

## Effect of Pentoxifylline on Platelet - Activating Factor Production in Acute Limb Ischemic - Reperfusion Injury

Daf Juzar, Manoefris Kasim, Nani Hersunarti, RWM Kaligis

**Background.** In Acute limb ischemia reperfusion causes further damage to the ischemic tissue through local compartment syndrome, and systemic syndrome: multiorgan dysfunction and failure. Several method and attempt had been studied and performed to prevent and attenuate reperfusion injury such as, ischemic preconditioning, antioxidant, and anti-cytokine therapy, but their clinical benefit were not satisfactory. Pentoxifylline (PTX) a nonspesifik phosphodiesterase derivate of xanthine has emerged as a promising agent that may attenuate inflammation response through several mechanism. However, studies on PTX and its function to prevent and attenuate inflammation response through attenuating Platelet-Activating Factor (PAF) in acute limb ischemic were not consistent. The aim of this study is to investigate the effect of PTX on PAF in rabbits with acute limb ischemic-reperfusion injury.

**Methods and results.** Acute limb Ischemia were performed by direct occlusion of the left femoral artery of 10 New Zealand White male rabbit using non traumatic clamp, and followed by releasing the clamp after 3 hours of occlusion. The rabbits were randomly separated into 2 groups of five (PTX group and control group). The PTX group was given PTX 40 mg/kg bolus half an hour prior to reperfusion, followed by maintenance dose 1 mg/kg/hour until 2 hour post reperfusion, while the control group was given normal saline solution with comparable volume and rate administration. Level of PAF were measured after 2.5 hour of ischemic period and after 2 hours of reperfusion period. After 2.5 hours of ischemic period, the mean PAF levels did not show any significant difference ( $p=0.754$ ), the mean PAF level of PTX group  $13.09 \pm 0.41$  pg/mL, while the control group  $13.38 \pm 0.28$  pg/mL. After 2 hours period of reperfusion, there were significant differences of mean PAF level between the two groups ( $p=0.009$ ). The mean PAF level in the control group increase by  $12.11 \pm 0.79$  to became  $25.5 \pm 0.78$  pg/dL, while the mean PAF level of the PTX group decrease by  $1.73 \pm 1.1$  pg/mL and became  $11.36 \pm 0.78$  pg/mL.

**Conclusions.** Pentoxifylline attenuate the production Platelet-Activating Factor level in rabbits with acute limb ischemic-reperfusion injury.

(J Kardiol Ind 2007;28:93-99)

**Keywords:** ischemic reperfusion injury, pentoxifylline, Platelet-Activating Factor

Department of Cardiology and Vascular Medicine, Faculty of Medicine, University of Indonesia National Cardiovascular Center "Harapan Kita", Jakarta, Indonesia

## Pengaruh Pemberian Pentoksifilin Terhadap Perubahan Kadar Platelets Activating Factor pada Cedera Reperfusi-Iskemik Tungkai Akut

Daf Juzar, Manoefris Kasim, Nani Hersunarti, RWM Kaligis

**Latar Belakang.** Pada iskemia tungkai akut, reperfusi menimbulkan cedera reperfusi iskemia yakni reaksi kompleks yang melibatkan inflamasi lokal berakibat sindroma kompartemen, maupun sistemik yang berdampak disfungsi hingga kegagalan multi organ. Platelets activating factors (PAF) sebagai mediator inflamasi pospholipid, mempunyai efek fisiologis yang poten dan beragam, sehingga meningkatkan respon inflamasi pada cedera reperfusi iskemik. Berbagai upaya untuk mencegah dan mengurangi cedera reperfusi iskemik antara lain penggunaan ischemic preconditioning, antioksidan dan terapi anti-sitokin telah di teliti, namun hasil dan manfaat klinisnya belum memuaskan. Pentoksifilin (Pentoxifyllin, PTX) phosphodiesterase nonspesifik derivat xanthine yang memperlihatkan efek penekanan inflamasi dan menghambat interaksi lekosit-endotel, bermanfaat untuk mencegah cedera reperfusi. Namun, hasil penelitian mengenai peran PTX dalam menekan reaksi inflamasi melalui penekanan PAF pada iskemia tungkai akut tidak konsisten. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek PTX dalam mengurangi cedera reperfusi melalui penekanan mediator inflamasi PAF, pada hewan coba kelinci dengan yang mendapat perlakuan reperfusi iskemia akut pada tungkai.

