

Deneyisel İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Pentoksifillinin Rolü

A. Kürşat Bozkurt

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada sıçan alt ekstremité modelinde pentoksifillinin iskemi/reperfüzyon hasarını önlemede rolü araştırılmıştır. Dört saat iliyak arter klampajı ve 1 saat reperfüzyon uygulanan sıçanların kontrol grubuna (n=6) hiçbir ilaç uygulanmamış, çalışma grubuna klampajla birlikte 0.1 mg/kg/dk pentoksifillin başlanarak reperfüzyonun sonuna dek sürdürülmüştür. Reperfüzyon sonunda kanda pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, Na, K, CPK, LDH, malondialdehit; kas ve akciğer dokularında malondialdehit ölçümleri yapılmıştır. Pentoksifillin grubunda lipid peroksidasyon düzeyini yansıtan kan, kas ve akciğer dokuları malondialdehit değerleri anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0.05). Çalışma sonucunda pentoksifillinin iskemi/reperfüzyon hasarını belirgin olarak azalttığı gösterilmiş olup klinik olarak akut arter tıkanıklığında kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: İskemi/reperfüzyon hasarı, pentoksifillin, malondialdehit

SUMMARY

THE ROLE OF PENTOXIFYLLINE IN THE PROTECTION OF ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY

The role of pentoxifylline on ischemia/reperfusion injury was investigated in a rat hindlimb model. Four hours of ischemia followed by 1-h reperfusion were performed on 12 rats randomized into two equal groups, one served as control and the other was treated with pentoxifylline. Blood pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, Na, K, CPK, LDH, malondialdehyde levels; and muscle and lung tissue malondialdehyde values were determined. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, were found significantly low in blood, muscle and lung on pentoxifylline treated rats (p<0.05). These results suggest that pentoxifylline improves ischemia/reperfusion injury and may be used clinically in acute arterial occlusion.

Key Words: Ischemia/reperfusion injury, pentoxifylline, malondialdehyde

İskemi-reperfüzyon (İ/R) sendromunun yol açtığı lokal ve sistemik doku hasarı vasküler cerrahide önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Uzun yıllardır akut ekstremité iskemisi sonrası oluşan myonefropatik-metabolik sendrom ölümcül bir neden olarak bilinmektedir. Son yıllarda reperfüzyon sırasında ortaya çıkan toksik reaktif oksijen metabolitlerinin doku hasarını daha da arttırdığı gösterilmiş olup, bu hasarın en aza indirgenmesi için çeşitli ilaç ve yöntemler denenmektedir (1, 2, 3). Bu çalışmada pentoksifillinin reperfüzyon hasarını önleyici etkileri, oluşturulan alt ekstremité deneyisel İ/R modelinde araştırılmıştır.

MATERYEL ve METOD

Çalışmada ağırlıkları 300-400 gram arasında

değişen Wistar-Albino türü iki grupta 12 sıçan kullanıldı. Öncelikle inhalasyon yoluyla eter koklatıldı. Ardından anestezinin devamı için intraperitoneal yolla ketamin hidroklorid (Ketalar, Parke-Dawis 50 mg/ml flakon) 50 mg/kg dozunda uygulandı. Abdomen temizliğini takiben göbek üst ve altı median insizyon ile batına girildi. Bağırsaklar deviyeye edildikten sonra iliyak arterler hazırlandı. 2/0 poliglaktin ile dönülerek kontrol altına alındı. Karşı iliyak vene kan örneği almak ve infüzyon uygulamak için no 24 kanül konuldu.

Mikrovasküler klamp ile iliyak arter klampe edildi. Dört saatlik iskemi sonunda mikrovasküler klamp kaldırıldı ve 1 saat reperfüzyon yapıldı. İliyak arter klampajı ile birlikte kontrol gru-

