

PENGARUH PEMBERIAN PENTOKSIFILIN TERHADAP PERUBAHAN KADAR TUMOR NEKROSIS FAKTOR-ALFA PADA CEDERA REPERFUSI-ISKEMIK TUNGKAI AKUT

Teuku Heriansyah

Abstrak. Komplikasi tindakan revaskularisasi pasca suatu periode iskemik semakin penting dalam praktek klinis dewasa ini. Reperfusi pada jaringan iskemik menimbulkan repon inflamasi lokal dan sistemik kompleks yang bermuara pada peningkatan kerusakan jaringan. Banyak bukti ilmiah menunjukkan tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) berperan penting dalam patogenesis cedera reperfusi-iskemik (R-I) di berbagai organ, termasuk otot skelet. Upaya mencegah dan mengatasi progresivitas cedera R-I sampai saat ini belum memperlihatkan hasil yang memuaskan. Salah satu obat yang memberikan harapan untuk mencegah cedera R-I adalah pentoksifilin (PTX) melalui potensi anti inflamasinya. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa pemberian PTX mengurangi cedera R-I pada hewan coba kelinci dengan R-I tungkai akut. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan melakukan tindakan iskemik total tungkai kiri selama 3 jam yang diikuti 3 jam periode reperfusi pada 12 ekor kelinci New Zealand White jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok (A, B dan C) secara acak. PTX dengan dosis 40 mg/kg BB yang diikuti dosis rumatan 1 mg/kg BB/jam mulai diberikan 2,5 jam periode iskemik pada kelompok A, sementara cairan garam fisiologis diberikan dengan kecepatan yang sama pada kelompok B. Kelompok C sebagai kontrol negatif. Tindakan R-I dilakukan dengan oklusi dan reperfusi pangkal arteri iliaka komunis sinistra. Kadar TNF- α diperiksa pada 2,5 jam iskemik dan pada 2 jam reperfusi. Pada periode iskemik, didapatkan kadar rerata TNF- α kelompok A 103.66 ± 39.20 pg/ml, rerata kelompok B 149.66 ± 67.23 pg/ml, sementara pada periode reperfusi kadar rerata kelompok A 496.33 ± 97.37 pg/ml dan rerata kelompok B 881.66 ± 164.50 pg/ml. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar rerata TNF- α diantara kedua kelompok pada periode iskemik ($p = 0.222$). Terjadi peningkatan bermakna kadar rerata TNF- α pada tiap kelompok perlakuan dari periode iskemik ke reperfusi ($p = 0.001$). Pemberian PTX pada kelompok A mampu menekan secara bermakna peningkatan kadar TNF- α saat reperfusi sebesar 392.66 ± 114 pg/ml dibanding kelompok B ($p = 0.015$). Disimpulkan bahwa PTX menurunkan kadar TNF- α plasma kelinci dengan cedera R-I tungkai akut. (JKS 2012; 2: 90-98)

Kata kunci : Cedera reperfusi-iskemik tungkai akut, pentoksifilin, TNF- α

Abstract. Nowadays, the importance of revascularization complication after an ischemic period in clinical practice has grown. Reperfusion of an ischemic tissue causes complex local and systemic inflammation response leading to increase in tissue damage. Many studies has shown that Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) plays a major role in the pathogenesis of ischemic reperfusion (I-R) injury in various organs, including skeletal muscle. Until now, efforts to prevent and to suppress the progressivity of I-R injury has not been satisfying. One promising drug for the prevention or I-R injury through its anti-inflammatory effect is Pentoxifylline (PTX). Therefore we studied the effect of PTX on I-R injury in rabbits with acute limb I-R marked by TNF- α level. This study was an animal experimental study using twelve male New Zealand White rabbits. The rabbits were divided randomly within 3 groups (A,B, and C). All of the animals experienced total ischemia of the left limb for 3 hours followed by 3 hours of reperfusion period. Group A were given 40 mg/BW PTX followed with 1 mg/BW/Hour maintenance dose. The drug was given after 2.5 hours of ischemia. Rabbits assigned to group B were given normal saline and group C were negative control. I-R were conducted by occluding and reperfusion proximal of the left common iliac artery. Level of TNF- α were measured after 2.5 hours of ischemia and after 2 hours of reperfusion. The mean level of TNF- α in the ischemic period were : 103.66 ± 39.20 pg/ml (group A) and 149.66 ± 67.23 pg/ml (group B), while in the reperfusion period the mean level of TNF- α were 496.33 ± 97.37 pg/ml (group A) and 881.66 ± 164.50 pg/ml (group B). There were no significant difference of TNF- α level in both groups in the ischemic period ($p = 0.222$). Significant increase of the mean TNF- α were seen in both experimental groups from the ischemic to the reperfusion period. PTX in group A significantly suppresses the TNF- α increase while reperfusion as much as 392.66 ± 114 pg/ml compared to group B ($p = 0.015$). It was concluded that the administration of PTX decreased the TNF- α level in rabbits with acute limb I-R injury. (JKS 2012; 2: 90-98)

