

Daflon Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Oluşan Kompleman Aktivasyonunu Önleyerek Reperfüzyon Hasarını Azaltır

DURING CARDIOPULMONARY BYPASS DAFLON DECREASES REPERFUSION INJURY BY COMPLEMENT INHIBITION

Turhan Yavuz, *İrfan Altuntaş, Cumhuriyet Tenekeci, *İbrahim Kılınc, **Vildan Uluşan, Ahmet Öcal, Erdoğan İbrişim, ***Ali Kutsal

Süleyman Demirel Üniversitesi Şevket Demirel Tıp Merkezi, Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Isparta

*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biokimya Ana Bilim Dalı, Isparta

**Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı, Isparta

***Dr. Sami Ulus Çocuk Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Ankara

Özet

Amaç: Venotropik bir ilaç olan Daflonun kompleman C3'ü inhibe ettiği bilinmektedir. Kompleman C3 alternatif kompleman aktivasyonunun başlangıcıdır. Kardiyopulmoner bypass ile yapılan açık kalp ameliyatlarının tüm vücutta oluşturduğu yaygın inflamatuvar reaksiyonda alternatif kompleman aktivasyonu önemlidir. Bu çalışmada amacımız Daflonun kardiyopulmoner bypass ile yapılan açık kalp ameliyatlarında oluşan reperfüzyon hasarı ve kompleman aktivasyonu üzerine etkilerini belirlemektir.

Materyal ve Metod: Çalışmaya kardiyopulmoner bypass ile opere edilen ardışık 50 hasta Daflon (Grup 1) ve kontrol grubu (Grup 2) olarak 2 gruba ayrıldı. Grup 1'in ortalama yaşı 59.6 ± 3.3 yıl olup, 10'u kadın, 15'i erkek toplam 25 hastadan oluşmakta idi ve hastalara preoperatif 7 gün boyunca oral 2 tablet/gün Daflon tablet verildi. Grup 2 ise kontrol grubu olup, ortalama yaşı 60.3 ± 2.9 yıl olan 11'i kadın 14'ü erkek 25 hastadan oluşmaktaydı.

Bulgular: Daflon verilen grupta kardiyopulmoner bypass sırasında kompleman C3 değerlerinin yükseldiği evrede senkronize olarak troponin I ve CK-MB düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.001$).

Sonuç: Daflon kardiyopulmoner bypass sırasında oluşan alternatif kompleman aktivasyonunu inhibe ederek reperfüzyon hasarını azaltır.

Anahtar kelimeler: Kardiyopulmoner bypass, reperfüzyon hasarı

Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2004;12:18-21

Summary

Background: Daflon is basically known as a phlebotonic, vasculoprotector agent and an inhibition of complement C3 is involved in the initial part of alternative complement pathway. The inflammatory response during cardiopulmonary bypass is related with the activation of alternative complement pathway. The aim of the present controlled-clinical study was to evaluate the potential myocardial protective effects of Daflon by measuring the serum levels of complement C3 during open heart surgery.

Methods: Fifty patients selected for open heart surgery under cardiopulmonary bypass were randomly assigned to Daflon or control group. Patients were given Daflon tablet orally twice daily tablet per day or placebo 7 days preoperatively. In the Daflon group there were 25 patients (10 women and 15 men) with the mean age 59.6 ± 3.2 years. In the control group, there were 11 women and 14 men with the mean age 60.3 ± 2.9 years. Serial blood samples were collected preoperatively (venous), 20 minutes after cross-clamping (right atrium), 20 minutes after aortic unclamping (right atrium) and 24 hours postoperatively (venous).

Results: Serum C3 levels in the Daflon group were significantly higher at 20 minutes after cross-clamping and 20 minutes after unclamping ($p < 0.001$). But, troponin I levels in the Daflon group were significantly lower than at 20 minutes after cross-clamping, 20 minutes after unclamping and 24 hours postoperatively than those of the control group ($p < 0.001$).

