

## Akciğerin iskemi-reperfüzyon ve reekspansiyon hasarında pentoksifilin antioksidan etkileri\*

M.Cumhur Sivrikoz<sup>1</sup>, Haşim Üstünsoy<sup>1</sup>, İclal Meram<sup>2</sup>, Kemal Bakır<sup>3</sup>, Feza Nurözler<sup>4</sup>, Adnan Celkan<sup>1</sup>, Nursan Tahtacı<sup>5</sup>, Levent Elbeyli<sup>1</sup>

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Göğüs Kalp Damar Cerrahisi, <sup>2</sup>Biyokimya, <sup>3</sup>Patoloji ve <sup>5</sup>Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Gaziantep

<sup>4</sup>Colombia Üniversitesi Presipitherian Hastanesi <sup>1</sup>Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Bölümü, New York, Amerika Birleşik Devletleri

### ÖZET

Pentoksifilin (Ptx), başta 5' Nükleotidaz inhibisyonu olmak üzere farklı bir çok metabolik yolla iskemi dönemi ve sonrasında ve reekspansiyon dönemi sonrasında hücre hasarını engellemektedir. Açık kalp cerrahisi operasyonu yapılan çalışma grubu olgularında (n=15) prime solüsyonuna, kontrol grubu olgularından (n=10) farklı olarak 500 mg/lt Ptx ilave edildi. Her iki grupta pompa öncesi ve sonrası dönemde sol atriumdan alınan kan örneklerinde malondialdehide (MDA), superoksit dismutaz (SOD) düzeyleri çalışıldı. Pompa sonrası dönemlerde alınan bronkoalveoler lavaj (BAL) örneklerinde ışık mikroskopik incelemeler yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede nonparametrik test Wilcoxon kullanıldı.

Pompa sonrası dönemde MDA ve SOD düzeylerinde gruplar arası fark p<0.05 bulundu. Kontrol grubu BAL mikroskobisinde çalışma grubuna göre yoğun polimorfonükleer lökosit (PNL) artışı saptandı.

Ptx'nin akciğerin iskemi-reperfüzyon ve reekspansiyon hasarı üzerinde önemli koruyucu etkisinin olduğunu düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler** : Pentoksifilin, akciğer , reekspansiyon hasarı, iskemi-reperfüzyon hasarı

### SUMMARY

#### Antioxidant effects of pentoxifiline on the ischemia reperfusion and reexpansion injury of the lung

Pentoxifylline (Ptx) basically decreases necessity of tissue energy via inhibiting 5' Nucleotidase. It also decreases cell damage by it's another effect as inhibition of polymorpho nuclear leukocyte (PNL) activation and stabilization of endothelium. The patients to whom open heart surgery was performed divided into two groups. We added Ptx (500 mg/lt) in the prime solution in the study group (n=15) and the usually used prime solution was used in control group (n=10). Malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were studied in the blood that was sampled from the left atrium before cardiopulmonary bypass (CPB) in the both groups. We also examined bronchoalveolar lavage (BAL) that was sampled after CPB in the both groups.

Wilcoxon test was used to statistical evaluation. In the study group, we find that MDA levels of study group was lower than control group and SOD levels of study group higher than control group. It was statistically significant (p<0.05). At microscopic examination, amount of PNL which was in the BAL of control group were much more higher than study group. We think that Ptx may avoid ischemia-reperfusion and reexpansion injury on the lung during CPB.

**Key Words** : Pentoxifylline, lung, reexpansion injury, ischemia-reperfusion injury

### GİRİŞ

Ekstrakorporeal dolaşım modelinde akciğerlerde iskemi - reperfüzyon hasarı, inflamatuvar

\*Bu çalışma Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Ortak Kongresi'nde (6 - 9 Kasım 2000 Antalya) bildiri olarak sunulmuştur.

✉ Dr. M. Cumhur Sivrikoz, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp Damar Cerrahi Anabilim Dalı, 27070, Gaziantep  
e-mail: mcumhurs@ixir.com

cevap, reekspansiyon hasarı gibi nedenlerden dolayı patolojiler oluşur. Belirtilen bu nedenler, bir çok ortak noktada birbirinin hasarlayıcı etkisini tamamlayarak doku hasarı oluşturur (1). Ekstrakorporeal membran oksijenasyon gerektiren tüm olgularda, klinik iyileşmenin kolaylaşması açısından akciğer dokusunun hasardan ıyı korunması büyük önem taşımaktadır.

