GK, Kato H, Hsu CY, Kouchoukos NT. Spinal cord ischemic injury. Development of a new model in the rat. *Stroke*. 1997;28(12):2532-8.
26. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol*. 1992;32(3):297-311.
27. Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*. 1988;1(8):623-34.
28. Xing B, Chen H, Zhang M, Zhao D, Jiang R, Liu X, Zhang S. Ischemic post-conditioning protects brain and reduces inflammation in a rat model of focal cerebral ischemia/reperfusion. *J Neurochem*. 2008;105(5):1737-45.
29. Slemmer JE, Shacka JJ, Sweeney MI, Weber JT. Antioxidants and free radical scavengers for the treatment of stroke, traumatic brain injury and aging. *Curr Med Chem*. 2008;15(4):404-14.
30. Fu S, Lv R, Wang L, Hou H, Liu H, Shao S. Resveratrol, an antioxidant, protects spinal cord injury in rats by suppressing MAPK pathway. *Saudi J Biol Sci*. 2018;259-266.
31. Chen M, Chen S, Lin D. Carvedilol protects bone marrow stem cells against hydrogen peroxide-induced cell death via PI3K-AKT pathway. *Biomed Pharmacother*. 2016;78:257-263.
32. Jiang SH, Tu WZ, Zou EM, Hu J, Wang S, Li JR, Wang WS, He R, Cheng RD, Liao WJ. Neuroprotective effects of different modalities of acupuncture on traumatic spinal cord injury in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014:431580.
33. Yin X, Yin Y, Cao FL, Chen YF, Peng Y, Hou WG, Sun SK, Luo ZJ. Tanshinone IIA attenuates the inflammatory response and apoptosis after traumatic injury of the spinal cord in adult rats. *PLoS One*. 2012;7(6):e38381