

PENELITIAN

Pengaruh Lidokain Intravena Terhadap Kadar *Superoxide Dismutase I (SODI)* Dan Gambaran Histopatologi Jantung Kelinci Pada *Myocardial Ischemic Reperfusion Injury Model*

Effect of Intravenous Lidocaine on Superoxide Dismutase 1 (SODI) Level and Rabbit's Myocardial Histopathology on Myocardial Ischemic Reperfusion Injury Model

Haris Lutfi*✉, Widya Istanto N*, Moh. Sofyan H*

* RS Keluarga Sehat, Margorejo, Pati

**Bagian Anestesi dan Terapi Intensif FK Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang.

✉Korespondensi/*Correspondence*: hrsautad@yahoo.com

ABSTRACT

Background : *Ischemic reperfusion injury (IRI) is the tissue damage caused by the return of blood supply to the tissue after a period of ischemia or lack of oxygen. One treatment option to prevent tissue injury is to enhance the natural antioxidants that are inside the cell such as superoxide dismutase (SOD).*

Aim : *Proving the effect of intravenous lidocaine on levels of superoxide dismutase 1 (SODI) and the description of a rabbit's myocardial histopathology on myocardial ischemic reperfusion injury models.*

Methods : *This research includes laboratory experimental design with post-test only controlled group. This study uses 16 local male rabbits, aged 1-2 years and weigh 1,5-2,5 kg. The study used two groups: control group (KK) consisting of 8 rabbits were given treatment of myocardial ischemic reperfusion injury, Treatment group (KP) comprises 8 rabbits get treatment of myocardial ischemic reperfusion injury and given 2% lidocaine i.v at a dose of 1.5 mg/kg/h continuously from the beginning to the end of the procedure. SODI levels checked using the ELISA method while histopathological tissue examined using a microscope and then the result is calculated using linear regression equation.*

Results : *SODI levels p value = 0.009. for $p < 0.05$ it can be concluded there is a significant difference between control and treatment groups. For a description of histopathology p value = 0.323, because $p > 0.05$ it can be concluded there is no significant difference between control and treatment groups. Conclusion: There are significant differences in the levels of SODI heart rabbit myocardial ischemic reperfusion injury given lidocaine compared to rabbits which did not receive lidocaine. As for the description of histopathology are no significant differences in*

myocardial ischemic reperfusion injury of rabbits given lidocaine compared to rabbits which did not receive lidocaine.

Keywords : *Ischemic reperfusion injury (IRI), Lidocaine, Superoxide dismutase 1 (SOD1)*

ABSTRAK

Latar Belakang: *Ischemic reperfusion injury (IRI) adalah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kembalinya pasokan darah ke jaringan setelah periode iskemia atau kekurangan oksigen. Salah satu pilihan terapi untuk mencegah cedera jaringan adalah dengan meningkatkan antioksidan alami yang berada di dalam sel seperti superoxide dismutase (SOD).*

Tujuan : *Membuktikan pengaruh lidokain intravena terhadap kadar Superoxide Dismutase 1 (SOD J) dan gambaran histopatologi jantung kelinci pada myocardial ischemic reperfusion injury model.*

Metode : *Penelitian menggunakan 16 ekor kelinci lokal jantan, berumur 1 - 2 tahun, berat badan 1.5 - 2,5 kg. Penelitian menggunakan 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (KK) terdiri dari 8 ekor kelinci yang diberikan perlakuan myocardial ischemic reperfusion injury. Kelompok perlakuan (KP) terdiri 8 ekor kelinci mendapatkan perlakuan myocardial ischemic reperfusion injury dan diberikan lidokain 2% i.v dengan dosis 1.5 mg/kg/jam secara kontin>ii dari awal sampai akhir prosedur. Kadar SOD1 diperiksa dengan metode ELISA sedangkan histopatologi jaringan diperiksa menggunakan mikroskop kemudian hasilnya dihitung dengan persamaan regresi linier.*