buna (n=6) hiçbir ilaç verilmezken, pentoksifillin grubuna (n=6) 0.1 mg/kg/dk pentoksifillin infüzyonu başlandı ve reperfüzyon sonuna kadar devam edildi. Her iki grupta da reperfüzyon sonunda arteriyel kan örneği alınarak pH, pO₂ (mmHg), pCO₂ (mmHg), HCO₃ (mmol/L), Na (mmol/L), K (mmol/L), kreatin fosfokinaz (CPK, IU/L), laktik dehidrogenaz (LDH, IU/L) ve malondialdehid (MDA, nmol/ml) bakıldı. Reperfüzyon sonrası sakrifiye edilen sıçanlardan kas ve akciğer örneği alınarak doku MDA düzeyi (nmol/g ıslak ağırlık) ölçümü yapıldı. Kan pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, Na ve K ölçümleri Ciba Corning 860 kan gazı analiz cihazı ile, CPK ve LDH ise Hitachi sistem 717 otomatik analizör ile yapıldı. MDA incelemeleri tiobarbitürik asit testi kullanılarak spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi.

Verilerin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. İki ayrı gruptan elde edilen veriler eşleştirilmemiş student t testi kullanılarak karşılaştırıldı. p<0.05 anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Tablo 1'de kan pH, PO₂, pCO₂, HCO₃, Na ve K ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmaları gösterilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Tablo 2'de kan CPK, LDH, MDA değerleri ile birlikte kas ve akciğer dokusu MDA ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmaları belirtilmiştir. CPK değerleri kontrol grubundan yüksek bulunmuş, ancak fark statiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.102). Benzer şekilde kan LDH değeri rakamsal olarak kontrol grubunda yüksek olmasına karşın fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır (p=0.243). Buna karşın pentoksifillin grubunda MDA düzeyleri kan, kas ve akciğerde belirgin olarak düşük bulunmuştur (p<0.05).

TARTIŞMA

İskemi sırasında hipoksi nedeniyle serbest oksijen radikallerinin oluştuğu bilinmektedir (2). Serbest radikaller ya direkt olarak, ya da hücrede bulunan antioksidan sistemleri yetersiz

hale getirerek geri dönüşsüz hasar meydana getirebilmektedir (1). Ancak pek çok çalışma sonucunda hasarın yalnız iskemide değil reperfüzyon döneminde de artarak süregeldiği gösterilmiştir (2, 3). Hücre zarı yüksek oranda doymamış yağ asidi içerdiğinden bu reaksiyonlara çok duyarlıdır ve hızla lipoperoksidasyon başlar. Malondialdehit lipoperoksidasyonun bir ürünüdür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede uygun bir değer olduğu bildirilmektedir (4). Serbest oksijen radikallerinin ateroskleroz, kanser ve inflamatuvar hastalıklar gibi birçok hastalıkta rolünün olduğu bilinmesine karşın İ/R sendromu oksidatif hasarın en yoğun araştırıldığı alandır. Klinik uygulamada şok, akut arter tıkanıklıkları, damar yaralanmaları, kalp operasyonları sırasında aortun klampe edilmesi ve organ transplantasyonları İ/R sendromunun en sık görüldüğü alanlardır (5). Hasarın boyutu iske-minin süresi, derecesi ve hedef organ ile ilgilidir (6). Yokota ve arkadaşları 90 dakika kısmi iskemi ve 60 dakika reperfüzyon ile sıçan çizgili kaslarında hasar oluştuğunu göstermişler ve bu hasarın serbest radikal tutucuları ile azaltılabildiğini kanıtlamışlardır (7).

Pentoksifillin bir metil ksantin türevi olup (1-(5-oxohexyl)-3,7-dimethylxanthine) uzun yıllardır periferik aterosklerotik damar hastalıkları ve venöz sistem hastalıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Farmakolojik etkisi fosfodiesteraz inhibisyonu ve dolayısıyla cAMP artışı yoluyla oluşmaktadır (8). Değişik çalışmalarda pentoksifillin uygulaması sonrasında trombosit agregasyonunda azalma, trombüs oluşumunda azalma, prostosiklin ve doku plazminojen aktivatörü salınmasında artma ve tromboksan A2 sentezinde azalma bildirilmiştir (9, 10). Pentoksifillinin ayrıca nötrofil aktivasyonu ve superoksit radikallerinin artışına yol açan enflamatuvar mediatör salınmasını azalttığı gösterilmiştir (11, 12). Ayrıca Wang ve arkadaşları pentoksifillinin TNF ve IL-6 düzeylerini düşürdüğünü göstermişlerdir (13). Vazodilatatör etkisi tartışmalı olmakla birlikte (14), cAMP artışı endotel hücrelerinden daha çok prostosiklin ve/veya nitrik ok-