Conclusion: As a result this study confirms the cardioprotective effect of PMFF against reperfusion injury by alternative complement activation inhibition.

Keywords: Cardiopulmonary bypass, reperfusion injury

Turkish J Thorac Cardiovasc Surg 2004;12:18-21

Giriş

Açık kalp cerrahisi sırasında kullanılan kardiyopulmoner bypass (KPB) yaygın bir inflamatuvar reaksiyona neden olur. Oluşan inflamatuvar reaksiyonda kompleman aktivasyonu, sitokinler, serbest oksijen radikalleri, arasıdonik asit gibi mediatörler önemli rol oynar [1,2]. Salınan bu mediatörler hücreyi etkileyerek hasara neden olur. Kardiyoprotektif tekniklerin kullanılmasına rağmen, reperfüzyon hasarı hala kalp cerrahisinde en önemli problem olma özelliğini korumaktadır. Kardiyopulmoner bypass sırasında özellikle alternatif kompleman yolu aktive olmakta ve aktive olmamış kompleman düzeyleri azalırken aktive kompleman düzeylerinde belirgin artma olmaktadır [3]. Daflon (Daflon 500 mg, Servier Laboratuvarı, Fransa), %90 diosmin ve %10 hesperidinden oluşan flebotonik ve vasküloprotektör ajandır. Bu maddenin özellikle serum C3 ve C1q'ın aktivasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir [4].

Bu çalışma prospektif-kontrollü bir klinik çalışma olup, amacı preoperatif kullanılan daflonun, kardiyopulmoner bypass sırasında oluşan reperfüzyon hasarı ve kompleman aktivasyonu üzerine etkilerini tesbit etmektir.

Materyal ve Metod

Eylül 2001 - Aralık 2001 tarihleri arasında kliniğimizde kardiyopulmoner bypass kullanılarak açık kalp cerrahisi operasyonuna alınan ardışık 50 hasta Daflon (Grup 1) ve kontrol grubu (Grup 2) olarak 2 gruba ayrıldı. Bütün hastalara çalışma protokolü hakkında bilgi verildi. İzinleri alındı. Grup

1'in ortalama yaşı 59.6 ± 3.3 yıl olup, 10'u kadın, 15'i erkek toplam 25 hastadan oluşmakta idi ve hastalara preoperatif 7 gün boyunca oral 2 tablet/gün Daflon tablet (Daflon 500 mg Servier Laboratuvarlar, Fransa) verildi. Grup 2 ise kontrol grubu olup, ortalama yaşı 60.3 ± 2.9 yıl olan 11'i kadın 14'ü erkek 25 hastadan oluşmaktaydı. Konjestif kalp yetmezliği, peroperatif miyokard infarktüsü ve postoperatif renal yetmezliği olan olgular çalışmadan çıkarıldı.

Operasyon Prosedürü

Standart radyal, santral venöz ve Swan Ganz kateterleri preoperatif olarak yerleştirildi. Kalp hızı, ortalama pulmoner arter basıncı, pulmoner kapiller wedge basınç ve kardiyak output monitorize edildi.

Bütün hastalar orta derecede hipotermi (28°C) altında standart kardiyopulmoner bypass tekniği ile opere edildi. Her operasyonda monolight membran oksijenatör ve $+4^{\circ}\text{C}$ ısıda multidoz kristalloid antegrad kardiyopleji (St.Thomas Kardiyoplejik solusyon No 2) kullanıldı. $+4^{\circ}\text{C}$ ısıda soğuk serum fizyolojik ile topikal soğutma uygulandı.

Metabolik Çalışmalar

Preoperatif (venöz), aortik kros klemp (AKK) konduktan 20 dakika sonra (sağ atriyumdan), kros klemp kaldırıldıktan 20 dakika sonra (sağ atriyumdan) ve postoperatif 24 saat sonra (venöz) kan örnekleri alındı. Alınan örneklerde troponin I (TnI), serum kreatininkinaz MB (CK-MB) ve kompleman C3 düzeyleri ölçüldü. Kan örnekleri hemen $1700\text{g}'de$ 10 dakika santrifüj edildi. Serum troponin I seviyeleri enzim bağlı ticari bir kit (Chiron Diagnostics Corporation East Walpole, MA

Tablo 1. Tabloda her iki gruba ait klinik özellikler görülmektedir.

