

Alternatif Baru Mekanisme Kematian Sel pada Iskemia Tungkai Aleut: Peran Endotelin-1 dalam Regulasi terhadap Monocyte Chemoattractant Protein Induced Protein, Beclin-1, dan Caspase-3 = A New Alternative Mechanism of Cell Death in Acute Limb Ischemia: The Role of Endothelin-1 in regulation of MCP-1, Beclin-1 and Caspase-3

Hananto Andriantoro, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920543443&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar Belakang: Penyakit arteri perifer (PAP) merupakan penyakit yang sering dijumpai serta memiliki morbiditas dan mortalitas yang bermakna. Iskemia tungkai akut merupakan salah satu PAP yang menyebabkan stres retikulum endoplasma dan kematian sel melalui apoptosis atau autofagia. Aktivasi Caspase secara berurutan memainkan peran penting dalam suatu fase apoptosis sel. Sementara itu, Beclin-1 memiliki peran utama dalam autofagia. Endotelin-1 (ET -1) sebagai faktor transkripsi Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) telah diteliti dengan baik dalam perkembangan aterosklerosis tetapi tidak pada iskemia tungkai. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peran ET-1 dalam patogenesis iskemia tungkai akut melalui MCP-1, Beclin-1, dan Caspase-3. Bahan dan Metode: Tiga belas kelinci umur 5 bulan galur Selandia Baru Putih (NZW) dipilih untuk penelitian ini. Arteri femoralis kanan semua kelinci kemudian diikat dan dilakukan reseksi pembedahan sampai alirannya hilang, dikonfirmasi oleh Doppler Laser Fluximetry. Semua kelinci kemudian secara acak dialokasikan untuk kelompok perlakuan dengan pemberian intravena ECE-1 inhibitor (CGS26303) 5 mg/kg berat badan/hari selama 26 hari dan kelompok kontrol. Jaringan diambil dari daerah otot iskemik dan dilakukan pemeriksaan untuk ekspresi protein MCP-1, Beclin-1 untuk biomarker autofagia serta Caspase-3 untuk biomarker apoptosis menggunakan imunohistokimia. Ekspresi gen diperiksa menggunakan real time polymerase chain reaction (RT-PCR) dan dinyatakan sebagai ekspresi gen relatif. Hasil: Selama periode follow-up, 2 kelinci mati karena infeksi. Oleh karena itu, tersisa 11 kelinci yang menjadi subjek penelitian ini. Empat kelinci dialokasikan untuk kelompok kontrol sementara 7 kelinci diberikan ECE-1 sebagai kelompok perlakuan. Semua kelompok perlakuan positif memiliki antibodi terhadap MCP-1, Beclin-1, dan Caspase-3 tetapi tidak untuk kelompok kontrol ($p = 0,003$). Meskipun demikian, ekspresi gen relatif dari MCP-1, Beclin-1 dan Caspase-3 ditemukan bervariasi antara 2 kelompok dan tidak berbeda bermakna secara statistik. Simpulan: Pada iskemia tungkai akut, ET-1 diduga memiliki peran penting dalam mengatur MCP-1, Beclin-1, dan Caspase-3. Jalur tersebut merupakan suatu alternatif baru mekanisme kematian sel. Intervensi melalui inhibisi ET -1 diduga dapat menunda proses kematian sel.

.....Background: Peripheral arterial disease (PAD) is common and causes significant morbidity and mortality. Acute limb ischemia is one of the PAD that will develop endoplasmic reticulum stress and subsequently cell death through apoptosis or autophagy. Sequential activation of Caspases plays a major role in the execution phase of cell apoptosis while Beclin-1 has a central role in autophagy. Endothelin-1 (ET -1) as a transcription factor of Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) has been well studied in the progression of atherosclerosis but not in limb ischemia. The aim of the study is to investigate the role of ET -1 in the pathogenesis of acute limb ischemia through MCP-1, Beclin-1 and Caspase-3. Materials and Methods: Thirteen of 5-month-old New Zealand White (NZW) rabbits are chosen for this study. The right

femoral artery of all rabbits are ligated and resected surgically until its flow disappear and confirmed by laser Doppler Fluximetry. All are then randomly. allocated for intravenous administration of ECE-I inhibitor (CGS26303) 5 mg/kg body weight/day for 26 days (n=7) and control group (n=6). The tissue taken from ischemic muscle area was examined for protein expression of MCPIP, Beclin-1 for autophagy biomarker as well as Caspase-3 for apoptotic biomarker using immunohistochemistry technique. Gene expressions are examined using real time Polymerase Chain Reaction (PCR) and expressed as relative gene expression.

Result: During period of follow-up, 2 rabbits died because of infection. Therefore there were still remain 11 rabbits for subject of this study. Four were allocated for non-intervention as control group while 7 were for ECE-1 administration as intervention group. All of the intervention group has positive on antibody for MCPIP, Beclin-I and Caspase-3 but not for the control group ($p = 0.003$). However, the relative gene expression on MCPIP, Becline-1 and Caspase-3 varied between 2 groups and were not statistically different.

Conclusion: In acute limb ischemia, ET-1 may play major role in regulating MCPIP, Beclin-I and Caspase-3. This pathway may be proposed as a new alternative mechanism of cell death in this situation. Intervention of ET-I may delay the process of cell death.