**Metode dan hasil.** Dilakukan tindakan iskemik tungkai kiri selama 3 jam yang kemudian diikuti reperfusi, pada 10 ekor kelinci putih jantan dari New Zealand. Tindakan Iskemik dilakukan dengan oklusi arteri iliaka komunis kiri menggunakan klem selama 3 jam, kemudian dilanjutkan dengan restorasi aliran darah. Kelinci ini dibagi secara acak menjadi 2 kelompok (kelompok PTX dan kelompok kontrol). Pada kelompok PTX diberikan PTX 30 menit sebelum reperfusi dengan dosis awal bolus 40 mg/kgBB diikuti dengan dosis rumatan 1 mg/kg BB/jam hingga 3 jam periode reperfusi. Pada kelompok kontrol diberikan cairan garam fisiologis dengan kecepatan dan volume yang sebanding. Pengambilan sampel untuk pemeriksaan kadar PAF dilakukan pada 2,5 jam iskemik dan pada 2 jam reperfusi. Pada periode iskemik 2,5 jam, tidak ada perbedaan bermakna ( $p=0,754$ ) antara kedua kelompok, kadar rerata PAF pada kelompok PTX  $13,09 \pm 0,41$  pg/mL dan kelompok kontrol  $13,38 \pm 0,28$  pg/mL. Pada jam ke dua tindakan reperfusi, ditemukan perbedaan bermakna ( $p=0,009$ ); kadar rerata PAF dari kelompok PTX turun menjadi  $11,36 \pm 0,78$  pg/mL sedangkan kelompok kontrol justru meningkat menjadi  $25,5 \pm 0,78$  pg/dL.

**Kesimpulan.** PTX menekan laju peningkatan kadar PAF plasma kelinci yang mengalami cedera reperfusi iskemia tungkai akut.

**Kata Kunci:** *cedera reperfusi iskemik, pentoksifilin, platelets activating factors*

---

### Alamat korespondensi:

Daf Juzar, Manoefris Kasim, Nani Hersunarti, RWM Kaligis  
Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular, Fakultas  
Kedokteran Universitas Indonesia, Pusat Jantung Nasional, Harapan  
Kita, Jakarta.

Cedera reperfusi iskemik (CRI) merupakan eksaserbasi paradoks, yang mengakibatkan disfungsi dan kematian sel. Mekanisme ini terjadi bila aliran darah ke jaringan yang sebelumnya mengalami iskemia direstorasi.<sup>1</sup> Blaisdell melaporkan bahwa, revaskularisasi tungkai yang mengalami iskemia berat dan berkepanjangan justru mengakibatkan angka mortalitas dan amputasi yang

tinggi. Studi deskriptif yang mengevaluasi pasien dengan iskemia berat pada tungkai bawah, yang paralisis, hilang rasa dan *mottle* kebiruan, menunjukkan mortalitas 85% setelah menjalani revaskularisasi.<sup>2</sup> Kejadian ini mencerminkan sindroma reperfusi, yakni timbulnya reaksi inflamasi di tungkai bawah yang cukup hebat, sehingga tidak saja berdampak pada organ lokal tetapi juga organ-organ sistemik, terutama sistem kardio-pulmonal.<sup>3</sup> Platelets-Activating Factors (PAF) sebagai mediator inflamasi berperan penting dalam memperberat respon inflamasi. Respon inflamasi ini mengakibatkan kerusakan jaringan dan komplikasi lokal berupa sindroma kompartemen, serta kematian jaringan otot (rabdomyolisis).

Respon inflamasi yang berlebihan dapat mengakibatkan disfungsi organ distal dan komplikasi sistemik berupa asidosis, hiperkalsemia, syok hipovolemia, disfungsi multi-organ terutama sistem kardiopulmonal, bahkan pada skenario terburuk terjadi kegagalan multi-organ.<sup>4</sup>

CRI diawali oleh serangkaian proses meliputi: pelepasan sitokin proinflamasi, tumor nekrosis faktor alfa (TNF- $\alpha$ ), *interleukin* (IL), mediator inflamasi (PAF), dan aktivasi komplemen yang berakibat pembentukan radikal bebas oksigen (RBO), disfungsi endotel dan mikrovaskular serta infiltrasi neutrofil (*polimorfo nuclear leucocyte* (PMNL) di daerah yang mengalami cedera.<sup>5</sup>