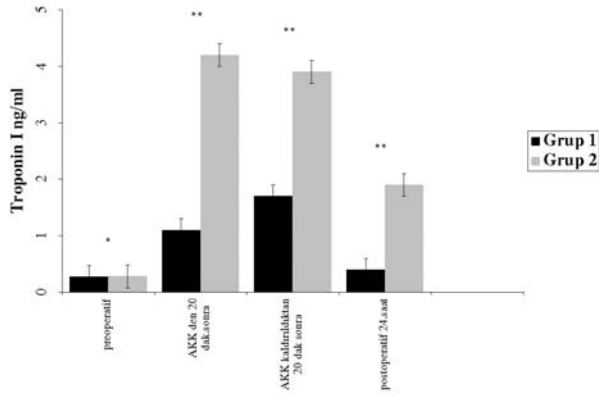
	Grup 1 (n = 25)	Grup 2 (n = 25)	P
Yaş yıl	59.6 ± 3.2	60.3 ± 2.9	> 0.05
Cins (Kadın/erkek)	10 / 15	11 / 14	> 0.05
KABG	16	17	> 0.05
MVR	9	8	> 0.05
EF	% 51.8 ± 4.4	% 52.3 ± 3.7	> 0.05
KPB süresi (dak)	71.8 ± 11	73.1 ± 13	> 0.05
AKK süresi(dak)	46 ± 9.8	48 ± 10.2	> 0.05
Preoperatif CI (L/dak/m ²)	2.24 ± 0.9	2.29 ± 0.5	> 0.05
Postoperatif CI (L/dak/m ²)	2.43 ± 1.1	2.38 ± 0.3	> 0.05

AKK = aort kros klemp; CI = kardiyak indeks; EF = ejeksiyon fraksiyonu; KABG = koroner arter bypass; KPB = kardiyopulmoner bypass; MVR = mitral kapak replasmanı

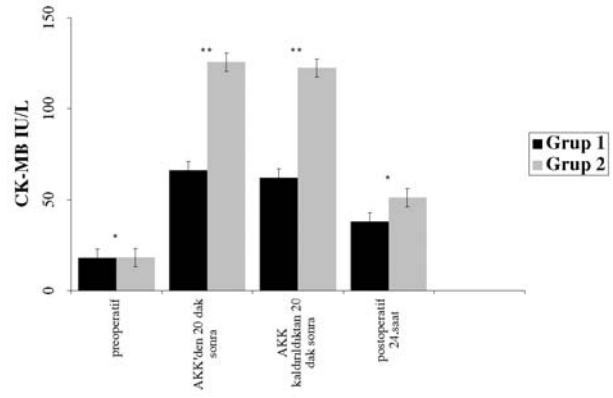
Tablo 2. Her iki gruba ait serum TnI, CK-MB ve C3 değerleri.

Çalışma Periodu	Grup 1			Grup 2		
	TnI (ng/mL)	CK-MB(IU/L)	C3 (g/L)	TnI (ng/mL)	CK-MB (IU/L)	C3 (g/L)
Preoperatif	0.27 ± 0.02	19.6 ± 1.1	1.3 ± 0.1	0.28 ± 0.01	19.1 ± 0.8	1.5 ± 0.3
AKK'den 20 dakika sonra	1.1 ± 0.3	66 ± 2.7	8.6 ± 0.1	4.2 ± 0.4	125.6 ± 4.7	3.6 ± 1.1
AKK kaldırıldıktan 20 dakika sonra	1.7 ± 0.2	62 ± 3.1	9.1 ± 0.8	3.9 ± 0.3	122.3 ± 6.1	4.5 ± 1.8
Postoperatif 24 saat sonra	0.4 ± 0.1	38 ± 2.1	1.6 ± 0.5	1.9 ± 0.3	51 ± 1.7	1.8 ± 0.6