Keywords : Acute limb ischemic-reperfusion injury, pentoxifylline, TNF- α

Teuku Heriansyah adalah Dosen Bagian Kardiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala/RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh

Pendahuluan

Komplikasi tindakan revaskularisasi pasca suatu periode iskemik mulai menjadi perhatian kalangan medis sejak awal abad ke-20 dan semakin memperlihatkan kepentingan klinis di berbagai organ dan kondisi klinis dalam dua dekade terakhir.¹ Kemajuan teknologi kedokteran dewasa ini telah memungkinkan untuk melakukan reperfusi jaringan sedini mungkin guna mencegah kerusakan dan kematian jaringan yang luas, namun ternyata tindakan reperfusi itu sendiri dapat menimbulkan cedera jaringan melebihi pada keadaan iskemik sendiri.^{2,3,4} Bukti-bukti ilmiah menunjukkan bahwa reperfusi pada daerah iskemik berkaitan dengan serangkaian perubahan patologis yang berakhir pada kerusakan menetap terhadap organ yang berkenaan maupun organ sistemik lainnya (*systemic organ dysfunction*).^{3,5} Kerusakan selular pasca reperfusi pada jaringan iskemik yang viabel dikenal sebagai cedera reperfusi iskemik (R-I).⁶ Terapi fibrinolitik, angioplasti koroner, bedah vaskular, transplantasi organ, pintas kardiopulmoner dan *aortic cross clamping* berkaitan erat dengan resiko terjadinya cedera R-I.³ Reperfusi pada jaringan iskemik menimbulkan respon inflamasi lokal dan sistemik dengan konsekuensi terjadinya serangkaian proses diantaranya pelepasan sitokin pro inflamasi (seperti tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) dan *interleukin* (IL)), aktivasi komplemen, pembentukan radikal bebas oksigen (RBO), disfungsi endotel dan mikrovaskular serta infiltrasi neutrofil (*polimorfo nuclear leucocyte* (PMNL)) di daerah yang mengalami cedera.⁷ Sitokin (TNF- α dan IL-1) berperan sangat penting dalam patofisiologi kerusakan jaringan pada cedera R-I.^{8,9} Beberapa penelitian terakhir memperlihatkan keterlibatan TNF- α dalam patogenesis cedera R-I diberbagai jaringan. Erikson JM melaporkan peran sentral TNF- α pada cedera R-I di sel otot jantung. Kadar TNF- α tampak meningkat bermakna pada menit pertama reperfusi setelah 1 jam periode iskemik pada sediaan jantung tikus.

Peningkatan pembentukan TNF- α ini berkorelasi langsung dengan gangguan mekanik pada miokard dan jumlah sel yang nekrosis pasca R-I.¹⁰ Sementara Yassien dkk menemukan peningkatan respon inflamasi sistemik (peningkatan bermakna TNF- α dan IL-6) dan disfungsi multi organ pada cedera R-I tungkai bawah.¹¹ TNF- α diketahui memacu aktivasi faktor transkripsi genetik *nuclear factor- κ B* (NF- κ B) pasca iskemik yang diikuti induksi gen *intercellular adhesion molecule type 1* (ICAM-1), perlekatan serta migrasi PMNL. Sebagai hasil akhir proses ini adalah pelepasan substansi berbahaya (seperti RBO, leukotrien dan sitokin) serta enzim litik yang berakibat kerusakan jaringan lebih lanjut pada periode reperfusi.^{8,12,13} Otot skelet memiliki keunikan tersendiri terkait dengan fenomena cedera R-I yang masih belum banyak diketahui. Cedera R-I pada otot skelet dapat terjadi pasca revaskularisasi iskemik tungkai akut, pelepasan klem aorta selama rekonstruksi vaskular, pelepasan *tourniquets* saat bedah ortopedi serta pada *crush injury*.¹⁴ Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa derajat cedera otot bervariasi tergantung lama dan beratnya iskemik.¹⁵ Iskemik selama 15 sampai 90 menit telah cukup untuk memperlihatkan perubahan patologis yang bermakna dengan resiko cedera R-I yang semakin besar seiring semakin lama dan beratnya iskemik.¹⁶ Terkait mekanisme yang mendasari cedera R-I pada otot skelet, Blaisdell mengutarakan konsep bahwa leukosit yang menstimulasi respon inflamasi (dimediasi oleh sitokin dan aktivasi komplemen) dan pembentukan RBO berperan penting pada proses tersebut.^{4,15} Namun demikian, mekanisme pasti yang mendasari cedera R-I pada otot skelet masih belum jelas.¹⁴ Upaya mencegah dan mengatasi progresivitas cedera R-I sampai saat ini belum memperlihatkan hasil yang memuaskan. *Ischaemic preconditioning*, terapi anti oksidan, penyekat saluran kalsium dan terapi leukosit/anti sitokin merupakan beberapa modalitas terapi untuk maksud tersebut, namun bukti