Hasil : *Kadar SOD1 didapatkan nilai $p = 0,009$. karena $p < 0.05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk gambaran histopatologi didapatkan nilai $p = 0,323$, karena $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.*

Simpulan : *Terdapat perbedaan bermakna kadar SOD1 jantung kelinci pada myocardial ischemic reperfusion injury yang diberikan lidokain dibandingkan dengan kelinci yang tidak mendapat lidokain. Sedangkan untuk gambaran histopatologi terdapat perbedaan tidak bermakna pada kelinci myocardial ischemic reperfusion injw yang diberikan lidokain dibandingkan dengan kelinci yang tidak mendapat lidokain.*

Kata kunci: *Ischemic reperfusion injury (IRI), Lidokain, Superoxide Dismutase 1 (SOD1),*

PENDAHULUAN

Tindakan operasi memiliki risiko terjadinya stres akibat prosedur operasi ataupun tindakan anestesi. Oleh karena itu diperlukan proteksi organ perioperatif untuk mengurangi intensitas stres. Mekanisme stres perioperatif dapat disebabkan adanya hipoperfusi jaringan atau *ischemic reperfusion injury (IRI)* khususnya pada pasien dengan penyakit penyerta atau yang menjalani prosedur operasi dengan risiko tinggi seperti operasi jantung. " *Ischemic reperfusion injury (IRI)* adalah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kembalinya pasokan darah ke jaringan setelah periode iskemia atau kekurangan oksigen.¹⁴ Pada operasi jantung seperti *coronary artery bypass grafting (CABG)*, klem aorta lebih dari 100 menit atau yang menggunakan mesin *cardio pulmonary bypass (CPB)*, aliran darah koroner berhenti sementara kemudian dialirkan kembali, hal ini menyebabkan terjadinya IRI. Secara umum operasi jantung baik menggunakan CPB atau tanpa CPB akan terjadi perubahan mikrosirkulasi, dan anestesi memiliki peran penting pada perubahan ini.¹¹

Pada pasien yang menjalani operasi non kardiak sekitar 1 - 5 % mengalami infark miokard. Untuk

pasien dengan penyakit penyerta seperti diabetes mellitus, obesitas, hipertensi, hiperkolesterolemia, kejadian infark miokard perioperatif sampai 34 % dengan angka mortalitas mencapai 25 - 40%.^{5,6} Penatalaksanaan anestesi memegang peran penting dalam pencegahan dan terapi iskemia miokard perioperatif saat ini. Prinsip terapi iskemia miokard adalah segera mengembalikan perfusi pada jaringan iskemik. Namun, reperfusi sendiri dapat menginduksi kerusakan sel lebih lanjut akibat terbentuknya radikal bebas yang memicu terjadinya stres oksidatif terutama pada awal terjadinya reperfusi.

Intervensi sebelum terjadinya iskemia miokard dan saat reperfusi dapat membantu mengurangi tingkat kerusakan iskemik dan cedera reperfusi lebih lanjut. Penggunaan obat anestesi tertentu merupakan salah satu intervensi tersebut. Ada empat strategi yang dapat dilakukan untuk melindungi jantung dan cedera iskemia dan reperfusi perioperatif : sebelum iskemia terjadi, selama iskemia, setelah iskemia pada saat timbulnya reperfusi dan dilakukan secara kontinyu dari awal sampai akhir prosedur operasi. "

Pencegahan cedera jaringan akibat

DU dengan obat anastesi intravena telah ditunjukkan dalam beberapa studi. Penelitian lebih lanjut mungkin diperlukan untuk menyelidiki efek dari anastesi pada tingkat seluler. Karena salah satu pilihan terapi untuk mencegah cedera jaringan adalah dengan meningkatkan antioksidan alami yang berada di dalam sel seperti *superoxide dismutase (SOD)*, *catalase (CAT)* dan *glutathione peroxidase (GSH-Px)*. *Cytosolic copper-zinc SOD/SOD1* telah terbukti menjadi pertahanan pada cedera oksidatif⁵ Sedangkan lidokain yang dikenal sebagai obat anastesi lokal dan anti aritmia telah terbukti memiliki efek kardioprotektif terhadap iskemia miokard dan *reperfusion injury* dengan menghambat saluran natrium jantung, mengurangi masukan kalsium intraseluler, mengurangi produksi *reactive oxygen species (ROS)* dan modulasi bioenergetika mitokondria. Sehingga diharapkan lidokain mampu meningkatkan kadar anti oksidan alami di dalam sel.¹⁰