**Tablo 1.** Çalışma ve kontrol grubu hastaları demografik verileri ( VSD: Ventriküler septal defekt, ASD. Atrial septal defekt)

|                      | Yaş ortalaması | K/E oranı | Romatizmal kapak hastalığı | VSD | ASD | Pompa süresi | Kross klemp süresi |
|----------------------|----------------|-----------|----------------------------|-----|-----|--------------|--------------------|
| Çalışma grubu (n=15) | 36.5           | 2/1       | 13                         | 1   | 1   | 120 dakika   | 80 dakika          |
| Kontrol grubu (n=10) | 34.4           | 3/2       | 7                          | 1   | 2   | 105 dakika   | 75 dakika          |

Çalışma, Aralık 1999–Mayıs 2000 tarihleri arasında kliniğimizde açık kalp cerrahisi amaçlı ekstrakorporeal membran oksijenasyonu uygulanan olgular üzerinde 9/1999 Haziran tarih ve sayılı üniversite etik kurul izni ve hastalardan alınan izin ile yapıldı. Çalışmanın amacı akciğerin iskemi-reperfüzyon ve reekspansiyon hasarında pentoksifilin'in koruyucu etkilerini ortaya koymaktır.

### OLGULAR VE METOD

Çalışma grubu olguları (n=15) yaş ortalaması 36.5, kadın/erkek oranı 2/1, tanıları romatizmal kapak hastalığı (n=13), atrial septal defekt (ASD) (n=1), ventriküler septal defekt (VSD) (n=1). Kontrol grubu olguları (n=10) yaş ortalaması 34.4, kadın/erkek oranı 3/2, tanıları romatizmal kapak hastalığı (n=7), ASD (n=1), VSD (n=2) idi. Çalışma grubunda ortalama pompa süresi 120 dakika, ortalama kross klemp süresi 80 dakika, kontrol grubunda ortalama pompa süresi 105 dakika, ortalama kross klemp süresi 75 dakika olarak hesaplandı (Tablo 1).

Kontrol grubu hastalarında ringer laktat (20 cc/kg), NaHCO<sub>3</sub> (1 mg/kg), steroid (1 mg/kg), mannitol (20 mg/kg) ve antibiyotikten oluşan prime solüsyonu standart olarak kullanılmış olup, çalışma grubu hastalarında prime solüsyonuna 500mg/lt miktarında pentoksifilin (Ptx) ilave edildi (2,3).

Yapılan ön çalışma sonuçlarına göre her iki grupta pompa öncesi ve pompa sonrası dönemde sol atriumdan alınan kan örneklerinde lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondealdehit (MDA), aerobik şartlarda pH 3.4'de tyobarbiturik asitle serumun 95°C'de inkübasyonu sonucu 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Doku savunma mekanizmalarından olan superoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ise ksantin oksidaz sistemi kullanılarak oluşan formazo'nun 560 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle elde edildi. Pompa sonrası dönemlerde alınan bronkoalveoler lavaj (BAL) örnekleri Hematoksilen-Eozin ve Papanicolaou boyaları ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Her iki gruptan alınan ortalama değerlerin karşılaştırılmasında, gruplar arası istatistiksel

anlamlılık için nonparametrik Wilcoxon test kullanıldı.

### SONUÇLAR

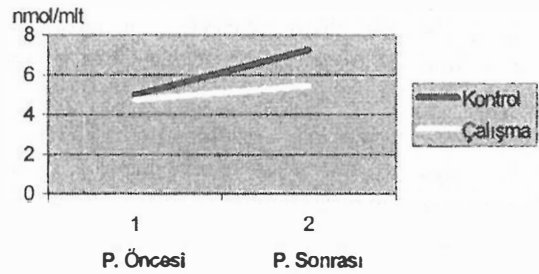
Pompa öncesi dönemde alınan sol atrium kan örneklerinde MDA ortalama değerleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermedi (p>0.05) (Şekil 1).