Tablo 1. Kan pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, Na ve K değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları

	pH	pO ₂	pCO ₂	HCO ₃	Na	K
Kontrol	7.18±0.06	107.9±38.3	51.6±13.6	18.8±2.9	154.9±3.8	2.8±0.6
Pentoksifillin	7.25±0.13	109.6±42.9	44.8±14.9	16.9±3.8	158.7±9.5	3.7±1.1
P değeri	0.260	0.945	0.430	0.363	0.375	0.099

Tablo 2. Kan CPK, LDH, MDA değerleri, kas ve akciğer dokusu MDA ölçümleri.

	CPK	LDH	MDA (kan)	MDA (kas)	MDA (akciğer)
Kontrol	1439.3±624.7	771±542.1	21.6±5	303.7±40.5	275.4±44.8
Pentoksifillin	871±453.8	471.2±236.2	13.4±6.3	164.2±16.9	176.8±15.1
P değeri	0.102	0.243	0.043*	0.000*	0.000*

*p<0.05

sit üretilmesine ve vazodilatasyona yol açabilir (15).

Çizgili kasta oluşan İ/R hasarı morfolojik, fonksiyonel (kas kasılması) veya biyokimyasal yolla değerlendirilebilir. Pentoksifillinin İ/R hasarı üzerine etkisini gösteren çok az çalışma bildirilmiştir (16, 17, 18). Skjeldal ve arkadaşları olaya morfolojik olarak yaklaşmışlar ve sıçan bacak iskemisi modelinde histopatolojik inceleme ile pentoksifillinin kısmen de olsa yararlı etkisini göstermişlerdir (16). Kishi ve arkadaşları 90 dakika infrarenal aort klampajı ve 60 dakika reperfüzyon sonrası istirahat transmembran potansiyel farkını (Em) ölçmüşler ve intravital mikroskopi ile postkapiller venüllerin mikrosirkülasyonunu değerlendirmişlerdir (17). Transmembran potansiyel farkında düzelme, lökosit adezyonunda azalma ve bacakta kan akımı artışı gözlemlenmiştir. Pentoksifillinin lökosit adezyonunu azaltarak reperfüzyonun oluşturduğu membran hasarı ve doku ödemi azalttığını ve bacak kan akımını artırdığını savunmuşlardır. Silver ve arkadaşları ise reperfüzyondan hemen önce uygulanan 25 mg/kg pentoksifillinin trombosit aktive edici faktör (PAF) düzeyini düşürdüğünü ve kas nekrozunu azalttığını bildirmişlerdir (18).

Bu çalışmada pentoksifillinin İ/R hasarında rolünü irdelemek amacıyla değişik bir yaklaşımla kan, kas ve akciğer dokularında MDA ölçümü temel alınmıştır. MDA düzeyinin oksidatif hasar düzeyini göstermede güvenilirliği uzun yıllardır bilinmektedir (4). Çalışmada ayrıca hasarın belirlenmesinde diğer yardımcı incelemeler olarak kan CPK, LDH, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, Na ve K ölçümleri yapılmıştır. Gruplar arasında kan MDA düzeylerinde anlamlı fark bulunmuştur (p<0.05). CPK ve LDH düzeyleri kontrol grubunda rakamsal olarak yüksek olmasına karşın statiksel olarak fark anlamlı değildir. Diğer biyokimyasal kan incelemelerinde bir fark gösterilememiştir. Buna karşın pentoksifillin grubunda kas ve akciğer doku MDA düzey-

leri kontrol grubuna göre ileri derecede düşük bulunmuştur (p<0.05).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar pentoksifillin İ/R sendromunda yararlı etkilerini ortaya koymuştur ve farklı parametreler kullanılarak yapılmış olan diğer çalışmaları destekler niteliktedir. İlacın akut ekstremitte iskemisi sırasında, ve/veya sonrasında klinik kullanımı ile ilgili bir çalışma bulunamamıştır. Ancak Hoffman ve arkadaşları kalp cerrahisi yapılan hastalarda pentoksifillin uygulaması ardından multiorgan yetersizliğinin azaldığı göstermişlerdir (19). Rutin uygulamada kullanılmakta bu ilacın akut arter tıkanıklarında rolü kliniğimizde başlatılan prospektif randomize bir araştırmada incelenmektedir.