METODE

Penelitian ini termasuk eksperimental laboratorium dengan desain *post test only controlled group* dengan

tujuan mencari pengaruh pemberian lidokain intravena secara kontinyu pada kelinci *ischemic reperfusion injury model* terhadap kadar *superoxide dismutase* jaringan jantung dan gambaran histopatologi jantung. Sampel penelitian 16 ekor kelinci jantan, umur 1 - 2 tahun, berat 1.5 - 2,5 kilogram, sehat dan tidak tampak cacat secara anatomi.

HASIL

Berdasarkan hasil pemeriksaan SOD 1 jaringan paru didapatkan data seperti ditampilkan dalam tabel 2 dan secara diagram dalam gambar 8. Secara umum kelompok perlakuan, yaitu kelinci yang mendapatkan perlakuan *lung ischemic reperfusion injury* dan diberikan lidokain 1,5mg/kg BB intravena secara kontinyu dari awal sampai akhir prosedur, dibandingkan kelompok kontrol, yaitu kelompok yang hanya mendapatkan perlakuan *lung ischemic reperfusion injury* memiliki kadar SOD 1 jaringan paru yang lebih tinggi.

PEMBAHASAN

Myocardial ischemic reperfusion injury pada hewan coba dapat dilakukan dengan cara membuat oklusi pada *left anterior descending coronary* selama 30 menit kemudian oklusi dilepaskan kembali, hal ini memiliki prinsip yang sama seperti pada *aortic cross clamp* yang dilakukan pada operasi jantung.

Otot jantung mendapatkan oksigen dari aliran darah koroner, sehingga penghentian mendadak perfusi pada otot jantung dengan cepat akan menyebabkan penghentian metabolisme aerobik, penipisan kreatin fosfat, dan timbulnya glikolisis anaerobik.^{14,15}

Cedera miokard irreversibel dimulai setelah 20 menit dari oklusi koroner dengan tidak adanya kolateral yang signifikan. Cedera irreversibel dimulai pada subendokardium dan terus berkembang waktu ke waktu, dari lapisan subendokardial ke lapisan subepikardial. (Gambar).^{14,15} Selama iskemia, kurangnya O₂ menghambat fosforilasi oksidatif (Ox-phos), mengalihkan produk akhir glikolisis piruvat menjadi laktat, menimbulkan pengasaman seluler.¹⁶ Pada reperfusi, pembentukan kembali dengan cepat Ox-phos dan Axj/m mengakibatkan kelebihan Ca mitokondria dan pembentukan *reactive oxygen species (ROS)*.

Reperfusi atau reoksigenasi mendadak akan memulihkan dengan cepat substrat yang penting untuk pembentukan ATP, seperti glukosa atau asam lemak bebas, peningkatan pasokan oksigen, dan normalisasi cepat dari pH ekstraseluler yang sangat penting untuk pencegahan cedera seluler iskemik lebih lanjut dan untuk restorasi homeostasis seluler. Namun secara

bersamaan menyebabkan *reperfusion injury* yang membuat sel lebih rentan terhadap kerusakan dan kematian atau disfungsi kontraksi miokard segera setelah onset dari reperfusi.⁴