manfaat klinis pada manusia masih sangat terbatas.^{2,3,17}

Pentoksifilin (*Pentoxifylline* (PTX)) yang merupakan suatu penekak *Phosphodiesterase* (PDE) non spesifik turunan *xanthine*, melalui beberapa penelitian dasar terkini memperlihatkan potensi memperbaiki cedera R-I di berbagai organ.^{5,14,18,19} PTX melalui potensi imunofarmakologis yang dimilikinya memperlihatkan efek penekanan pada respon inflamasi sistemik terutama dengan menekan pembentukan sitokin (TNF- α), faktor transkripsi genetik NF- κ B, *nuclear factor of activated T-cell* (NFAT) serta ICAM-1.²⁰⁻²¹ PTX menghambat NF- κ B pada level perubahan cAMP/cGMP (meningkatkan kadar cAMP intraselular dengan menstimulasi cAMP dan protein kinase A(PKA)) bersamaan dengan penghambatan pemecahan dari I κ B- α yang merupakan penghambat utama dari NF- κ B dalam sitosol.²⁰⁻²¹ Namun demikian, data-data ilmiah yang menunjang pemanfaatan PTX dalam praktek klinis guna menekan dampak cedera R-I di berbagai organ (termasuk otot skelet) masih sangat terbatas dan masih memerlukan kajian lebih lanjut.^{6,14,18} Dengan alasan itulah maka peneliti melakukan penelitian pada kondisi R-I tungkai akut yang diberikan pengobatan PTX.

Peneliti berharap pemberian PTX menurunkan kadar TNF- α pada hewan coba kelinci dengan R-I tungkai akut. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa pemberian PTX mengurangi kadar TNF- α pada hewan coba kelinci dengan R-I tungkai akut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang peranan PTX sebagai salah satu jenis terapi yang potensial dalam mengurangi cedera R-I.

Bahan dan Metode

Bentuk penelitian

Bentuk penelitian ini adalah penelitian eksperimental (desain paralel kelompok independen) dengan hewan coba kelinci (ras *New Zealand white Rabbit*/NZW).

Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Pusat Jantung Nasional Harapan Kita bekerja sama dengan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 12 ekor kelinci ras NZW jantan yang dibagi secara acak menjadi kelompok A (diberi PTX) dan kelompok B (diberi NaCl 0,9%) masing-masing berjumlah 5 ekor kelinci serta 2 ekor kelinci sebagai kontrol negatif (kelompok C). Penentuan jumlah ulangan pada tiap kelompok sebenarnya berdasarkan rumus Federer,²² didapatkan jumlah ulangan minimal adalah 9 ekor untuk tiap kelompok. Namun demikian, berkaitan dengan tingkat kesulitan prosedur eksperimen, jumlah hewan coba untuk tiap kelompok dapat ditetapkan lebih sedikit dari jumlah ulangan minimal di atas.^{7,23-24} Pada penelitian ini ditetapkan jumlah sampel 5 ekor kelinci NZW tiap kelompok.

Bahan Penelitian

1. Kelinci jantan dari ras NZW yang berasal dari 1 galur (*in breeding*) sebanyak 12 ekor usia 5 bulan dengan berat badan rata-rata 2,5–3 kg. Bibit hewan diperoleh dari Peternakan PT. Bio Farma Bandung.. Pemeliharaan sampai dengan waktu pelaksanaan penelitian dilakukan di Balai Penelitian Ternak Departemen Pertanian Ciawi Bogor.
2. Pentoksifilin (Trental® sediaan intravena, produksi PT. Aventis Pharma).
3. Cairan garam fisiologis (natrium klorida 0,9%, produksi PT. Otsuka Indonesia).
4. Ketamin (Ketalar®, sediaan intravena produksi PT. Pfizer Indonesia)
5. Gas anestesi (isofluran dan *nitrous oxide* (N₂O)) berikut sirkuit anestesi inhalasi

6. *Endotracheal tube* (ETT) ukuran 2,5 sampai 3
7. Meja pemanas
8. Monitor tanda vital (monitor elektrokardiografi (EKG), laju nadi, laju pernapasan, saturasi oksigen perifer dan temperatur tubuh)
9. Kateter vena lumen tunggal, ukuran Fr 6 (Arrow®)
10. Instrumen bedah (*Minor Set*)
11. *Syringe pump* berikut *manometer line*
12. Oksigen 100%

Cara Kerja

Prosedur eksperimen meliputi :

Persiapan Hewan Coba

Dilakukan pencukuran bulu sampai bersih di *regio colli*, seluruh *thorax* dan *abdomen* (sampai *regio inguinalis dextra et sinistra*), *regio ekstremitas inferior sinistra* (sampai dengan *regio tibialis anterior distal*) serta *regio digiti I pedis dextra*. Dilakukan penimbangan berat badan hewan coba (dalam satuan kilogram).