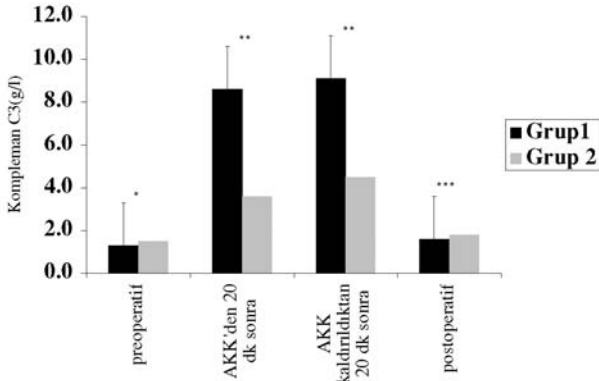
AKK = aort kros klemp; C3 = kompleman 3; CK-MB = kreatin kinaz-MB; TnI = troponin I



Şekil 1. Her iki grubun TnI karşılaştırması.
AKK = aortik kros klemp
(* $p > 0.05$, ** $p < 0.001$).



Şekil 2. Her iki gruba ait CK-MB düzeylerinin karşılaştırılması.
AKK = aortik kros klemp
(* $p > 0.05$, ** $p < 0.001$).



Şekil 3. Her iki gruba ait kompleman C3 düzeylerinin karşılaştırılması.
AKK = aortik kros klemp
(* $p > 0.05$, ** $p < 0.001$).

02032 ABD) ile ölçüldü. Aynı zamanda serum CK-MB aktivitelerine de bakıldı (Pointe Scientific CK-MB reagent, Alcyon 300 sistem, Abbot, ABD). Serum kompleman C3 seviyeleri ise nefelometrik metodla (Date Behring Merburg, Germany) ölçüldü [5].

İstatistiksel Analiz

Hazır istatistik programı olan SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL) ile bütün veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplar arasındaki kantitatif veriler için *Student t* testi ve iki yollu varyans analizi, kalitatif veriler için X^2 testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm SD olarak verildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Her iki grup arasında olguların genel özellikleri Tablo 1'de görülmekte olup, yaş, operasyon türü, kros klemp süresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo 2'de her iki gruba ait serum Tn I, CK-MB ve kompleman C3 değerleri görülmektedir.

Grup 1'de TnI seviyeleri kros klempden 20 dakika sonra, klempin kaldırılmasından 20 dakika sonra ve postoperatif 24 saat içinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.001$) (Şekil 1).

İki grubun preoperatif CK-MB düzeyleri arasında farklılık yoktu ($p > 0.05$). Grup 1'de AKK konduktan 20 dakika sonra, klemp kaldırıldıktan 20 dakika sonra ve postoperatif 24 saat sonraki CK-MB düzeyleri Grup 2'ye göre anlamlı olarak düşüktü bulundu ($p < 0.001$) (Şekil 2).

İki grubun preoperatif serum kompleman C3 düzeyleri arasında fark yoktu ($p > 0.05$). Grup 1'de AKK konduktan 20 dakika sonra ve klemp kaldırıldıktan 20 dakika sonra serum C3 değerleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksekti ($p < 0.001$). Postoperatif 24 saat sonraki C3 düzeyleri ise preoperatif değerlere inmişti ($p > 0.05$) (Şekil 3).