Hasil pengamatan penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat peningkatan bermakna kadar SOD1 dengan pemberian lidokain 2% secara kontinyu pada jantung kelinci yang dibuat *ischemic reperfusion injury* dibandingkan dengan kelompok yang hanya dilakukan *ischemic reperfusion injury* tanpa diberi lidokain 2%. Hal ini sesuai dengan teori yang telah dibuktikan dari beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Imaizumi dkk menyatakan bahwa pemberian lidokain secara kontinyu dari 10 menit sebelum iskemia hingga akhir reperfusi memiliki efek kardioprotektif setelah terjadinya IRI yang ditunjukkan adanya penurunan dari daerah infark.⁵ Sedangkan Lee dkk menyatakan bahwa dari penelitian 99 pasien yang menjalani *off pump coronary artery bypass graft surgery (OPCAB)*, pemberian lidokain secara kontinyu selama operasi dapat mengurangi cedera miokard ditandai dengan penurunan signifikan kadar troponin - I dan *creatin kinase-myocardial band (CK-MB)* setelah

Tabel 1. Kadar SOD1 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (ng/ml)

Sampel	Kelompok kontrol (ng/ml)	Kelompok perlakuan (ng/ml)
1	6,946	10,334
2	5,202	6,883
3	4,870	7,463
4	5,509	8,196
5	5,847	6,610
6	6,914	6,196
7	5,087	6,248
8	5,847	8,377

Tabel 2. Deskriptif dan normalitas data SOD

Variabel	N	Mean ± SD	Median (min - maks)	Shapiro Wilk
Kontrol	8	5,78 ± 0,79	5,68 (4,87 - 6,95)	0,207
Perlakuan	8	7,49 ± 1,37	7,17(6,2-10,33)	0,158

Tabel 3. Hasil uji beda SOD

Variabel	N	Mean±SD	p
Kontrol	8	5,78± 0,79	0,009
Perlakuan	8	7,49±1,37	

Tabel 4. Deskriptif dan normalitas data gambaran histopatologi

Variabel	N	Mean ± SD	Median (min - maks)	Shapiro Wilk
Kontrol	8	1,48±0,238	1,6(1,2-1,8)	0,024
Perlakuan	8	1,35±0,256	1,3(1-1,8)	0,592

Tabel 5. Hasil uji beda gambaran histopatologi

Variabel	N	Median (min - maks)	p
Kontrol	8	1,6(1,2-1,8)	0,323

Tabel 6. Deskriptif dan normalitas data SOD dan gambaran histopatologi

Variabel	N	Mean ± SD	Median (rain - maks)	Shapiro Wilk
SOD	8	6,63 ± 1.395	6,43(4,87-10,33)	0.146
Gambaran histopatologi	8	1,41 ±0,247	1,4(1 -1,8)	0,050

Tabel 7. Hasil uji korelasi Pearson

Variabel	N	Mean ± SD	P	r
SOD	8	6,63 ±1,395	0,354	-0,248
Gambaran histopatologi	8	1,41 ±0,247		

operasi masing-masing sebesar 42% dan 27% dibandingkan dengan kontrol/

Na⁺ channel blocker lidocaine (LID) merupakan agen hiperpolarisasi membran plasma memberikan efek pemeliharaan yang baik pada potensial membran sel dan homeostasis ion. LID selain mekanisme menghentikan potensial aksi dan kontraksi mungkin juga memiliki efek langsung atau tidak langsung pada tingkat mitokondria. Hiperpolarisasi dari LID dapat membatasi masuknya *mitochondrial Ca* selama iskemia. Sehingga lidokain disebut memiliki efek kardioprotektif terhadap iskemia miokard dan cedera reperfusi dengan menghalangi saluran natrium jantung, mengurangi pemuatan kalsium intraseluler, mengurangi produksi ROS, dan modulasi bioenergetika mitokondria.³

Arakawa dkk pada penelitiannya menyebutkan lidokain dapat mengurangi produksi superoksida pada neutrofil dalam plasma.¹ Efek supresi jumlah superoksida ini dapat terjadi karena peningkatan kadar SOD dalam jaringan akibat pemberian lidokain yang menjaga kestabilan membrane sel, sebagaimana yang disebutkan oleh Unal dkk dalam penelitiannya bahwa lidokain memiliki efek perlindungan pada endothelium

