

Allopurinol ve Deferoksamin'in Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Oksijen Serbest Radikali Oluşumu Üzerine Etkileri

*Yrd.Doç.Dr.ahmet R.Hamulu,*Yrd.Doç.Dr.Suat Büket,*Yrd.Doç.Dr.Alp Alayunt,*
Yrd.Doç.Dr. Mustafa Özbaran,**Prof.Dr.Oya Bayındır,**Dr.Işıl Mutaf,* Prof. Dr. Isa Durmaz**

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp Damar Cerrahisi ABD
**Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,Biokimya Anabilim Dalı

Oksijen serbest radikalleri reperfüzyon hasarı ve CPB'nın zararlı etkilerinin oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Bu zararlı etkileri azaltmaya yönelik çalışmalar sürmektedir.

Kliniğimizizde kapak yada koroner ameliyatı olan 10'ar kişilik 3 grup (A,D,C) olguda ameliyat öncesi allopurinol veya deferoksamin verilmesinin CPB sırasında compleman ve lökosit aktivasyonu ve lökositlerden serbest radikal salınması üzerine etkileri araştırıldı.

Ameliyat öncesi A grubu hastalara toplam 1.8g allopurinol, D grubu hatalara 15 mg/kg deferoksamin verildi ve C grubu kontrol olarak alındı.

Her hastada CPB öncesi ve sonrası serum C3, plasma lipid peroksit, lökosit sayımı ve formülü bakıldı, akciğerlerde lökosit sekestrasyonunu gösterecek olan CPB Sonu sağ ve sol atrium kanı lökosit sayımı ve formülü yapıldı.

Sonuçların değerlendirilmesi sonunda ameliyat öncesi allopurnol ve deferoksamin kullanılmasının, Cpb sırasında kompleman aktivasyonunun etkilemediği, ancak lökosit kaynaklı serbest radikallerin oluşumunu azaltarak ya da etkilerini yok ederek kapiller lökosit sekestrasyonu ve endotel harbiyetini önemli ölçüde engellediğini saptadık.

GKD Cer. Derg.1994;2:95-100

The Effects of Allopurinol and Deferoxamine on The Oxygen Free Radical Generation During Cardiopulmonary Bypass

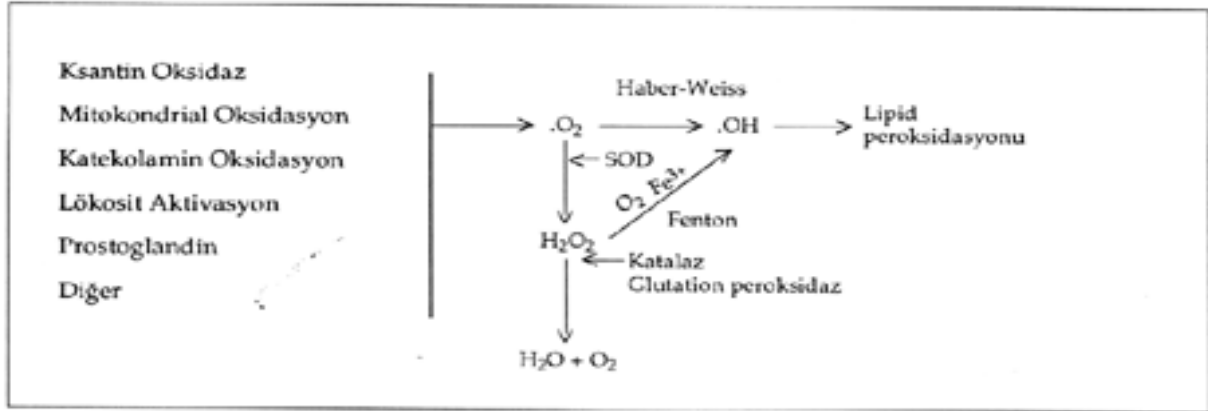
Oxygen free radicals play an important rolein the reperfusion injury and in the deleterious effects of cardiopulmonary bypass (CPB).

On three groups (A,D,C)eachcontaining 10 patients operated on for coronary artery disease arvalvular heart disease the effect of pretreatment with deferoxamine on complement activation and leucocyte sequestration in pulmonary vascular bed were observed.