Tartışma

Kardiyopulmoner bypass ile yapılan açık kalp ameliyatları yaygın bir inflamatuvar reaksiyona neden olur. Postperfüzyon sendromu denilen bu tablo ekstrakorporeal dolaşımdaki yabancı maddelere karşı tüm vücutta oluşan inflamatuvar reaksiyondur [6]. Bu tabloda nötrofillerde değişiklikler olur, kompleman aktive olur, araziidonik asit metabolitleri ve serbest oksijen radikalleri gibi inflamatuvar mediatörler salınır [7,8]. Salınan bu mediatörler hücreyi etkileyerek hasara neden olur. Kalp cerrahisi sırasındaki reperfüzyon hasarını azaltmak için son birkaç yılda yeni farmakolojik ajanlar ve cerrahi teknikler geliştirilmeye çalışılmıştır. Buna rağmen reperfüzyon hasarının karışık patofizyolojisi tek bir yöntemin kullanımına şu ana dek izin vermemiştir.

Daflon 500 mg, bir tablette 450 mg diosmin ile 50 mg hesperidinden oluşan venoaktif, mikronize purifiye flavonoid fraksiyonudur [9]. Meyer [10] yaptığı hayvan çalışmalarında Daflon 500 mg'm, uzun dönem tedavide hemodinamik ve laboratuvar parametrelerini etkilemediğini, nadir yan etkiye sahip güvenli bir ilaç olduğunu göstermiştir. Cospite ve arkadaşları [11], Daflon 500 mg'ın kalp hızı ve kan basıncı gibi parametrelere olumsuz etkisi olmadığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda da iki grup arasında hemodinamik değişiklik ve yan etki görülmemiştir ($p > 0.05$). Barbe ve arkadaşları [12] iki

tablet Daflon 500 mg'ın oral alınmasını takiben birinci saatten itibaren etkisinin başladığını ve bunun 4. saatte daha da arttığını göstermişlerdir. Bir haftalık tedaviden sonra (iki tablet/gün), alınan MMF'nin etkisi takip eden 24 saat boyunca sürer. Bu nedenle 2 tablet/gün dozunda Daflon 500 mg kullandık.

Di Perri ve arkadaşları [13] yaptıkları çalışmada, Daflon tedavisini takiben C1q ve C3 fraksiyonlarının eşit derecede etkilediğini ve böylece hem alternatif, hem de klasik yol aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ancak bizim çalışmamız daflonun KPB sırasındaki kompleman aktivasyonu üzerine etkisiyle ilgili yapılmış bir çalışmadır. Alternatif kompleman aktivasyonu kompleman C3 fraksiyonu üzerinden, klasik yol aktivasyonu ise C1 üzerinden olmaktadır. Açık kalp cerrahisi sırasında özellikle alternatif yol kompleman aktivasyonu olmaktadır [15]. Protamin verilmesi sırasında gelişen antijen-antikor kompleksinde ise klasik yol aktivasyonu etkilidir [14]. Çalışmamızda kontrol grubunda KPB sırasındaki kompleman C3 düzeyleri düşük olarak tesbit edilmiş olup, daflon grubunda ise yüksek olarak bulunmuştur. Togashi ve arkadaşları [3] yaptıkları çalışmada KPB sırasında oluşan kompleman aktivasyonunu araştırmışlar ve KPB sırasında C3, C4 ve C3 aktivatör düzeyinde azalma olduğunu, ama aynı zamanda C3a, C4a ve C5a düzeylerinde ise artma olduğunu tesbit etmişlerdir. Bu sonuç Daflonun KPB sırasında oluşan alternatif kompleman aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir. Kontrol grubunda serum C3 seviyesinin azaldığı evrede serum troponin I değerleri yüksek, serum C3 değerlerinin yüksek olduğu daflon grubunda ise eşzamanlı TnI değerleri istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük olarak bulundu.