Tindakan Pembedahan dan Monitoring Tanda Vital

Dilakukan induksi anestesi (di atas meja operasi) dengan menggunakan ketamin (dosis 10 mg/kg berat badan intra muskular) diikuti pemberian gas anestesi inhalasi (isofluran dosis 4 cc/jam dan N₂O dosis

1 cc/menit) bersamaan dengan pemberian oksigen dosis 4 cc/menit melalui sungkup muka. Setelah hewan coba dalam sedasi, dilakukan tindakan trakeostomi dan pemasangan ETT nomor 2,5-3 dan dihubungkan ke sirkuit anestesi inhalasi. Selanjutnya dilakukan pemasangan perangkat pemantauan tanda vital selama prosedur (frekuensi nadi, EKG, frekuensi pernapasan, suhu tubuh dan saturasi oksigen perifer) melalui pemasangan elektroda EKG dan temperatur di *regio thorax* dan *abdomen* serta *pulse oksimeter* di *digiti I pedis dextra*.

Selama prosedur berlangsung, subjek penelitian bernapas spontan, kedalaman

anestesi dipertahankan dengan pemberian isofluran (dosis 0,8-1 cc/jam), N₂O (dosis 0,8 cc/menit) serta oksigen (dosis 2-4 cc/menit). Saturasi oksigen dipertahankan di atas 90%, temperatur dipertahankan pada 36-37°C (dengan pemakaian meja pemanas), frekuensi nadi 150-260 kali/menit dan pernapasan pada 60-80 kali/menit.

Tindakan Pembedahan

Tindakan pembedahan meliputi pemasangan akses vena sentral dan laparotomi serta oklusi *arteri iliaka komunis sinistra*. Pemasangan akses vena sentral (guna pengambilan sampel darah dan jalur pemberian obat/cairan) dilakukan pada vena *jugularis interna sinistra* dengan teknik *seldinger* menggunakan kateter lumen tunggal berdiameter Fr 6. Laparotomi dilakukan di *regio abdomen* tengah (*midline*) sepertiga kaudal guna mengidentifikasi *arteri iliaka komunis sinistra*. Selanjutnya dilakukan tindakan oklusi pangkal *arteri iliaka komunis sinistra* dengan menggunakan 2 buah klem arteri atraumatik. Iskemik tungkai akut dipastikan dengan hilangnya pulsasi arteri, tampak membiru dan teraba dingin di distal dari tempat pemasangan klem. Klem dipasang selama 3 jam (periode iskemik) dan dibuka secara hati-hati pada akhir jam ke-3 untuk dimulainya periode reperfusi.

Prosedur Pemberian Obat/Cairan

Pada kelompok A, PTX mulai diberikan setelah 2,5 jam periode iskemik (beberapa saat setelah pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan TNF- α pertama) dengan dosis 40 mg/kg berat badan (bolus dalam 20 menit) diikuti dosis rumatan 1 mg/kg berat badan/jam sampai dengan 3 jam periode reperfusi. Kelompok B diberikan cairan NaCl 0,9% dengan kecepatan yang sama.

Variabel penelitian

Sebagai variabel terikat penelitian ini adalah kadar TNF- α , sedangkan variabel bebas adalah pemberian PTX

Pengambilan Data dan Pemeriksaan Kadar TNF- α

Data kadar TNF- α diambil 1 kali pada 2,5 jam periode iskemik kemudian dilanjutkan 1 kali pada 2 jam periode reperfusi. Dua ml darah kelinci diambil di vena *jugularis interna sinistra* melalui kateter vena sentral menggunakan spuit 5 cc secara hati-hati untuk mencegah lisis. Segera setelah diaspirasi, darah dipindahkan ke tabung/*vacutainer* biasa 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 TNF- α .

Analisis kuantitatif kadar TNF- α menggunakan metode *The Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA) menggunakan *anogen TNF ELISA kit* secara kuantitatif in vitro, dibaca pada ELISA reader (BIORAD 550) dengan panjang gelombang 450 nm dan diukur dalam satuan pg/ml.

Analisis Statistik

Data-data numerik disajikan dengan rerata $\pm$ simpang baku. Untuk membandingkan nilai rerata antara periode iskemik dan reperfusi dilakukan dengan *paired t-test*, sementara untuk membandingkan beda rerata antara kelompok A dengan B dilakukan dengan *independent t-test*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak komputer program STATA (*statistic data analysis*) 7.

Hasil

Karakteristik subjek yang diteliti dapat dilihat pada tabel 1 di bawah, tampak variabel berat badan tidak berbeda bermakna antara kelompok A dan B ($p=0.073$), sehingga kedua kelompok dianggap homogen.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Variabel	Rerata $\pm$ SD		
	Kelompok A (n = 5)	Kelompok B (n=5)	Kelompok C (n=2)
Berat badan	2.80 $\pm$ 0.07	2.68 $\pm$ 0.11	3.00 $\pm$ 0.00

Keterangan : n mengekspresikan jumlah hewan coba

Pada tabel 2 di bawah dapat dilihat pengaruh tindakan iskemik dan reperfusi terhadap kadar rerata TNF- α plasma kelinci pada tiap kelompok perlakuan, yang menunjukkan bahwa pada kelompok A dan B terlihat peningkatan bermakna kadar TNF- α plasma kelinci dari periode iskemik ke periode reperfusi. Peningkatan kadar rerata TNF- α plasma kelinci dari periode iskemik ke periode reperfusi tampak lebih besar pada kelompok B.