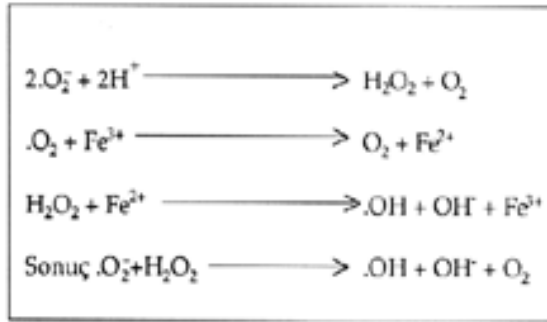
Preoperatively the patiens in group A were given atotal dose of 1.8 g allopurinol and the patients in group D were given 15 mg/kg deferoxamine.Group C was the control group.

For eachtatient serum level of C3, plasma level of lipid peroxide before and after CPB and the leucocyte count-formula of the right and left atrium at the end of the CPB were determined.

Even there was no difference of leucocyte sequestrion in pulmonary bed, allopurinol and deferoxamine were found to be effective in prevention of the deleterious effects of CPB by scavenging, or inhibiting the formation of oxygen free radicals.



Şekil 1. Organizmada serbest radikal oluşumu (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu), sonucu (lipid peroksidasyonu) ve çeşitli aşamalarda SOD ve Katalaz-Glutation peroksidaz ile eliminasyonu. * SAD: Süperoksid Dismutaz.



Şekil 2. Süperoksit radikali ve bundan diğer radikallerin oluşmaları (.OH, H₂O₂)

Oksijen serbest radikallere son 20 yıldır çeşitli hastalık ve patolojinin oluşumunda rol alan temel mekanizmalar içindeki yerini almıştır⁽¹⁾. Özellikle iskemik ve reperfüzyon hasarında önemli rol alan radikaller, fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşur ve yine intrinsek mekanizmalarla organizmaya zararlı etkileri önlenir^(1,2,3,4) (Şekil 1).

Oksijen serbest radikalleri 3 temel şekilde oluşur ve aktivite gösterir. Bunlar, O₂ (süperoksit) H₂O₂ ve OH radikalleridir⁽¹⁾. O₂ radikali, çok kısa etkili olduğundan zararlı etkilerin oluşumunda direkt rol almaktan çok, H₂O₂ ile demirin katalizörlük yaptığı Fenton reaksiyonu sonucu en aktif ve toksik olan OH radikalının oluşmasına yol açar⁽¹⁾ (Şekil 2).

Doku iskemisinde ATP degradasyonu sonucu hypoxantine oluşmakta ve aynı zamanda xantine dehidrogenaz enzimi de xantine oksidaza dönüşmektedir. Reoksjenizasyonu takiben hypoxantinden, xantine oksidaz vasıtası ile xantine ya da

ürat ve O₂ oluşur^(1,3).

Serbest radikallere karşı xantine oksidaz inhibitörü allopurinolün kullanılması ve direkt O₂'ye etkili olan süperoksid dismutazın (SOD) verilmesi ile elde edilen sonuçların farklı olması nedeni ile, allopurinolün en etken radikal olan OH üzerinde 'scavenger' etkisi olduğu düşünülmektedir^(5,6,7,8). Bunun yanında Fenton reaksiyonunda rol alan demirin deferoksamin ile şelasyonu sonucu serbest radikal oluşumu üzerine engelleyici etkide bulunabileceği belirtilmektedir^(3,9,10).