MDA ortalama değerleri açısından çalışma grubunda grup içi anlamlı farklılık bulunmazken kontrol grubunda grup içi anlamlılık p<0.05 olarak bulundu (Şekil 1).

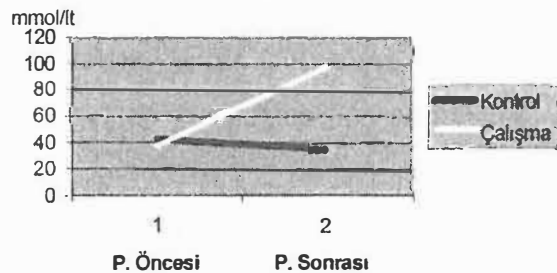
Pompa sonrası dönemde alınan sol atrium kan örneklerinde MDA ortalama değerleri gruplar arasında anlamlılık gösterdi (p<0.05) (Şekil 1).

Pompa öncesi dönemde alınan sol atrium kan örneklerinde SOD ortalama değerleri gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (p>0.05) (Şekil 2).

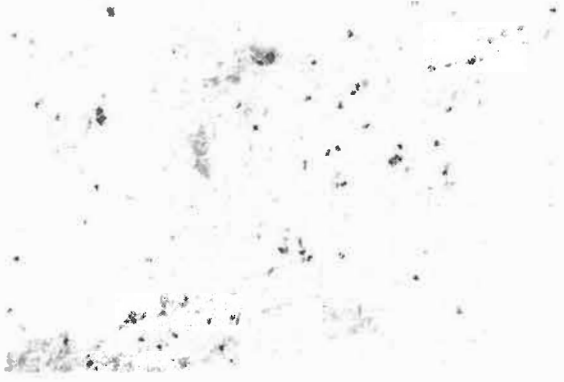
SOD ortalama değerleri açısından çalışma grubunda grup içi anlamlı farklılık bulunmazken kontrol grubunda grup içi anlamlılık p<0.05 olarak bulundu (Şekil 2).



**Şekil 1.** Sol atrium kan örneği MDA seviyeleri



**Şekil 2.** Sol atrium kan örneği SOD seviyeleri



**Resim 1.** Kontrol grubu pompa sonrası bronkoalveoler lavaj mikroskopisi.

Pompa sonrası dönemde alınan sol atrium kan örneklerinde SOD ortalama değerleri gruplar arasında anlamlılık gösterdi ( $p < 0.05$ ) (Şekil 2).

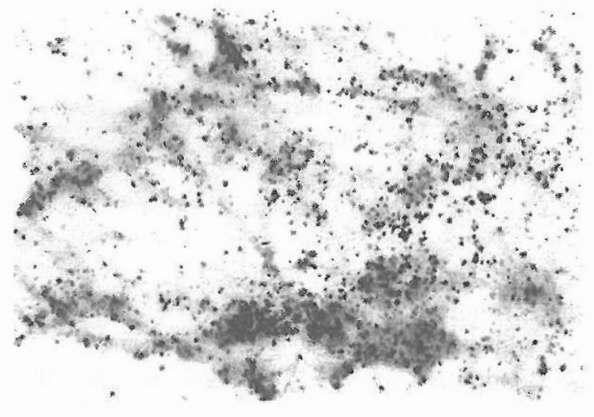
Kontrol grubu BAL mikroskopisinde, çalışma grubu BAL örneklerine göre daha yoğun Polimorfonükleer lökosit (PNL) artışı saptandı (Resim 1 ve 2).

### TARTIŞMA

Çeşitli amaçlarla yapılan ekstrakorporeal membran oksijenasyon uygulamaları sırasında oluşan iskemik, reperfüzyon, reekspansiyon ve inflamatuvar olaylar serbest oksijen radikalleri metabolizması üzerinden pulmoner hasar oluşturur. Bu etkileşimlerin serbest radikal ortaya çıkarma mekanizmaları tam olarak bilinmemekle beraber akciğerdeki birçok ara yol yüksek miktarda reaktif oksijen metabolitleri üretmektedir. İskemik doku, 5'Nükleotidaz enziminin aktivasyonu sonucu yoğun şekilde ATP kaybeder (4).