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa, derajat cedera otot bervariasi tergantung lama dan beratnya iskemia.<sup>2</sup> Iskemia selama 15 sampai 90 menit sudah cukup untuk memperlihatkan perubahan patologis yang bermakna. Risiko CRI semakin besar sebanding dengan lama dan beratnya iskemia.<sup>1,6</sup> Terkait mekanisme yang mendasari CRI pada otot skelet, Blaisdell mengajukan konsep bahwa leukosit yang menstimulasi pembentukan RBO berperan penting pada proses tersebut.<sup>2,6</sup> Namun demikian, mekanisme pasti yang mendasari CRI pada otot skelet masih belum jelas.<sup>7</sup>

PAF pada CRI merupakan mediator interaksi selular dan molekular antara inflamasi dan thrombosis. Aktivitas biologis PAF berupa generasi reactive oxygen species (ROS), melalui aktivasi leukosit, interaksi leukosit-endotel, pelepasan mediator inflamasi, yang meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, dan aktivasi dari trombosit. Sehingga PAF memicu inflamasi dan bersama mediator lainnya memperberat respon inflamasi, disamping itu juga memicu kaskade koagulasi serta sistem komplemen.<sup>8</sup> PAF telah terbukti berperan penting dalam CRI di miokard, PAF mempengaruhi

luasnya daerah infark dan penurunan kontraktilitas miokard. Pada percobaan binatang pemberian analog PAF dosis tinggi telah mengakibatkan hipotensi, edema paru karena kebocoran endotel, dan reaksi inflamasi disertai kegagalan multi-organ.<sup>9</sup> Peningkatan kadar PAF yang menyertai CRI juga ditemukan oleh Adam dkk dan Silver dkk.<sup>10,11</sup> Terbukti pula bahwa, pemberian anti-PAF telah memperlihatkan efek proteksi terhadap nekrosis jaringan pada CRI mukosa gaster.<sup>12</sup> Namun, penelitian pemberian anti-PAF pada CRI yang terjadi di miokard *canine*, gagal mengurangi perluasan daerah infark.<sup>13</sup>

Upaya mencegah dan mengatasi progresivitas CRI sampai saat ini belum memperlihatkan hasil yang memuaskan. *Ischaemic preconditioning*, terapi anti oksidan (seperti penggunaan N-acetylcysteine, penyekat enzim konversi angiotensin, manitol, *iron-chelating compounds*, katalase, allopurinol, *superoxide dismutase*, vitamin E dan penyekat saluran kalsium), penggunaan filter leukosit pada mesin pintas kardiopulmonal dan terapi leukosit/anti sitokin merupakan beberapa modalitas terapi untuk maksud tersebut, namun bukti manfaat klinis pada manusia masih sangat terbatas.<sup>14;15</sup>

PTX melalui potensi imunofarmakologis yang dimilikinya yakni menghambat transkripsi TNF- $\alpha$ , menetralkan ROS, menghambat produksi superoksida, menghambat aktivasi leukosit dan mencegah kerusakan endotel,<sup>16-18,19</sup> berpotensi memperbaiki CRI di berbagai organ.<sup>7,20</sup> PTX juga dapat mengurangi migrasi dari leukosit, tanda kardinal inflamasi beberapa model cedera pulmonal.<sup>21,22</sup> Namun, penelitian tentang pengaruh pemberian PTX untuk mengurangi CRI pada iskemia tungkai akut dan data-data ilmiah yang menunjang pemanfaatan PTX dalam praktek klinis untuk menekan dampak CRI di berbagai organ (termasuk otot skelet), masih sangat terbatas.<sup>20,23</sup> Demikian halnya penelitian tentang pengaruhnya terhadap produksi PAF. Atas dasar kenyataan tersebut diatas penelitian ini dilakukan, dengan tujuan menilai efek PTX dalam mencegah dan meringankan reaksi inflamasi melalui penekanan produksi PAF pada iskemia tungkai akut yang mengalami reperfusi.

## Subyek dan Metoda

### Persiapan Hewan Coba

Pada eksperimen ini digunakan sepuluh kelinci putih jantan dari *New Zealand* dengan berat badan 2,5-3 kg.