vena saphena yang digunakan untuk graft pada CABGr⁶

Hasil penelitian ini untuk gambaran histopatologi menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna, artinya tingkat kerusakan jaringan yang terjadi hampirsama. Dari hasil uji korelasi antara kadar SOD dan gambaran histopatologi diperoleh hasil yang tidak bermakna. Hal ini dapat disebabkan karena efek kerusakan jaringan akibat cedera reperfusi yang mengakibatkan perubahan gambaran histopatologi memerlukan waktu yang lebih lama, sedangkan pada penelitian ini jaringan diambil setelah 60 menit dari terjadinya reperfusi. Belum ada yang menyebutkan secara pasti berapa waktu yang diperlukan untuk terjadi perubahan gambaran histopatologi pada jantung setelah cedera iskemik reperfusi. Verma dkk menyebutkan dalam makalahnya bahwa infiltrasi *polymorphonuclear (PMN)* akan menetap pada 24 - 48 jam dengan *old myocard infarct*.

Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut dengan waktu observasi reperfusi yang lebih lama untuk mengetahui sejauh mana lidokain dapat memberikan efek perlindungan terhadap jaringan atau sel.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan bermakna kadar SOD1 jantung kelinci pada *myocardial ischemic reperfusion injury* yang diberikan lidokain dibandingkan dengan kelinci yang tidak mendapat lidokain. Terdapat perbedaan tidak bermakna gambaran histopatologi jantung kelinci pada *myocardial ischemic reperfusion injury* yang diberikan lidokain dibandingkan dengan kelinci yang tidak mendapat lidokain. Terdapat korelasi tidak bermakna antara kadar SOD1 dan gambaran histopatologi jantung kelinci pada *myocardial ischemic reperfusion injury* yang diberikan lidokain dibandingkan dengan kelinci yang tidak mendapat lidokain.

DAFTAR PUSTAKA

1. De Backer D, Dubois MJ, Schmartz D, Koch M, Ducart A, Barvais L et al. *Microcirculatory Alterations in Cardiac Surgery: Effects of Cardiopulmonary Bypass and Anesthesia*. Ann Thorac Surg. 2009; 88: 1396-403.
2. Marcelo L, Moraes L, Auler C, Carmona C. *Myocardial Protection in Cardiac Surgery: Review Article*. Rev. Bras. Anesthesiol. 2005; 55(5): 565-574.
3. Hausenloy DL, Yellon DM. *Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target*. J Clin Invest. 2013; 123(1): 92-100.
4. Sanada S, Komuro L, Kitakaze M. *Pathophysiology of Myocardial Reperfusion Injury: Preconditioning, Postconditioning, and Translational Aspects of Protective Measures*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011; 301(5): 1723-1741.
5. Auerbach AD, Goldman L. *Beta-Blockers and Reduction of Cardiac Events in Non Cardiac Surgery: Scientific Review*. JAMA. 2002; 287(11): 1435-1444.
6. Wada A. *Myocardial Ischemia in The Postanesthesia Care Unit: A Case Report*. AANA Journal. 2007; 75(1): 34-36.
7. FraBdorf J, De Hert S, Schiack W. *Anaesthesia and myocardial ischaemia/reperfusion injury*. Br J Anaesth. 2009; 103(1): 89-98.
8. Imaizumi U, Furuya M, Itakura S, Yui H, Tagawa T, Sakuraba S et al. *Effects of Lidocaine on Ischemia/Reperfusion Injury in In vivo Rabbit Hearts*. J Anesth Clin Res. 2012; 3(11): 261.
9. Droge W. *Physiological Reviews: Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function*. Physiol Rev. 2002; 82(1): 47-95.
10. Eroglu A. *The Effect of Intravenous Anesthetics on Ischemia-Reperfusion Injury*. Bio Med Res Int. 2014 Jan; 821-513.
11. Ebel D, Limfert P, FraBdorf J, Preckel B, Mullenheim J, Thamer V et al. *Lidocaine Reduces Ischaemic but Not Reperfusion Injury in Isolated Rat*