Akciğer dış ortamla direk teması nedeniyle monosit, makrofaj ve PNL'lerin en geniş rezervuarlarından. Reperfüzyon ve reekspansiyon sonucu lipid mediatörler, polipeptid mediatörler ve immün kompleksler ortamda artar. Artan bu mediatörler nedeniyle endotelial hücrelerde fonksiyon bozukluğu oluşur ve alveolokapiller membrana monosit, PNL ve makrofaj girişi olur. Ortama gelen bu kan hücreleri superoksit radikalının oluşmasına neden olan bir dizi reaksiyonu başlatır (4-6).

Bu mekanizmalara ek olarak ekstrakorporeal membran oksijenasyon uygulaması sırasında endotelial permeabilite artışına bağlı alveolokapiller membranda PNL birikimi eşliğinde inflamatuvar cevap geliştiği bilinmektedir (7). Çalışmada kontrol grubu BAL mikroskopilerinde yüksek oranda PNL artışı



**Resim 2.** Çalışma grubu pompa sonrası bronkoalveoler lavaj mikroskopisi.

olup, çalışma grubu örneklerinde bu yoğunluk azalmıştır.

Ptx, ekstrakorporeal dolaşım ve akut respiratuvar distress sendromu gibi nötrofiller vasıtasıyla oluşan doku hasarını azaltabilir (8). Türköz ve ark., çalışmalarında Ptx'nin, PNL aktivasyonunu inhibe ederek akciğerde hücre birikimini engellediğini ve PNL'ler üzerinde oynadığı bu rolle akciğer hasarı azalttığını bildirmektedir (9). Kleinschmidt ve ark., Ptx'nin endotelial hasar ve permeabiliteyi azalttığını söylemektedir (1). Ptx akciğer hasarında hızlı immün reaksiyonların gelişiminde koruyucu olarak kullanılabilir (10).

Serbest radikaller dış yörüngelerindeki tek sayılı elektronları nedeniyle ileri derecede reaktiftirler. En önemli reaksiyonları oluşturdukları lipid peroksidasyonudur (11,12). Hücre zedelenmesinde, serbest radikal oluşumu ve bu serbest radikallerin yıkımı arasındaki denge önemlidir. Bu dengede başta SOD olmak üzere birçok enzimler görev alır (13,14).

Ptx'nin proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ettiği ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda hücrenin mitokondrial yapılarını korumaktadır (15).

Ptx etkinliğini 5'Nükleotidaz enzimini inhibe ederek gösterir. Bu sayede ATP'nin AMP ve IMP'ye yıkımı ardından da adenosin ve inozine yıkımını engeller. Sonuç olarak hem ileri dönem hasarlayıcı metabolik zincirlerin gelişimi engellenebilir hem de reperfüzyon döneminde dokunun ihtiyacı olan enerji depoları korunabilir (2, 16-18).

Clark ve ark. tarafından yapılan tek taraflı akciğer nakli çalışmalarında Ptx verilen grupta kontrol grubuna oranla PNL birikiminde

azalmanın yanında alıcılarda MDA seviyesinde anlamlı düşme tesbit edilmiştir (19).

Çalışmada Ptx' nin antioksidan etkisini değerlendirmek amacıyla MDA ve SOD kullanıldı.

Pompa sonrası dönem çalışma grubu olgularında MDA seviyesi, kontrol grubu olgularıyla karşılaştırıldığında anlamlı seviyede düşük bulundu. Bu bulgu Ptx'nin serbest radikallerin oluşumunu engellediğini veya baskıladığını ve bu yolla hücre membran lipidlerinin peroksidasyonunu önleyerek akciğeri serbest oksijen radikallerinin hasarından koruduğunu göstermektedir.

Yine pompa sonrası dönem çalışma grubu olgularında SOD düzeyi kontrol grubu olgularına göre anlamlı ölçüde yüksektir. Fizyolojik durumda serbest radikaller ve antioksidan mekanizmalar arasındaki mevcut

denge belirtilen mekanizmalarla bozulmaktadır. Artan reaktif metabolitler antioksidan mekanizmalarla tamponlanamamakta ve dokuda hasar oluşmaktadır (13).