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

Kelompok Perlakuan	Rerata $\pm$ SD		p
	Iskemik	Reperfusi	
Kelompok A	103.66 $\pm$ 39.20	496.33 $\pm$ 97.37	
Kelompok B	149.66 $\pm$ 67.23	881.66 $\pm$ 164.50	0.001*
			0.001*

Keterangan : * secara statistik bermakna ($p < 0.05$)
SD = *standard deviation*

Perbandingan peningkatan kadar rerata TNF- α plasma kelinci antara kelompok A dengan B akibat tindakan R-I terlihat pada tabel 3 di bawah. Pada periode iskemik, tampak bahwa kadar rerata TNF- α plasma kelinci tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada kedua kelompok perlakuan. Pada periode reperfusi, kadar rerata TNF- α plasma kelinci kelompok B terlihat meningkat lebih tinggi dibanding kelompok A dan secara statistik berbeda bermakna ($p=0.002$).

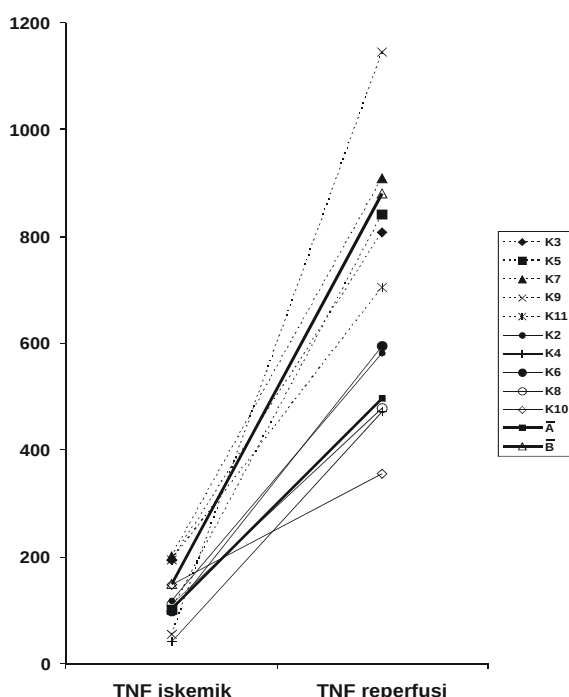
Pemberian PTX pada kelompok A mampu menekan peningkatan kadar rerata TNF- α plasma kelinci saat periode reperfusi sebesar 392.66 $\pm$ 114.53 pg/ml dan berbeda

bermakna secara statistik dibanding kelompok B yang meningkat sebesar 731.99 ± 219.22 pg/ml ($p=0.015$).

Tabel 3. Pengaruh tindakan iskemik dan reperfusi terhadap kadar rerata TNF- α plasma kelinci antar kelompok perlakuan

Tindakan	Rerata $\pm$ SD		p
	Kelompok A (n = 5)	Kelompok B (n=5)	
Iskemik	103.66 $\pm$ 39.20	149.66 $\pm$ 67.23	0.222
Reperfusi	496.33 $\pm$ 97.37	881.66 $\pm$ 164.50	0.002*
Delta	392.66 $\pm$ 114.53	731.99 $\pm$ 219.22	0.015*

Keterangan : * secara statistik bermakna ($p < 0.05$)
n mengekspresikan jumlah hewan coba



Gambar 1. Peningkatan kadar TNF- α plasma kelinci dari periode iskemik ke periode reperfusi pada tiap hewan coba dan kelompok perlakuan. Keterangan : K3, K5, K7, K9 dan K11 adalah hewan coba yang diberikan NaCl 0.9%. K2, K4, K6, K8 dan K10 adalah hewan coba yang diberikan PTX. A adalah rerata kadar TNF- α kelompok A [PTX (+)]. B adalah rerata kadar TNF- α kelompok B [PTX (-)]

Pembahasan

Telah dilakukan penelitian terhadap 12 ekor kelinci jantan NZW sesuai dengan kriteria penelitian. Pemilihan kelinci berkelamin jantan dalam penelitian ini untuk menghindari pengaruh hormon estrogen dari kelinci betina terhadap

struktur vaskular dan stres oksidatif.^{7,25-26}

Sementara alasan pemilihan kelinci dengan berat badan rata-rata 2,5–3 kg dalam penelitian ini adalah karena kelinci dengan kisaran berat badan tersebut telah dinyatakan dewasa.⁷ Seluruh perlakuan terhadap hewan coba dalam penelitian ini telah merujuk kepada Protokol Etik Penelitian Menggunakan Hewan Coba dari Institut Pertanian Bogor. Prosedur anestesi dan pembedahan hewan coba sesuai dengan protokol standar tindakan eksperimen bedah menggunakan hewan coba (protokol penelitian terlampir).^{7,14,27}

