

ABSTRACT

THE EFFECT OF CHLOROGENIC ACID (CGA) ON THE mRNA EXPRESSION OF NF- κ B AND TNF- α IN THE RAT HIPPOCAMPUS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Background: Hyperglycemia-induced brain injury has a complex pathogenesis which is including, but not limited to, neuroinflammation, neurodegeneration, apoptosis, oxidative stress, and reduction of neurotrophic factors. Upregulated expression of proinflammatory cytokines and chemokines (e.g IL-6, TNF- α , MCP-1) are found due to stimulation of transcription factors (mainly NF- κ B). It is reported that chlorogenic acid has various utilities such as anti-inflammatory and neuroprotective activity. Although it has proven in many studies, further research is required to clarify its effect on inflammatory response in type 1 diabetes mellitus.

Aim: To investigate the anti-inflammatory effects of chlorogenic acid by examining the mRNA expression of NF- κ B and TNF- α in rat's hippocampus with type 1 Diabetes Mellitus.

Method: Male Wistar Rats (n=24, age= 2 months) were divided into 6 groups: Control Group, DM Group which was induced by streptozotocin 60 mg/KgBW intraperitoneally for 1.5 months (DM1.5 Group n=5) and 2 months (DM2 Group n=5). Chlorogenic acid was given in the DM1.5 Group in 3 different doses for 2 weeks, namely 12.5 mg/KgBW (CGA1 Group n=5), 25 mg/KgBW (CGA2 Group n=5), 50 mg/KgBW (CGA3 Group n=5) for 2 weeks to examine this effect of CGA in organ injury-related DM progression. The rats were terminated and hippocampus samples are taken for RNA extraction. The mRNA expression of NF- κ B and TNF- α are measured using Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). In this study, the data is processed with statistical significance of $p < 0.05$.

Result: DM groups showed a visible trend of higher NF- κ B and TNF- α mRNA expression compared to the control group, whereas chlorogenic acid administration showed a significantly lower NF- κ B and TNF- α mRNA expression in the CGA1 and CGA2 group compared to the DM2 group ($p = 0.017$, $p = 0.019$, $p = 0.003$, $p = 0.006$). NF- κ B mRNA expression of CGA3 group compared to the control, DM1.5, CGA1, and CGA2 group is significantly higher ($p = 0.002$, $p = 0.003$, $p = 0$, $p = 0$), indicating that CGA has a dose-dependent effect.

Conclusion: CGA downregulates NF- κ B and TNF- α mRNA expression in the hippocampus of rats with type 1 Diabetes Mellitus in a dose-dependent manner.

Keyword: Chlorogenic Acid (CGA), Anti-inflammatory, Inflammation, Hippocampus, Nuclear factor-kappa B (NF- κ B), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), Diabetes Mellitus (DM).

INTISARI

PENGARUH ASAM KLOROGENAT (CGA) TERHADAP EKSPRESI mRNA NF- κ B DAN TNF- α PADA HIPOKAMPUS TIKUS MODEL DIABETES MELLITUS TIPE 1

Latar Belakang: Cedera otak yang diinduksi hiperglikemia memiliki patogenesis kompleks yang termasuk, tetapi tidak terbatas pada, peradangan saraf, degenerasi saraf, apoptosis, stres oksidatif, dan pengurangan faktor neurotrofik. Ekspresi sitokin dan kemokin proinflamasi yang diregulasi (misalnya IL-6, TNF- α , MCP-1) ditemukan karena stimulasi faktor transkripsi (terutama NF- κ B). Dilaporkan bahwa asam klorogenat memiliki berbagai kegunaan seperti aktivitas anti-inflamasi dan neuroprotektif. Meskipun telah terbukti dalam banyak penelitian, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperjelas pengaruhnya terhadap respon inflamasi pada diabetes mellitus tipe 1.

Tujuan: Untuk menyelidiki efek anti-inflamasi asam klorogenat dengan memeriksa ekspresi mRNA NF- κ B dan TNF- α di hipokampus tikus dengan Diabetes Mellitus tipe 1.

Metode: Tikus Wistar Jantan (n=24, umur= 2 bulan) dibagi menjadi 6 kelompok: Kelompok Kontrol, Kelompok DM yang diinduksi streptozotocin 60 mg/KgBB secara intraperitoneal selama 1.5 bulan (DM1.5 Kelompok n=5) dan 2 bulan (DM2 Grup n=5). Asam klorogenat diberikan pada Kelompok DM1.5 dalam 3 dosis yang berbeda selama 2 minggu, yaitu 12.5 mg/KgBB (Grup CGA1 n=5), 25 mg/KgBB (Grup CGA2 n=5), 50 mg/KgBB (Grup CGA3 n=5) selama 2 minggu untuk menguji efek CGA ini pada perkembangan DM terkait cedera organ. Tikus diterminasi dan sampel hipokampus diambil untuk ekstraksi RNA. Ekspresi mRNA NF- κ B dan TNF- α diukur menggunakan Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Dalam penelitian ini, data diolah dengan signifikansi statistik $p < 0.05$.

Hasil: Kelompok DM menunjukkan kecenderungan ekspresi mRNA NF- κ B dan TNF- α yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan pemberian asam klorogenat menunjukkan ekspresi mRNA NF- κ B dan TNF- α yang jauh lebih rendah pada kelompok CGA1 dan CGA2 dibandingkan dengan kelompok kontrol. kelompok DM2 ($p = 0.017$, $p = 0.019$, $p = 0.003$, $p = 0.006$). Ekspresi mRNA NF- κ B kelompok CGA3 dibandingkan dengan kelompok kontrol, DM1.5, CGA1, dan CGA2 secara signifikan lebih tinggi ($p = 0.002$, $p = 0.003$, $p = 0$, $p = 0$), menunjukkan bahwa CGA memiliki efek tergantung dosis.

Kesimpulan: CGA menurunkan regulasi ekspresi mRNA NF- κ B dan TNF- α di hipokampus tikus dengan Diabetes Mellitus tipe 1 dengan sifat yang bergantung pada dosis.

Kata kunci: Chlorogenic Acid (CGA), Anti Inflamasi, Inflamasi, Hipokampus, Nuclear factor-kappa B (NF- κ B), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), Diabetes Mellitus (DM).