Dilakukan anastesi umum, dengan induksi menggunakan ketamin dosis 10 mg/kg berat badan intra muskular, diikuti pemberian gas anastesi inhalasi isofluran dosis 4 cc/jam dan N<sub>2</sub>O dosis 1cc/menit. Selama prosedur, hewan coba bernafas spontan menggunakan endotracheal tube yang di-hubungkan ke sirkuit ventilasi. Tanda vital dipantau dengan pemantau tanda vital (frekwensi pernapasan, frekwensi nadi, EKG dan saturasi perifer). Selama prosedur berlangsung, subjek penelitian bernafas spontan, kedalaman anastesi dipertahankan dengan pemberian isofluran dosis 0,8 - 1 cc/jam, N<sub>2</sub>O dosis 0,8 cc/menit serta oksigen 2 - 4 cc/menit. Saturasi oksigen dipertahankan di atas 90%, suhu dipertahankan pada 36 - 37°C (dengan memakai meja pemanas), frekuensi nadi 150-260 kali/menit dan pernapasan pada 60 - 80 kali/menit.

Dalam anastesi umum, dilakukan persiapan akses vena sentral dan oklusi arteri femoralis sinistra. Akses Vena jugularis interna dilakukan dengan teknik *seldinger* menggunakan kateter lumen tunggal berukuran Fr 6. Iskemik tungkai akut dilakukan dengan mengklem arteri femoralis sinistra yang diidentifikasi secara langsung, menggunakan 2 klem atraumatik. Reperfusi dilakukan dengan melepas kedua klem. Seluruh perlakuan terhadap hewan coba dalam penelitian ini telah merujuk kepada Protokol Etik Penelitian Menggunakan Hewan Coba dari Institut Pertanian Bogor.

### Protokol Eksperimen

Fase iskemik dimulai dengan oklusi arteri femoralis sinistra selama 3 jam dan fase reperfusi selama 2 jam dimulai saat klem dilepas. Hewan coba dibagi secara acak menjadi 2 kelompok, masing-masing menjalani prosedur yang sama. Pada kelompok A, pentoksifilin 40mg/kg bolus diberikan 30 menit sebelum direperfusi, dilanjutkan dosis rumatan 1 mg/kg hingga fase reperfusi selesai. Pada kelompok B, diberikan cairan garam fisiologis dengan jumlah dan kecepatan yang sama. Pengambilan sampel darah dilakukan 2 kali, yaitu fase iskemik 30 menit sebelum reperfusi, dan fase reperfusi, 2 jam setelah reperfusi.

### Pengambilan Darah

Sampel darah diambil melalui akses vena sentral yang telah dipasang saat persiapan. Diaspirasi 2 ml darah dan dimasukkan ke dalam tabung/*vacutainer* berukuran 3 ml, dan didiamkan pada suhu kamar 15 -30 menit atau sampai darah beku. Selanjutnya darah disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Serum yang

diperoleh, segera dikumpulkan dalam *sample cup* (masing-masing sebanyak 0,5-1 ml), ditutup rapat dan diberi identitas. Serum dibekukan pada -70°C untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar PAF.

### Pengukuran kadar PAF

Pemeriksaan kadar PAF dilakukan secara tidak langsung, di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Yang diukur adalah kadar PAF-AH. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa PAF adalah satu-satunya mediator yang meningkatkan PAF-AH, dan peningkatan PAF disertai peningkatan PAF-AH.<sup>24</sup> Pemeriksaan PAF dilakukan secara tidak langsung metoda *radioimmuno assay* kadar PAF-AH menggunakan *Cayman Chemical PAF Acetyl Hydrolase Assay Kit* secara kuantitatif in vitro. *Assay* ini menggunakan 2-thio PAF sebagai substrat. Hasil hidrolisis ikatan acetyl thioester pada posisi sn-2 oleh PAH-AH berupa thiols bebas yang dideteksi secara radioimmunoassay dengan panjang gelombang 405 nm dan diukur dalam satuan pg/ml.