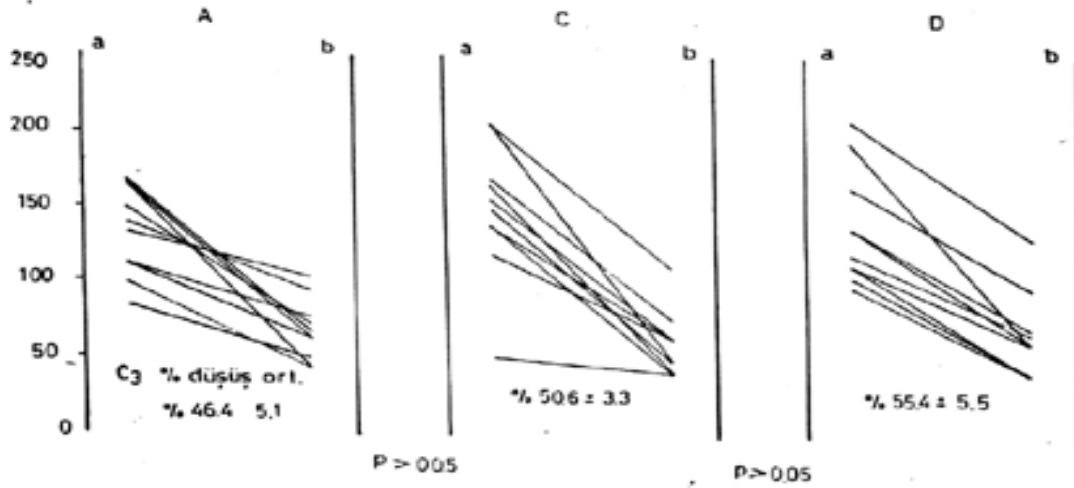
OH radikali etkisini hücre duvarı lipidlerinin peroksidasyonu ile gösterir^(1,3,11,12). Böylece son ürün lipid peroksitlerin plasma ya da doku seviyeleri radikal etkinliğini gösteren bir kriter olarak kabul edilmektedir.

Serbest radikaller kardio-pulmoner bypassın (CPB) zararlı etkilerinin oluşumunda da önemli rol oynamaktadırlar^(3,10). CPB sırasında kanın yabancı yüzeylerle teması sonucu complement aktive olmakta bu da nötrofil aktivasyonuna yol açmaktadır^(13,14,15,16,17). Organizmanın normal savunma mekanizmasında oluşan complement ve nötrofil aktivasyonu, CPB esnasında çok şiddetli olmakta ve organizmaya zarar vermektedir^(15,17). Aktive olan nötrofiller bu şiddetli stimulus sonucu agregat olup mikrosirkülasyonda sekestre olmaktadır^(2,10). Ayrıca nötrofiller serbest radikal salgılayarak organizmada yaygın kapiller harbiyetine yol açmaktadır. Aktive nötrofillerden salgılanan radikaller kapiller endotel harbiyeti yapmakla birlikte zincirleme mekanizmalarla hem nötrofil aktivasyonunun artırmakta ve hem de serbest radikal oluşumunu artırmaktadır^(1,2,5,10). Özellikle CPB

Tablo I. Gruplara Göre Hastalarla İlgili Temel Veriler

Grup	Yaş Ort.	Erkek	Kadın	Koroner	Kapak	Lökosit (ort.)	CPB (dk)* (ort.)
A	51.7	7	3	9	1	5990 373	153 15
B	47.6	8	2	8	2	6810 352	139 13
C	50.9	9	1	7	3	5980 359	132 9.9

* CPB: Kardiyopulmoner Bypass



Şekil 3. Kardiyopulmoner Bypass öncesi (a) ve sonrası (b) C3 değerleri ve % düşüş ortalamaları

sonrası gelişen akciğer hasarında bu mekanizmaların önemli yeri olduğu söylenmektedir⁽¹⁸⁾.

Kalp cerrahisinde, özellikle reperfüzyon hasarının önlenmesinde kullanılan radikal scavenger yada enzim inhibitörlerinden allopurinol ve deferoksaminin CPB'nin yukarıda işaret edilen zararlı etkilerine karşı kullanılması düşünülmüş ve bu amaçla kliniğimizde 10'ar kişilik 3 grup hasta (A,D,C) üzerinde bu iki ilacın etkileri araştırılmıştır.

Meteryal ve Metod

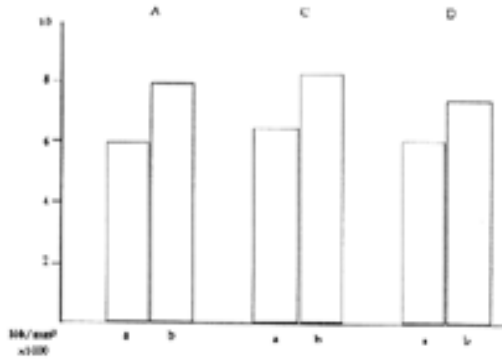
Kliniğimizde koroner yada kapak hastalığı nedeni ile ameliyat olan 10'ar kişilik 3 grup hastalığı nedeni ile ameliyat olan 10'ar kişilik 3 grup hasta (A,D,C) üzerinde allopurinol ve deferoksaminin CPB'nin zararlı etkilerini önlemedeki etkileri araştırılmıştır.