- Heart*. Br J Anaesth. 2001; 86(6): 846-852.
12. Kaczmarek DJ, Herzog C, Larmann J, Gillmann HJ, Hiidebrand R, Schinitz M et al. *Lidocaine Protects from Myocardial Damage due to Ischemia and Reperfusion in Mice by Its Antiapoptotic Effects*. *Anesthesiology*. 2009; 110: 1041-9.
 13. Yamabayashi K, Momota Y, Miyamae M, Kaneda K. and Kotani J. *Lidocaine Protects Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Anesthetized Rabbits*. *J Osaka Dent Univ*. 2013; 47 (2): 201-207.
 14. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. *Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Coronary Blood Flow and Myocardial Ischemia; Metabolic and Functional Consequences of Ischemia*. In: Braunwald's Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine 9th ed. Philadelphia; Elsevier Saunders. 2012: 1066-1067.
 15. Kloner RA, Jennings RB. *Consequences of Brief Ischemia: Stunning, Preconditioning, and Their Clinical Implications: Part 1*. *Circulation*. 2001; 104:2981-2989.
 16. Walters AM, Porter GA, Brookes PS. *Mitochondria as a Drug Target in Ischemic Heart Disease and Cardiomyopathy*. *Circ Res*. 2012; 111: 1222-1236.
 17. Ondiveeran HK, Robichaud AF. *New Developments in The Treatment of Ischemia / Reperfusion Injury*. *Current Opinion in Investigational Drugs*. 2001; 2(6): 783-791.
 18. Turer AT, Hill JA. *Pathogenesis of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Rationale for Therapy*. *Am J Cardiol*. 2010; 106(3): 360-368.
 19. Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK. *Reactive Oxygen Species: Oxidative Damage and Pathogenesis*. *Current Science*. 1999; 77(5): 658-664.
 20. Weydert CJ, Cullen JJ. *Measurement Of Superoxide Dismutase, Catalase, And Glutathione Peroxidase In Cultured Cells And Tissue*. *Nat Protoc*. 2010; 5 (1): 51-66.
 21. Danielisova V, Nemethova M, Gottlieb M, Burda J. *Changes of Endogenous Antioxidant Enzymes During Ischemic Tolerance Acquisition*. *Neurochem Res*. 2005; 30(4): 559-563.
 22. Almaraz CC, Pinilla PJG, Pozo MJ, Camello PJ. *Cell Physiology: Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Ca^T Signaling*. *Am J Physiol*. 2006; 291: 1082-1088.
 23. Buck ML. *Use of Lidocaine for Analgesia in Children and Adolescents*. *PediatrPharm*, 2013; 19 (12).
 24. Sheets MF, Hanck DA. *Molecular Action of Lidocaine on the Voltage Sensors of Sodium Channels*. *J Gen Physiol*. 2003; 121(2): 163-175.
 25. Aldakkak M, Stowe DF, Lesnefsky EJ, Heisner JS, Chen Q, Camara AKS. *Modulation of Mitochondrial Bioenergetics in The Isolated Guinea Pig Beating Heart by Potassium and Lidocaine Cardioplegia: Implications for Cardioprotection*. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009; 54(4): 298-309.
 26. Unal Y, Iriz E, Yilmazer D, Kavutcu M, Alper M, Kurtipek O et al. *Effects of Lidocaine on Membrane*

- Stabilization in Harvested Vein Graft Storage.* Saudi Med J. 2009; 30(2): 203 - 208.
27. Lee EH, Lee HM, Chung CH, Chin JH, Choi DK, Chung HJ et al. *Impact of intravenous lidocaine on myocardial injury after off-pump coronary artery surgery.* BJA, 2011; 106(4): 487-493.
28. Arakawa K, Takahashi H, Nakagawa S, Ogawa S. *The Effects of Lidocaine on Superoxide Production and p47 Phox Translocation in Opsonized Zymosan-Activated Neutrophils.* Anesth Analg, 2001; 93: 1501-1506.
29. Verma S, Fedak PWM, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A et al. *Clinician update: Fundamentals of Reperfusion Injury for the Clinical Cardiologist.* Circulation, 2002; 105: 2332-2336.