Sampai saat ini belum ada publikasi penelitian tentang pengaruh pemberian PTX terhadap kadar TNF- α dengan latar kondisi klinis R-I tungkai akut. Penggunaan PTX dalam penelitian ini didasarkan dari beberapa bukti ilmiah melalui penelitian menggunakan hewan coba yang menunjukkan potensi PTX dalam menurunkan dampak cedera R-I diberbagai organ dan kondisi klinis.²⁸⁻³¹

Berdasarkan karakteristik hewan coba (tabel 1), setelah masa pemeliharaan selama 4 bulan, secara statistik antara kelompok perlakuan (kelompok A) dan kelompok kontrol positif (kelompok B) memiliki berat badan rata-rata yang tidak berbeda bermakna sehingga dianggap homogen.

Pengaruh tindakan iskemik dan reperfusi terhadap kadar rerata TNF- α plasma kelinci pada tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 2. Tindakan R-I di tungkai kiri dengan melakukan oklusi dan reperfusi arteri iliaka komunis sinistra mengakibatkan peningkatan bermakna kadar rerata TNF- α plasma kelinci dari periode iskemik ke reperfusi pada kedua kelompok perlakuan. Kadar rerata TNF- α yang jauh lebih besar tampak pada periode reperfusi. Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa tindakan reperfusi pasca periode iskemik yang lama akan mengaktifkan respon inflamasi sistemik yang salah satunya ditandai dengan peningkatan kadar sitokin plasma (seperti TNF- α dan IL) yang jauh lebih besar dibandingkan respon inflamasi yang

ditimbulkan selama periode iskemik saja. Hal ini sesuai dengan temuan dari penelitian oleh Yassien dkk, terjadi peningkatan bermakna kadar TNF- α dan IL-6 plasma tikus dengan iskemik tungkai bilateral selama 3 jam yang diikuti reperfusi selama 1 jam dibandingkan nilai dasar (*baseline value*) atau tikus yang dilakukan tindakan iskemik saja.¹¹ Hal senada dilaporkan oleh Khimenko dkk, melalui penelitian R-I di paru-paru tikus, terjadi peningkatan kadar TNF- α plasma tikus yang jauh lebih besar pada periode reperfusi atau pemberian ventilasi selama periode iskemik dibandingkan hewan coba dengan perlakuan iskemik saja.³²

Pengaruh pemberian PTX terhadap kadar rerata TNF- α plasma kelinci dengan cedera R-I tungkai akut dapat dilihat pada tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol positif (kelompok B) terjadi peningkatan kadar rerata TNF- α plasma kelinci yang berbeda bermakna dari periode iskemik ke reperfusi dibanding kelompok yang diberikan PTX (kelompok A). Pemberian PTX pada kelompok perlakuan (Kelompok A) mampu menekan secara bermakna produksi TNF- α plasma kelinci dengan cedera R-I dibandingkan kelompok kontrol positif (kelompok B). Temuan penelitian ini mendukung beberapa bukti ilmiah terdahulu yang menyebutkan bahwa PTX mampu menekan dampak cedera R-I melalui penekanan respon inflamasi lokal dan sistemik, terutama melalui pembentukan sitokin pro inflamasi (seperti TNF- α dan IL) dan penekanan aktivasi faktor transkripsi genetik NF- κ B dan ekspresi ICAM-1.²⁰⁻²¹ Kemampuan PTX dalam menekan respon inflamasi melalui penekanan produksi TNF- α terlihat pada penelitian ini. Hal ini menguatkan beberapa hasil penelitian invitro sebelumnya. Chen dkk, menemukan bahwa PTX mampu menurunkan kadar TNF- α melalui penghambatan degradasi I- κ B α dan p65/NF- κ B *nuclear translocation*, sehingga menekan perubahan TNF- α menjadi bentuk protein aktif.³³⁻³⁷ Hal senada juga dilaporkan oleh Jimenez dkk, PTX

mencegah sekresi TNF- α oleh sel limfosit T melalui penghambatan NF- κ B dan NFAT.²¹ Penekanan peningkatan kadar TNF- α oleh PTX seperti pada penelitian ini diharapkan dapat memperbaiki derajat kerusakan jaringan akibat cedera R-I. Hal ini dibuktikan oleh Chen dkk melalui penelitian R-I pada ginjal tikus yang menemukan bahwa PTX mampu menekan kadar TNF- α , ICAM-1 dan MCP-1 serta sekaligus memperbaiki derajat kerusakan histologis membran basalis glomerulus ginjal dengan cedera R-I.³⁸ Namun demikian, hal yang berbeda dilaporkan oleh Modzelewski dkk melalui penelitian dengan model peritonitis difus pada tikus, PTX mampu menurunkan kadar TNF- α secara bermakna namun tidak memperbaiki derajat kerusakan jaringan dan prognosis.¹⁹ Berkaitan dengan model kondisi R-I tungkai akut pada penelitian ini, penekanan peningkatan kadar TNF- α plasma kelinci saat reperfusi dengan pemberian PTX dihubungkan dengan kemampuan PTX secara klinis dalam menurunkan derajat kerusakan jaringan otot skelet akibat cedera R-I tungkai akut. Hasil penelitian ini menyokong temuan Koe dan Kishi yang melaporkan PTX mampu menekan derajat kerusakan jaringan otot skelet akibat cedera R-I pada tungkai dengan mencegah kerusakan membran endotel, menekan edema jaringan, memperbaiki aliran darah di tungkai dan perlekatan serta infiltrasi leukosit pada model hewan coba dengan cedera R-I tungkai.^{7,14,39-40} Temuan penelitian ini berikut beberapa bukti ilmiah terdahulu menunjukkan bahwa peranan respon inflamasi yang melibatkan sitokin (TNF- α dan IL), *adhesion molecule* (ICAM-1 dan VCAM-1) serta leukosit PMN sangat penting dalam patogenesis cedera R-I pada otot skelet. Pemberian PTX yang berefek anti inflamasi terlihat memberikan manfaat dalam mengurangi kerusakan mikrovaskular dan jaringan otot.