A grubu 10 hastaya ameliyat öncesi gün 8 saat ara ile 3 dozda toplam 1.8 g allopurinol verilmiştir.

D grubu 10 hastaya ameliyattan 30 dk.önce 15 mg/deferoksamin IV infüzyon ile (30 dakikada) verilmiştir. C grubu kontrol grup olarak kabul edilmiştir ve hiçbir rutin dışı premedikasyon almamıştır.

Her 3 grup için pompa prime solusyonuna Rheomakrodex, Haemaccel ve %5 DRL harici sıvı ya da kan konulmamış ve ameliyat boyunca eklenmemiştir. Hastalarda kan kardiyoplejisi kullanılmış ve pompa süresince hiçbir ilaç verilmemiştir. İlaç verilmesi gereken hastalar çalışma dışı tutulmuştur. CPB hattında hollow fiber membran oksijenatör ve 40 mic. Arteriel filtre kullanılmıştır.

Her hastada CPB öncesi ve sonrası lökosit sayısı, serum C3 ve plasma lipid peroksid (LP) seviyeleri tayin edilmiş. Ayrıca aortik kros klempin kalkması ve parsiyel bypassa geçişi takiben sağ ve solatrium kanlarından lökosit sayısı ve formül lökosit tayini yapılmıştır.

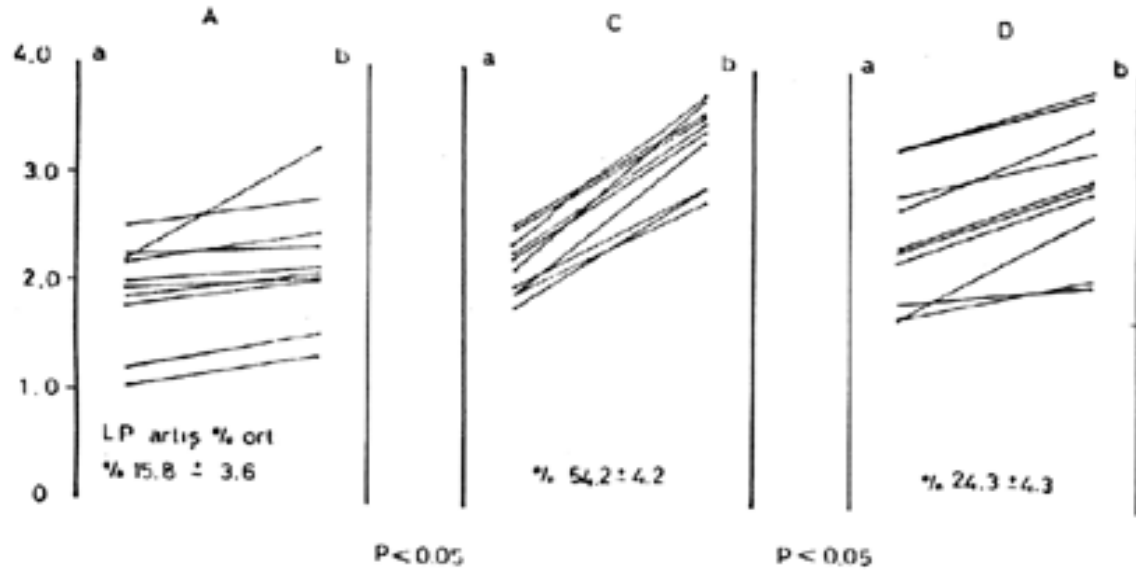


Şekil 4. Kardiyopulmoner Bypass öncesi (a) ve sonrası (b) kan lökosit değerleri ortalamaları

kalmıştır (p 0.05). Aynı şekilde A ve D grubunda akciğer damar sahasında lökosit sekestrasyonunu gösteren sağ/sol atrium kan lökosit sayısı farka c grubuna atrium lökosit formülünde sağ atrium lökosit formülündeki nötrofil oranı her 3 grupta da sol atriumdakine oranla dahadüşük bulunmuştur. Nötrofil daha belirgin olmuştur (p 0.05) (Şekil 5,6,7).