### Analisa Statistitik

Analisis data dilakukan dengan program perangkat lunak komputer program SPSS 10.5. Data-data numerik disajikan dengan rerata  $\pm$  *standard error mean (SEM)*. Uji non parametrik menggunakan *Wilcoxon Signed Rank test* untuk uji pre dan post tiap kelompok, dan nilai rerata antar kelompok saat iskemia dan reperfusi menggunakan *Mann Whitney U Test*. Tingkat statistik dianggap bermakna jika  $p$  kurang dari 0.05

### Penelitian

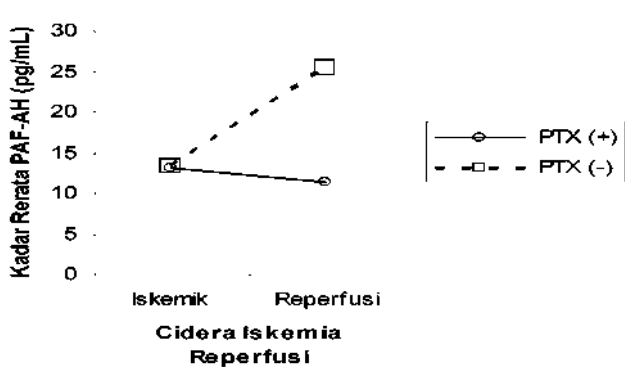
Hasil penelitian rerata kadar PAF-AH pada tiap kelompok perlakuan di tabulasi pada tabel 1. Setelah tindakan iskemia tungkai selama dua setengah jam, tidak ada perbedaan bermakna pada nilai rerata kadar PAF-AH kedua kelompok ( $P= 0.754$ ); kelompok PTX ( $13.09 \pm 0.41$  pg/mL) dan kelompok kontrol ( $13.38 \pm 0.28$  pg/mL). Namun, dua jam pasca reperfusi, ditemukan perbedaan bermakna ( $P=0,009$ ) antara kadar rerata PAF - AH dari kelompok PTX ( $11.36 \pm 0.78$  pg/mL) dan kelompok kontrol ( $25.5 \pm 0.78$  pg/mL). Bila dibandingkan perubahan kadar rerata PAF-AH pada kedua kelompok terlihat perbedaan yang bermakna ( $p=0.009$ ); pada kelompok PTX berkurang  $-1.73 \pm 1.11$  pg/ml, sedangkan kelompok kontrol meningkat sebesar

12.11 ± 1.79 pg/ml (tabel 1 dan gambar 1).

Pada kelompok PTX penurunan kadar rerata PAF-AH plasma kelinci dua jam pasca reperfusi sebesar -1.73 ± 1.11 pg/ml (dari 13.09 ± 0.41 pg/mL menjadi 11.36±0.78 pg/mL), secara statistik tidak bermakna (p=0.22). Sedangkan pada kelompok kontrol peningkatan kadar rerata PAF-AH sebesar 12.11 ± 1.79 pg/ml (dari 13.38 ± 0.28 pg/mL menjadi 25.5±0.78 pg/mL), secara statistik bermakna (p=0.04) (tabel 2).

## Pembahasan

Penentuan jumlah kelinci percobaan lima setiap kelompok, mengacu pada *guidelines for the design and*



Gambar 1. Pengaruh pemberian PTX terhadap rerata kadar PAF-AH plasma kelinci antar kelompok perlakuan.

Tabel 1. Pengaruh tindakan iskemik dan reperfusi terhadap kadar rerata PAF-AH plasma kelinci pada kedua kelompok.

Tindakan	Rerata ± SEM		P
	Kelompok PTX (n = 5)	Kelompok Kontrol (n=5)	
Iskemik	13.09 ± 0.41	13.38 ± 0.62	0.754
Reperfusi	11.36 ± 0.78	25.5 ± 0.78	0.009
Delta	-1.73 ± 1.1	12.11 ± 1.79	0.009

keterangan : \* secara statistik bermakna (p < 0.05)

Tabel 2. Pengaruh tindakan iskemik dan reperfusi terhadap kadar PAF-AH plasma kelinci pada tiap kelompok perlakuan.

Kelompok Perlakuan	Rerata ± SD		P
	Iskemik	Reperfusi	
Kelompok A	13.09 ± 0.93	11.364 ± 1.8	0.225
Kelompok B	13.38 ± 0.62	25.490 ± 1.74	0.04

keterangan : \* secara statistik bermakna (p < 0.05)

*statistical analysis* yang dikeluarkan oleh jurnal *Institute of laboratory for animal research (ILAR)-National Academy of Science*.<sup>25</sup>