Kesimpulan

Pentoksifilin menurunkan kadar TNF- α plasma kelinci dengan cedera reperfusi-iskemik tungkai akut.

Saran

Penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih besar perlu dilakukan untuk mengetahui manfaat pentoksifilin dalam mencegah cedera reperfusi-iskemik pada berbagai kondisi klinis, terutama untuk mengetahui waktu pemberian, dosis dan lamanya pemberian, baik pada hewan coba maupun pada manusia.

Daftar Pustaka

1. Lazarus B, Messina A, Barker J, Hurley J, Romeo R, Morrison W et al. The role of mast cells in ischaemiareperfusion injury in murine skeletal muscle. *J. Pathol.* 2000 : 191: 443-448
2. Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury : a review of the pathophysiology. clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol.* 1997. 58 : 95-117
3. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull.* 2007 : 75 : 71-86
4. Odeh M. The role of reperfusion induced injury in the pathogenesis of the crush syndrome. *N. Engl. J Med.* 2006. 333 : 1417-1422
5. Kelly KJ. Distant effects of experimental renal ischaemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol.* 2003. 14 : 1549-1558
6. Al-Mehdi AB, Fisher AB. Invited editorial on "tumor necrosis factor- α in ischaemia and reperfusion injury in rat lungs." *Am. J Physiol.* 2008. 108 : 2003-2004
7. Coe DA, Freischlag JA, Johnson D. Pentoxifylline prevents endothelial damage due to ischaemia and reperfusion injury. *J Surg. Res.* 2007 : 77 : 21-25
8. Kupatt C, Habazett H, Goedecke A. Tumor necrosis factor alpha contributes to ischaemia and reperfusion-induced endothelial activation in isolated heart. *Circ Res.* 2003 : 93: 392-400
9. Chan KL. Role of nitric oxide in ischaemia and reperfusion injury. *Pediatric Surg.* 2006 : 322 : 2495-2503
10. Erikson JM, Freeman GL, Chandrasekar B. Ultrasound-targeted antisense oligo-nucleotide attenuates ischaemia/reperfusion-induced myocardial tumor necrosis factor – alpha. *J Mol Cell Cardiol.* 2003 : 35 : 119-130
11. Yassien HM, Harkin DW, Barros DA, Halliday MI, Rowlands BJ. Lower Limb ischaemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg.* 2002. 26 (1) : 431-432
12. Gurevitch J, Frolkis I, Yuhas Y. Anti-tumor necrosis factor-alpha improves myocardial recovery after ischaemia and reperfusion. *J Am Coll Cardiol.* 2005. 36 : 1554-1561
13. Gurevitch J, Frolkis I, Yuhas Y. Tumor necrosis factor alpha is released from the isolated heart undergoing ischaemia and reperfusion. *J. Am Coll Cardiol.* 2006. 38 : 247-252
14. Kishi M, Tanaka H, Seiyama A, Takaoka M, Matsuoka T, Yoshioka T et al. Pentoxifylline attenuates reperfusion injury in skeletal muscle after partial ischaemia. *Am J. Physiol.* 1998 : 274 : 1435-1442
15. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischaemia and the reperfusion syndrome : a review. *Cardio-vasc Surg.* 2002. 10 (6) : 620-630
16. Appel HJ, Glöser S, Soares JM, Duarte JA. Structural alterations of skeletal muscle induced by ischaemia and reperfusion. *Basic Appl Myol.* 2004. 13 (5) : 263-268
17. Flaherty JT, Pitt B, Gruber JW, Heuser RR, Rothbaum DA, Burwell LR. Recombinant human superoxide dismutase (h-SOD) fails to improve recovery of ventricular function in patients undergoing coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circulation.* 1994 : 89 : 1982-1991
18. Muller JM, Vollmar B, Merger MD. Pentoxifylline reduces venular leucocyte adherence ("reflow paradox") but not microvascular "no reflow" in hepatic ischaemia/reperfusion. *J Surg Res.* 2007 : 87 : 1-6
19. Modzelewski B, Juniak A. Pentoxifylline as cyclooxygenase (cox-2) inhibitor in experimental sepsis. *Med Sci Monit.* 2004 : 10 (7) : BR 233-237
20. Haddad JJ, Land SC, William O. Immuno-pharmacological potential of selective phosphodiesterase inhibition. Evidence for the involvement of an inhibitory- κ B/Nuclear Factor- κ B-sensitive