Tartışma

CPB sırasında ilk yarım saatte lökosit sayısı düşmesine rağmen bundan sonra artarak 2 saatlik bir sürede % 120'lik bir artışa ulaşmaktadır.



Şekil 5. Kardiyopulmoner Bypass öncesi (a) ve sonrası (b) plasma lipid peroksid (LP) değerleri ve % artış ortalamaları

Sonuçlar

Her 3 grup hasta için yaş, cins operasyon türü ve pompa süresi ile ilgili değerler tabloda gösterilmiştir (TabloI).

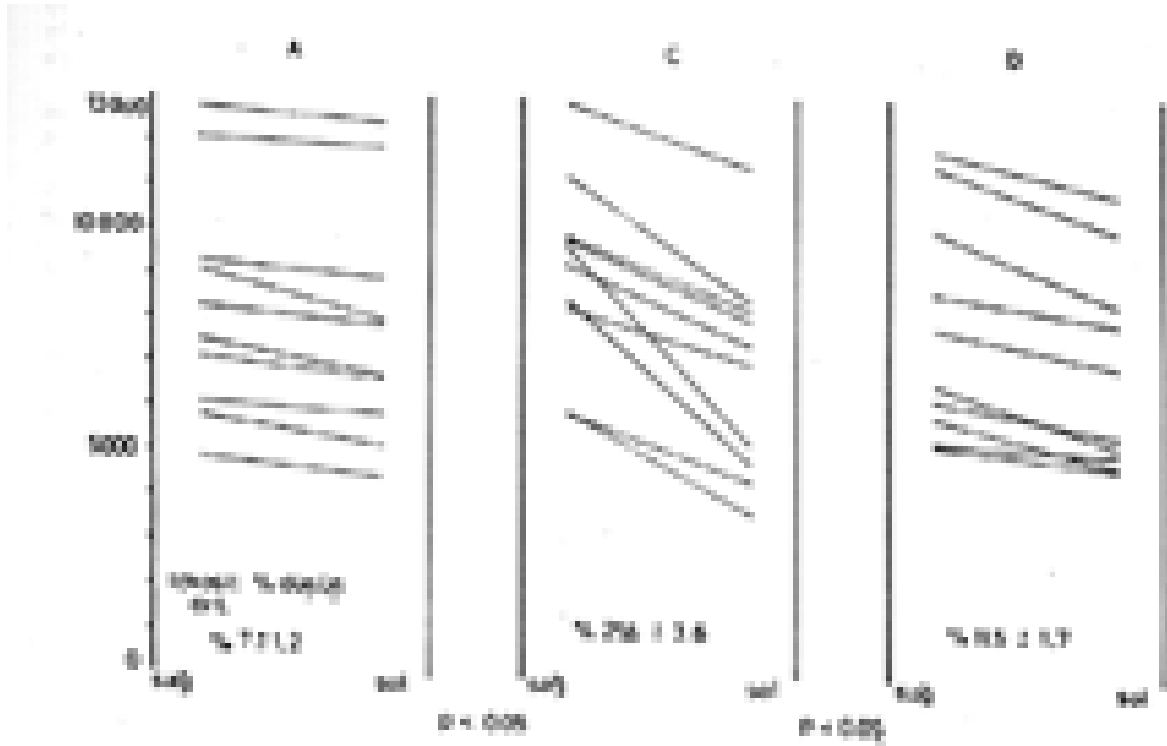
Her 3 grup hastada CPB öncesi ve sonrası C3 seviyelerinde önemli bir düşme saptanmış ancak gruplar arasında C3 seviye düşüşü bakımından farklılık saptanmamıştır (p 0.05) (Şekil 3).

Her 3 grupta pompa öncesi lökosit sayısına göre pompa sonu lökosit sayısı artmış bulunmuştur. Gruplar arası fark yoktur (p 0.05) (Şekil 4).