Pada penelitian ini dilakukan iskemia selama 3 jam, dengan harapan telah terjadi iskemia yang cukup berat untuk menimbulkan respon inflamasi secara sistemik, namun tidak sampai terjadi nekrosis. Hal ini didasarkan atas laporan sebelumnya bahwa, derajat cedera reperfusi bergantung pada luasnya daerah iskemia, dan jaringan yang telah mengalami nekrosis sebelum reperfusi tidak akan menghasilkan reaksi inflamasi. Blaisdell melaporkan bahwa, otot skeletal tahan terhadap iskemia maksimal 4 jam, selanjutnya akan terjadi nekrosis.<sup>2;26</sup>

Pengambilan sample pada jam kedua reperfusi karena sesuai laporan sebelumnya bahwa kenaikan kadar PAF tertinggi pada menit ke sepuluh dan bertahan hingga minimal 1 jam. Hasil memperlihatkan bahwa pada pre-reperfusi, rerata kadar PAF-AH pada kelompok PTX dan kelompok kontrol tidak ada perbedaan bermakna, 13.09 ± 0.41 dan 13.38 ± 0.28 secara respektif (p= 0,754). Setelah reperfusi kelompok PTX memperlihatkan penurunan rerata kadar PAF-AH dibanding saat iskemia, walaupun perbedaan ini tidak bermakna. Namun bila perbedaan pre-reperfusi dan pasca-reperfusi pada kelompok PTX dibandingkan dengan kelompok kontrol, maka terlihat perbedaan yang bermakna (p=0.009); pada kelompok kontrol rerata kadar PAF-AH meningkat sebesar 12.11 ± 1.79) pg/mL. Jadi, dengan pengukuran tidak langsung PAF menggunakan RIA PAF-AH pada in-vitro, pentoxifylline terbukti dapat menekan produksi PAF yang berperan untuk menstimulasi PAF-AH. Hasil penelitian ini sesuai dengan penemuan Silver dkk., yang juga memperlihatkan manfaat pentoksifilin dalam menekan produksi PAF dan memperkecil daerah nekrosis.<sup>27</sup> Potensi pentoksifilin dalam memperbaiki CRI skeletal, yang didasarkan pada penilaian disfungsi endothelial, memperlihatkan hasil yang positif.<sup>5</sup> Penelitian Black dkk. penggunaan anti-PAF (WEB-2086) pada hewan coba *canine* dengan CRI di miokard, telah gagal memperlihatkan manfaat anti-PAF dalam membatasi area nekrosis. Hal ini menunjukkan adanya kontroversi, sehingga kemudian timbul pertanyaan: apakah PAF mempunyai peran yang berbeda pada setiap organ, ataukah ada multi mediator dalam proses CRI?<sup>13</sup> Hasil penelitian kami secara nyata memperlihatkan manfaat pentoksifilin dalam mencegah kenaikan PAF-AH pada CRI skeletal. Meskipun kami menyadari keterbatasan bahwa,

metoda pengukuran yang kami gunakan bukan pengukuran secara langsung. Akan tetapi ada pendapat bahwa, pengukuran secara langsung justru mempunyai kelemahan, karena lipid pada plasma dan membran akan mengacaukan peng-ukuran PAF (fosfolipid). Masalah kedua kadarnya yang sangat rendah pada darah. Shinozaki melaporkan bahwa, untuk mengukur PAF tidak ada prosedur pemeriksaan yang memuaskan baik dari segi sensitivitas dan reproduktivitas maupun kesederhanaannya. Ia menganjurkan untuk mengekstrasi PAF dengan cara pengeringan menggunakan aliran nitrogen, baru kemudian dilakukan sentrifugasi, atau dilakukan pengukuran langsung di venula eferen menggunakan metoda *scintillation proximity assay method*.<sup>10,28</sup> Mengingat keterbatasan laboratorium dan karena penelitian ini dilakukan berkelompok, maka kami melakukan pemeriksaan secara tidak langsung. Berpedoman pada laporan terdahulu bahwa, PAF melalui reseptor PAF merupakan satu-satunya mediator yang meningkatkan PAF-AH, sehingga peningkatan PAF akan selalu disertai peningkatan PAF-AH.<sup>24</sup> Telah diuraikan pula peran penting PAF terhadap aktivasi dan migrasi leukosit. Silver dkk melaporkan pemberian pentoksifilin sesaat sebelum reperfusi, yang dapat menurunkan produksi PAF dan nekrosis otot. Pemberian reseptor antagonis PAF (WEB-2086) sesaat sebelum reperfusi, juga terbukti memperkecil daerah nekrosis.<sup>11</sup>