Çalışma grubu olgularında görülen anlamlı SOD yükselmesi Ptx'nin hücre savunma mekanizmalarını aktive ederek antioksidan özellik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmada, biokimyasal ve mikroskopik verilerden hareketle çalışma grubu olgularında, doku inflamatuvar cevabının, reekspansiyon ve iskemi-reperfüzyon hasarının önemli oranda azaldığını düşünüyoruz.

Sonuç olarak, elde edilen mikroskopik ve biokimyasal bulgular Ptx'nin ekstrakorporeal membran oksijenasyon kullanımını gerektiren olgularda antioksidan özelliği ile akciğer dokusunu hasarlanmalardan koruduğunu göstermektedir

## KAYNAKLAR

1. Kleinschmidt S, Baver M, Grundmann U, Schmeider A, Wagner B, Graeter T. Effect of gamma-hydroxybutyric acid and pentoxifylline on kidney function parameters in coronary surgery interventions. *Anaesthesiol Reanim* 1997; 22:102-107.
2. Pridjian AK, Bove EL, Bolling SF, Childs KF, Kimberly BS, et al. Developmental differences in myocardial protection in response to 5'-nucleotidase inhibition. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107:520-526.
3. Bolling SF, Olszanski DA, Bove EL, Childs KF. Enhanced myocardial protection during global ischemia with 5'-nucleotidase inhibitors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103:73-77.
4. Grisham MB, Granger N. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. *Clin Chest Med* 1989; 10:71-81.
5. Farber JL. Biology of disease: Membrane injury and calcium homeostasis in the pathogenesis of coagulative necrosis. *Lab Invest* 1982; 47:114-123.
6. Tauber AI, Babior BM. Neutrophil oxygen reduction: The enzymes and the products. *Adv Free Rad Biol Med* 1985; 1:265.
7. Divarelli CA. Interleukins. *Annu Rev Med* 1986; 37:173-178.
8. Sullivan GW, Carper HT, Novick WJ, Mandell GL. Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infect Immun* 1998; 56:1722-1729.
9. Türköz R, Yörükoğlu K, Akçay A, Yilik L, Baltalarlı A, Karahan N, Adanır T, Sagban M. The effect of pentoxifylline on the lung during cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996; 10:339-346.
10. Krekauer T. Pentoxifylline inhibit ILAM-1 expression and chemokine production induced by proinflammatory cytokines in human pulmonary epithelial cell. *Immunopharmacology* 2000; 46:253-261.
11. Başağa HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1990; 68:989-998.
12. Grance PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81:637-647.
13. Jenkinson SG. Free radical effects on lung metabolism. *Clin Chest Med* 1989; 10: 37-47.
14. Klepetko W, Lohninger A, Wissner W, Mueller MR, Khünl-Brady G, et al. Pulmonary surfactant in bronchoalveolar lavage after canine lung transplantation: Effect of L-Carnitine application. *J Thorac and Cardiovasc Surg* 1990; 99:1048-1058.
15. Gomez CL, Camps B, Asungcion JG et al. Pentoxifylline ameliorates cerulein-induced pancreatitis in rats: role of glutathione and nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 293:670-676.
16. Olszanski DA, Ning Xuc-Han, Childs KF, Bolling SF. Precursor trapping : A 'Neonatal' mechanism of myocardial protection. *J Surg Research* 1993; 54:539-544.
17. Yoshiki S, Yasuhisa S, Keishi K, Takashi M, Hirotsugu F. Attenuation of cardiopulmonary bypass-derived inflammatory reactions reduces myocardial reperfusion injury in cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111:29-35.
18. Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA et al. Adenosine reduces cardiac TNF- $\alpha$  production and human myocardial injury following ischemia-reperfusion. *J Surg Research* 1998; 76:117-123.
19. Clark SC, Sudarshan C, Roughan J, Fleeknell PA, Dark JH. Modulation of reperfusion injury after single lung transplantation by pentoxifylline, inositol polyanions and sin-1. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117:556-555.