- pathway in alveolar epithelial cells. *Pharmacology*. 2002 : 300 (2) : 567-576
21. Jimenez JL, Punzon C, Navarro J, Fernandez MA, Fresno M. Phosphodiesterase inhibitors prevent cytokine secretion by T lymphocytes by inhibiting nuclear factor- κ B and nuclear factor of activated T cells activation. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001. 299 (2) : 753-759
 22. Kusmana D. Pengaruh penyuntikan kombinasi hormon testosteron enantat (TE) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) terhadap spermatogenesis beruk jantan (macaca namestrina) yang diberi pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda, disertasi program pasca sarjana. Universitas Indonesia. 2001
 23. Wresdiyati T, Lelana RP, Adnyane IKM, Noor K. Immunohistochemical study of superoxide dismutase in liver of alloxan diabetes mellitus macaques. *Hayati*. 2003. 10 (2) : 61-65
 24. Dell RB, Holleran S, Ramakrishnan R. Sample size determination. *ILAR Journal*. 2010. 53 (4) : 1-11
 25. Wirianta J. Pemberian teh hijau menurunkan kadar high sensitivity Creactive protein sebagai petanda inflamasi pada kelinci yang diberi diet aterogenik. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2004
 26. Purnawan I. Pengaruh pemberian teh hijau terhadap aterosklerosis pada aorta kelinci dengan diet aterogenik. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2003
 27. Kato R, Foex P. Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia reperfusion injury : an update for anesthesiologists. *Can J Anesth*. 2002 : 49 (8) : 777-791
 28. Chapelier AJ, Reignier M, Mazmanian H, Detruit P, Darteville F, Parquin J et al. Pentoxifylline and lung ischemia-reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005 : 35 : S 130-S 133
 29. Nakagawa K, Miller FN, Knott AW, Edwards MJ. Pentoxifylline inhibits FMLP-induced macromolecular leakage. *Am J Physiol*. 2007. 279 : 239-245
 30. Reignier JM, Mazmanian M, Detruit H, Chapelier AJ. Reduction of ischemic-reperfusion injury by pentoxifylline in isolated rat lung. *Am J. Respir Crit. Care Med*. 2008. 170 : 342-347
 31. Skjeldal S, Hvaal K, Nordsletten L, Aasen O, Raikeras O, Torvik A. Pentoxifylline reduces skeletal muscle necrosis after acute hindlimb ischemia in rats. *Eur Surg Res*. 2009 : 36 : 96-100
 32. Khimenko PL, Baghy GJ, Fuseler J, Taylor AE. Tumor necrosis factor- α in ischaemia and reperfusion injury in rat lungs. *J. Appl Physiol*. 2008 : 95 (6) : 2005-2011
 33. Elbim C, Lefebvre M, Hakim J, Gougerot MA. Effects of pentoxifylline of human polymorphonuclear neutrophil responses to TNF in whole blood. *Eur cytoline Netw*. 2007 : 8 (2) : 113-120
 34. Chen YM, Tu CJ, Hung KY. Inhibition by pentoxifylline of TNF- α -Stimulated fractalline production in vascular smooth muscle cells : evidence for mediation by NF- κ B down-regulation. *Br J Pharmacol*. 2003 : 138 : 950-958
 35. Hohenberger P, Latz E, Kettelhack C. Pentoxifylline attenuates the systemic inflammatory response induced during isolated limb perfusion with recombinant human tumor necrosis factor- α and melphalan. *Am Surg Oncol*. 2003 : 10 : 562-568
 36. Baldwin AS. The transcription factor NF- κ B and human disease. *J Clin Invest*. 2008. 117 : 3-6
 37. Tak PP, Firestein GS. NF- κ B a key role in inflammatory disease. *J Clin Invest*. 2008. 117 : 7-11
 38. Chen YM, Ng YY, Lin SL, Chiang WC, Lan HY, Tsai TJ. Pentoxifylline suppresses renal TNF- α and ameliorates experimental renal reperfusion in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2004 : 19 :1106-1115
 39. Alloatti G, Penna C, Mariano F, Camussi G. Role of NO and PAF in the impairment of skeletal muscle contractility induced by TNF- α . *Am J Physiol Regulatory integrative Comp Physiol*. 2010 : 379 : R 2156- R 2163
 40. Knight K, Shinkel TA, Cowan PJ, Romeo R, d'Apice A, Morrison WA. Transgenic expression of human complement regulators reduces skeletal muscle ischemia/reperfusion injury in mice. *Clin Science*. 2005 : 108 : 47-53