Keuntungan penelitian ini dilakukan berkelompok, sehingga petanda inflamasi lainnya juga diperiksa oleh kelompok peneliti lain. Sesuai dengan hipotesanya, Saputra membuktikan bahwa terdapat peningkatan yang bermakna dari infiltrasi leukosit pada jaringan paru kelompok placebo akibat CRI pada tungkai bawah, sedangkan pada kelompok pentoksifilin peningkatannya tidak bermakna.<sup>29</sup> Peneliti menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan infiltrasi leukosit di jaringan paru yang letaknya jauh dari daerah cedera reperfusi. Penemuan ini konsisten dengan hasil penelitian kami, bahwa pada keadaan tersebut telah terjadi peningkatan PAF. Jadi, pemberian pentoksifilin telah meringankan komplikasi cedera reperfusi, dinilai dari efek perubahan mediator inflamasi PAF dan infiltrasi leukosit yang lebih rendah. Pada kelompok peneliti kami, pengaruh pentoksifilin terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan mediator inflamasi pada CRI tungkai akut, memperlihatkan hasil yang konsisten dengan PAF.<sup>30</sup>

Dengan pengetahuan yang ada saat ini dapat diasumsikan bahwa pada penelitian ini peningkatan

PAF diikuti dengan peningkatan PAF-AH dan penurunan PAF diikuti pula oleh penurunan PAF-AH, seperti yang telah dilaporkan oleh Cao dkk.<sup>24</sup>

Manfaat penelitian ini memberikan informasi bahwa, pemberian pentoksifilin tiga puluh menit pra-reperfusi dapat mencegah kenaikan kadar mediator inflamasi PAF. Penemuan ini melengkapi manfaat serupa dari pentoksifilin terhadap TNF- $\alpha$ , dan infiltrasi leukosit pada jaringan lokal maupun sistemik yang telah dibuktikan oleh peneliti lain pada subyek yang sama. Mengingat pentoksifilin mudah didapat, cukup aman, harganya pun relatif terjangkau dan cara pemberiannya sederhana, maka perlu dipertimbangkan penggunaannya dalam klinis.

## Kesimpulan

Penelitian ini membuktikan bahwa, pentoksifilin dapat menekan laju peningkatan kadar PAF pada plasma kelinci dengan cedera reperfusi-iskemik tungkai akut.

Disarankan untuk melakukan penelitian dalam jumlah yang lebih besar, terutama untuk mengetahui waktu, dosis dan lamanya pemberian pentoksifilin, agar efek pencegahan atau penekanan terhadap CRI dapat diperoleh secara maksimal. Penelitian lebih lanjut berupa uji klinis juga perlu dilakukan.

## Daftar Pustaka

1. Khanna A, Cowled PA, Fitridge RA. Nitric oxide and skeletal muscle reperfusion injury: current contro-versies (research review). *J Surg.Res.* 2005;128:98-107.
2. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc.Surg.* 2002;10:620-30.
3. Defraigne JO, Pincemail J. Local and systemic consequences of severe ischemia and reperfusion of the skeletal muscle. *Physiopathology and prevention. Acta Chir Belg.* 1998;98:176-86.
4. Matuschak GM. Multi Organ system Failure : Clinal Expression, Pathogenesis, and Therapy, In: Tak PP, Firestein GM, editors. *General Management of Patient.* New York: Springer-Verlag; 2001. p. 221-47.
5. Coe DA, Freischlag JA, Johnson D, Mudaliar JH, Koscienza SA, Traul DK *et al.* Pentoxifylline prevents endothelial damage due to ischemia and reperfusion injury. *J.Surg.Res.* 1997;67:21-25.
6. Odeh M. The role of reperfusion-induced injury in the pathogenesis of the crush syndrome. *N.Engl.J Med*