Açık kalp cerrahisi sırasında oluşan kardiyak hasarı troponin ve CK-MB gibi çeşitli enzim seviyelerini ölçerek tesbit edebiliriz. Kreatin kinaz MB intraoperatif ve postoperatif evrede operatif prosedüre bağlı kas hasarı sonucu ve birçok hücreyel olaydan etkilendiği için %100 özgül değildir, sonuçlarının dikkatli değerlendirilmesi gerekir [16]. Oysa troponin ölçümleri kardiyak hasarın belirlenmesinde oldukça duyarlıdır [17]. Troponin seviyeleri miyokardiyal hasarın başlangıcından birkaç saat sonra artmaya başlar ve birkaç gün yüksek kalır [18]. Chocron ve arkadaşları [19], TnI salınımının iskemik hasarın miktarı ile uyumlu olduğunu göstermişlerdir. Serum troponin I miyokardiyal hasarı belirlemede troponin T'den daha özgüldür [20]. Bu nedenle çalışmamızda Daflonun iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini belirlemek için TnI değerlerini araştırdık. Çalışmamızda hem TnI, hem de CK-MB seviyeleri Daflon verdiğimiz olgularda kontrol grubuna göre belirgin olarak düşüktü ($p < 0.001$).

Sonuç olarak biz bu çalışma ile preoperatif evrede kullanılan Daflon 500 mg'ın, alternatif yol kompleman aktivasyonunu inhibe ederek kardiyopulmoner bypass sırasındaki reperfüzyon hasarını azalttığını tesbit ettik. Ancak daflonun reperfüzyon hasarını azaltıcı etkisinde araşidonik asit ve antioksidan enzimler üzerine etkileride rol oynuyor olabilir. Bu nedenle yapılacak farklı çalışmalarla bunun açıklanmasının faydalı olacağı inancındayız.

Kaynaklar

1. Stangl V, Baumann G, Stangl K, et al. Negative inotropic released from the heart after myocardial ischaemia-reperfusion. *Cardiovascular Research* 2002;53:12-30.
2. Williams FM. Neutrophils and myocardial reperfusion injury. *Pharmacol Ther* 1996;72:1-12.
3. Togashi K, Moro H, Nakazawa E, et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass: Mechanism and prevention. *Kyobu Geka* 1989;42:529-32.
4. Labrid C, Duhault J, Vix C. Propriétés pharmacologiques des Daflon 500mg. *J Int Med* 1987;85:30-6.
5. Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E, Grover-Paez F, et al. Serum complement C3e concentration in non-obese young insulin-resistant Mexicans. *Diabetes Nutr Metab* 2002;15:256-9.
6. Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med* 1986;12:1-7.
7. Casey LC. Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann Thorac Surg* 1993;56:92-6.
8. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ, et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1992;53:833-8.
9. Bertrand M, Genissel P, Francois-Bouchard M, et al. Absorption de la diosmine chez le lapin: Interet de la micronization. *Arteres et Veines* 1992;11:163-8.
10. Meyer O. Safety of use of Daflon 500 mg confirmed by acquired experience and new research. *Phlebology Suppl* 1992;2:64-8.
11. Cospite M, Cospite V. Treatment of haemorrhoids with Daflon 500 mg. *Phlebology* 1992;13:53-6.
12. Barbe R, Amiel M. Pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy of Daflon 500 mg. *Phlebology* 1992;4:41-4.
13. Di Perri T, Auteri A. Action of S5682 on the complement system. In vivo and in vitro studies. *Int Angiol* 1988;7:11-5.
14. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, et al. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Surg* 1983;86:845-57.
15. Cho PW, Gillinov AM, Zehr KJ, et al. Neutrophil activation mediates protamine-induced pulmonary hypertension. *J Surg Res* 1993;54:486-93.
16. Apple SF. Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase-MB. *Clinica Chimica Acta* 1999;284:151-9.
17. Mair P, Mair J, Seibt I, et al. Cardiac troponin T: A new marker of myocardial tissue damage in bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1993;7:674-8.
18. Mair J, Dienst F, Puschendorf B. Cardiac troponin T in diagnosis of myocardial injury. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992;29:31-57.
19. Chocron S, Alwan K, Yan Y, et al. Warm reperfusion and myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1998;66:2003-7.
20. Lofberg M, Tahtela R, Harkonen M, Somer H. Cardiac troponins in severe rhabdomyolysis. *Clin Chem* 1996;42:1120-1.