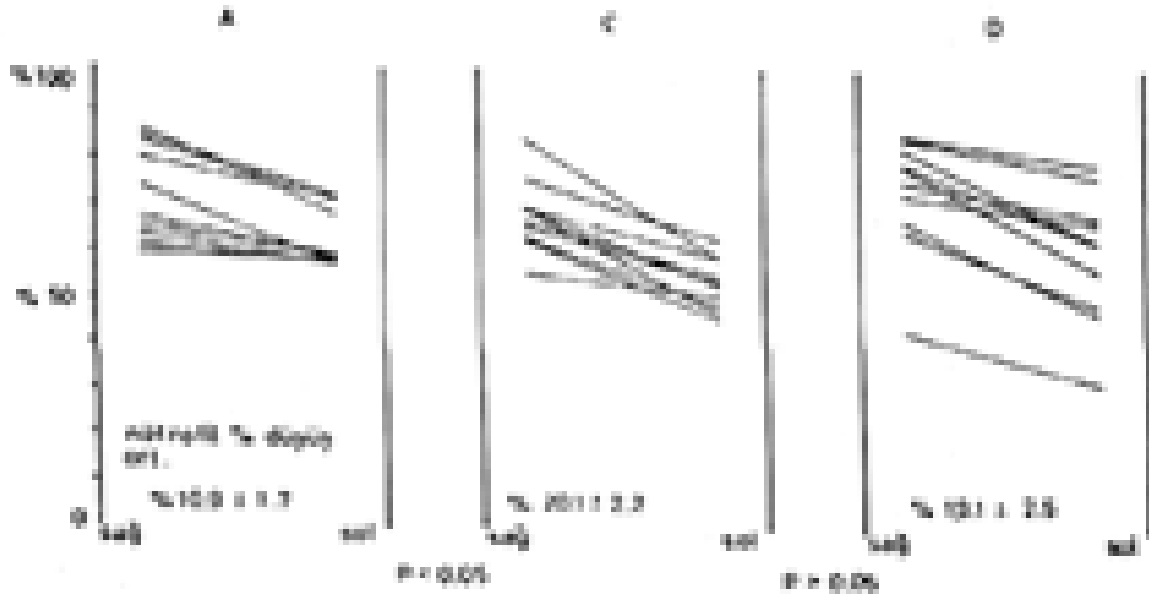
A veD grubunda CPB sonu plasma LP seviyesi artışı C grubuna göre daha düşük seviyede

Hastalarımızda da bu tarzda bir lökosit artışısaptanmıştır (Şekil 4)⁽¹⁸⁾.

CPB sırasında komplemanakti asyonu, oksijenatör ve filtrelerdeki, özellikle naylon materyellerle kanın teması sonucu olmaktadır^(15,16). Her 3 grup hastamızda da kompleman aktivasyonunu gösteren C3 seviyesindeki düşüş birbirine yaklaşık oranlarda olmuştur. Kompleman aktivasyonu nötrofil aktivasyonunu getirmekte ve nötrofiller bu şiddetli stimulusla lizozim ve serbest radikal salgımayarak, özellikle kapiller endotel harbiyetine yol açmaktadır¹⁰⁾. Nötrofillerden salgılanan serbest radikaller bir yandan diğer nötrofilleri aktive etmekte ve diğer yandan,



Şekil 6. Kardiyopulmoner Bypass döneminde uygulanmış olan sağ ve sol ventrül lümen kateteri ile ölçülen ve sağa göre soluna doğru kayan % nötrofil oranlarının (Pulmoner kateterde ölçülen nötrofil)



Şekil 7. Kardiyopulmoner Bypass döneminde uygulanmış olan sağ ve sol ventrül lümen kateteri ile ölçülen (% nötrofil oranları) ve sağa göre soluna doğru kayan % nötrofil oranlarının (Sol ventrül kateterinde ölçülen nötrofil)