- 1991;324:1417-22.
7. Kishi M, Tanaka H, Seiyama A, Takaoka M, Matsuoka T, Yoshioka T *et al.* Pentoxifylline attenuates reperfusion injury in skeletal muscle after partial ischemia. *Am.J.Physiol* 1998;274:H1435-H1442.
  8. Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis. *Crit Care Med* 2002;30:S294-S301.
  9. Montrucchio G, Alloatti G, Camussi G. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev* 2000;80:1669-99.
  10. Adams JG, Jr., Dhar A, Shukla SD, Silver D. Effect of pentoxifylline on tissue injury and platelet-activating factor production during ischemia-reperfusion injury. *J.Vasc.Surg.* 1995;21:742-48.
  11. Silver D, Dhar A, Slocum M, Adams JG, Jr., Shukla S. Role of platelet-activating factor in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *Adv.Exp.Med.Biol.* 1996; 416:217-21.
  12. Iwai A, Itoh M, Yokoyama Y, Yasue N, Miyamoto T, Joh T *et al.* Role of PAF in ischemia-reperfusion injury in the rat stomach. *Scand.J.Gastroenterol.Suppl* 1989;162: 63-66
  13. Black SC, Driscoll EM, Lucchesi BR. Inhibition of platelet-activating factor fails to limit ischemia and reperfusion-induced myocardial damage. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 1992;20:997-1005.
  14. Eltzhig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br.Med.Bull.* 2004;70:71-86.
  15. Clark SC, Rao JN, Flecknell PA, Dark JH. Pentoxifylline is as effective as leukocyte depletion for modulating pulmonary reperfusion injury. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 2003;126:2052-57.
  16. Freitas JP, Filipe PM. Pentoxifylline. A hydroxyl radical scavenger. *Biol.Trace Elem.Res.* 1995;47:307-11.
  17. Coe DA, Freischlag JA, Johnson D, Mudaliar JH, Kosciesza SA, Traul DK *et al.* Pentoxifylline prevents endothelial damage due to ischemia and reperfusion injury. *J Surg.Res.* 1997;67:21-25.
  18. Doherty GM, Jensen JC, Alexander HR, Buresh CM, Norton JA. Pentoxifylline suppression of tumor necrosis factor gene transcription. *Surgery* 1991;110:192-98.
  19. Sullivan GW, Carper HT, Novick WJ, Jr., Mandell GL. Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infect.Immun.* 1988;56:1722-29.
  20. Muller JM, Vollmar B, Menger MD. Pentoxifylline reduces venular leukocyte adherence ("reflow paradox") but not microvascular "no reflow" in hepatic ischemia/reperfusion. *J.Surg.Res.* 1997;71:1-6.
  21. Chapelier A, Reignier J, Mazmanian M, Detruit H, Dartevelle P, Parquin F *et al.* Pentoxifylline and lung ischemia-reperfusion injury: application to lung trans-plantation. Universite Paris-Sud Lung Transplant Group. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 1995;25 Suppl 2:S130-S133.
  22. Chapelier A, Reignier J, Mazmanian M, Dulmet E, Libert JM, Dartevelle P *et al.* Amelioration of reperfusion injury by pentoxifylline after lung transplantation. The Universite Paris-Sud Lung Transplant Group. *J.Heart Lung Transplant.* 1995;14:676-83.
  23. Kishi M, Tanaka H, Seiyama A, Takaoka M, Matsuoka T, Yoshioka T *et al.* Pentoxifylline attenuates reperfusion injury in skeletal muscle after partial ischemia. *Am.J.Physiol* 1998;274:-H1435-H1442.
  24. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Expression of platelets activating factor acetyl hydrolase is transcriptionally regulated by mediator inflammation. *J.Biol.Chem.* 1998;273:4012-20.
  25. Michael F, Festing W, Altman GD. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR journal* 2002;43:244-58.
  26. Aktan AO, Yalcin AS. Ischemia Reperfusion Injury, Reactive Oxygen Metabolites, and the Surgeon. *Turk J Med* 1997;28:1-5.
  27. Silver D, Dhar A, Slocum M, Adams JG, Jr., Shukla S. Role of platelet-activating factor in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *Adv.Exp.Med.Biol.* 1996;416:217-21.
  28. Shinozaki K, Kawasaki T, Kambayani J, Sakon M, Shiba E, Uemura Y *et al.* A New Method of purification and sensitive bioassay of PAF in Human whole blood. *Life Sci* 1994;54:429-37.
  29. Saputra A. Pengaruh pemberian pentoxifylline terhadap perubahan histopatologi pada cedera iskemik-reperfusi tungkai akut. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia 2005.
  30. Heriansyah T. Pengaruh pemberian pentoxifylline terhadap perubahan kadar *Tumor necrotic factor alpha* pada cedera iskemik-reperfusi tungkai akut. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2005.