KAYNAKLAR

- McCord JM: The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108: 652-659, 2000.
- Halliwell B, Chirico S: Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 57(Suppl):715S-725S, 1993.
- Yalçın AS: Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. *Aktüel Tıp Dergisi* 5(7): 1-7, 2000.
- Ji LL: Exercise, oxidative stress, and antioxidants. *Am Sports Med* 24(6):20-26, 1996.
- Aksoy BS, Aktan AÖ: İskemi reperfüzyon hasarında serbest radikallerin rolü. *Aktüel Tıp Dergisi* 5(7): 50-53, 2000.
- Oredsson S, Arlock P, Plate G, Qvarfordt P: Metabolic and electrophysiological changes in rabbit skeletal muscle during ischaemia and reperfusion. *Eur J Surg* 159: 3-8, 1993.
- Yokota J, Minei JP, Fantini GA, Shires GT: Role of leukocytes in reperfusion injury of skeletal muscle after partial ischemia. *Am J Physiol* 257: H1068-H1075, 1989.
- Porter JM, Cutler BS, Lee BY, Reich T, Reichle FA, Scogin JT, Strandness DE: Pentoxifylline efficacy in the treatment of intermittent claudication: Multicenter controlled double-blind trial with objective assessment of chronic occlusive arterial disease patients. *Am Heart J* 104: 66-72, 1982.
- Mollitt DL, Poulos ND: The role of pentoxifylline in endotoxin-induced alterations of red blood cell

- deformability and whole blood viscosity in the neonate. *J Pediatr Surg* 26: 572-574, 1991.
10. Schroer R: Antithrombotic potential of pentoxifylline, a hemorrheologically active drug. *Angiology* 36: 387-398, 1985.
 11. Streiter RM, Remick DG, Ward PA: Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor- α production by pentoxifylline. *Biochem Biophys Res Commun* 155: 1230-1236, 1988.
 12. Sullivan GW, Carper HT, Novick WJ, Mandell GL: Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (α) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infect Immun* 56: 1722-1729, 1988.
 13. Wang P, Ba ZF, Morrison MH, Ayala A, Dean RE, Chaudry IH: Mechanism of the beneficial effects of pentoxifylline on hepatocellular function after trauma hemorrhage and resuscitation. *Surgery* 112: 451-458, 1992.
 14. Coimbra R, Yada MM, Razuk A: Beneficial effects of pentoxifylline resuscitation on pulmonary vascular resistance and cardiac index following hemorrhagic shock. In *Proceedings of the 58th Annual Meeting of the American Association for the Surgery of Trauma*, 1998, p 267.
 15. Steeb GD, Wilson MA, Garrison RN: Pentoxifylline preserves small-intestine microvascular blood flow during bacteremia. *Surgery* 112: 756-764, 1992.
 16. Skjeldal S, Hvaal K, Nordsletten L, Aasen AO, Reikeras O, Torvik A: Pentoxifylline reduces skeletal muscle necrosis after acute hindlimb ischemia in rats. *Eur Surg Res* 26(2): 94-100, 1994.
 17. Kishi M, Tanaka H, Seiyama A, Takaoka M, Matsuoka T, Yoshioka T, Sugimoto H: Pentoxifylline attenuates reperfusion injury in skeletal muscle after partial ischemia. *Am J Physiol* 274(5 Pt 2):H1435-42, 1998.
 18. Silver D, Dhar A, Slocum M, Adams JG, Shukla S: Role of platelet-activating factor in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *Adv Exp Med Biol* 416:217-21, 1996.
 19. Hoffmann H, Markewitz A, Kreuzer E, Reichert K, Jockum M, Faist E: Pentoxifylline decreases the incidence of multiple organ failure in patients after major cardio-thoracic surgery. *Shock* 9:235-240, 1998.