nötrofillerden açığa çıkan laktoferrin ve hasarlı endotelden açığa çıkan ferritinden serbest demir açığa çıkmasına yol açmaktadırlar. Serbest demir ise Fenton reaksiyonu ile serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır⁽¹⁾.nötrofillerde serbet radikal oluşumu üzerine, burada da anlaşıldığı gibi, reperfüzyon hasarında rol oynayan ksantin oksidaz enzimi etkili değildir. Zincirleme reaksiyonlar sonucu etkin hale geçen nötrofiller dalaşımında, kapiller yatakta sekestre olmakta ve bu çok akciğer, böbrek,beyin ve kalpte olmaktadır. Hastalarımızda sağ ve sol atrium kanı lökosit sayısı farkı bu sekestrasyonu göstermektedir.Allopurinol ya da deferoksaminle premedikasyon yapılan A ve D grubu hastalarda pulmoner yatakta lökosit sekestrasyonu C grubuna göre daha az olmuştur (p 0.05). Bu hücre duvarı lipid peroksidasyonunu gösteren plasma lipid peroksid seviye artış oranları ile de uyumludur.Formül lökositteki nötrofil oran düşüşü ise sekestre olan lökositlerin nötrofil oran düşüşü ise sekestre olan lökositlerin nötrofiller olduğunu göstermektedir.

Ksantin oksidazın yukarıdaki reaksiyonlar-da yer almaması allopurinolün daha çok .OH yokedici olarak etki ettiğini düşündürmektedir.deferoksamin ise Fenton reaksiyonunda geçiş ionu olan Fe³⁺'ü bağlayarak etkili olmaktadır.

Çalışmamızda deferoksaminin allopurinol-den daha az etkin olduğu gözlenmektedir. Bu deferoksaminin belki de yeterlidosda verilmediğini düşündürmektedir. Deeroksaminin daha etkili olması için gereken dozunun tayini için yeni çalışmaların gerekliliği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Braunwald E: Heart Disease, A Textbook of Cardiovascular Medicine, Third Ed. (Update 3) p.60
2. Ko W, Hawes AS, Lazenby WD et al: Myocardial reperfusion injury. J Thorac Cardiovasc Surg 102:297-308, 1991.
3. Menasche P, Piwnica A: Free radicals and myocardial protetion: A surgical viewpoint. Ann Thorac Surg 47:939-45, 1989.
4. Fantone JC, Ward PA: Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leucocyte-dependent inflammatory reactions. Am J Pathol 107:395, 1982.
5. Sepe SM, Clark RA: Oxidant membrane injury by the neutrophil myeloperoxidase system. II injury by stimulated neutrophils and protection by lipid soluble antioxydants. J Immunol 247:3170, 1972.
6. DeWall RA, Vasco KA, Stanley EL, et al: Responses of the ischemic myocardium to allopurinol. Am Heart J 82:362, 1971.
7. Reimer KA, Jennings RB: Failure of the xantine inhibitor allopurinol to limit infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. Circulation 71:1069, 1985.
8. Arnold WL, DeWall RA, Kezdi P, et al: The effect of allopurinol on the degree of early myocardial ischemia. Am Heart J 99:614, 1980.
9. Ambrosio G, Zweier JL, Jacobus WE et al: Improvement of postischemic myocardial function by administration of deferoxamine at the time of reflow: The role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. Circulation 76:906, 1987.
10. Menasche P, Catherine P, Bellucci S, et al: Deferoxamine reduces neutrophil-mediated free radical production during cardiopulmonary bypass in man. J Thorac Cardiovasc Surg 96:582-9, 1988.
11. Chien KR, Abrams J, Serroni A, et al: Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver cello injury. J Biol Chem 253:4809, 1978.
12. Mak AT, Kramer JH, Weglicki WB: Potentiation of free radical-induced lipid peroxidative injury to sarcolemmal membranes by lipid amphiphiles. J Biol Chem 261:1153, 1986.
13. Cavarocci NC, Schaff HV, Orzulak TA, et al: Evidence for complement activation by protamine-heparin interaction after cardiopulmonary bypass. Surgery 98:525, 1985.
14. Moore FD, Warner KC, Assousa S, et al: The effects of complement activation during cardiopulmonary bypass. Ann Surg 208:95, 1988.
15. Cavarocci NC, Pluth JR, Schaff HV: Complement activation during cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surg 91:252-8, 1986.
16. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH et al: Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surg 86:845-57, 1983.
17. Fosse E, Mollnes TE, Ingvaldsen I: Complement activation during major operations with or without cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surg 93:860-6, 1987.
18. Utley JR: Pathophysiology and Techniques of Cardiopulmonary Bypass Vol. II, Baltimore/London, Williams&Wilkins, p.49-60, 1983.