

## ABSTRACT

**Background:** Transient global brain ischemic injury results in oxidative stress which leads to the increase of pro-apoptotic genes, antioxidant enzymes, and brain damage, whether functional or structural, including in the hippocampus area. Vitamin D is known have antioxidant and neuroprotective effect. However, the impact of vitamin D in transient global brain ischemic injury has not been fully understood.

**Aim:** The aim of this study is to elaborate the impact of vitamin D (calcitriol) on Bcl-2 and SOD1 mRNA expression in the hippocampus of induced transient global brain ischemic injury model in rat.

**Method:** Male Wistar rats (n = 24, age = 2-3 months, body weight = 150-300 grams) were assigned into four groups: sham-operated (SO), bilateral common carotid artery occlusion (BCCAO) without vitamin D treatment, BCCAO + 0.125 µg/kgBW and BCCAO + 0.5 µg/kgBW vitamin D groups (VD1 and VD2, respectively). Transient global ischemic brain injury induced by BCCAO was operated using a non-traumatic vascular clamp for 20 minutes. Vitamin D in 2 different doses are given to VD1 and VD2 groups intraperitoneally once a day for 10 days. Ten days post BCCAO, the rats are terminated, and the hippocampus is harvested for total RNA extraction. A semiquantitative Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) was used to measure the mRNA expression of Bcl-2 and SOD1.

**Result:** This study revealed lower mRNA expression of Bcl-2 in the BCCAO group compared to the control group (p=0.007), and higher mRNA expression of SOD1 in the BCCAO group compared to the control group, though not significant (p=0.358). The mRNA expression of Bcl-2 in both VD1 and VD2 treatment groups were higher compared to the BCCAO group, but only significant in the VD2 group (p=0.005). On the other side, the mRNA expression of SOD1 in both treatment groups were also higher compared to BCCAO group and only significant in the VD2 group (p=0.000).

**Conclusion:** Vitamin D in the dose 0.5 µg/kgBW was able to upregulate the mRNA expression of Bcl-2 and SOD1 in the hippocampus of transient global brain ischemic injury model in rat.

**Keyword:** Vitamin D, transient global brain ischemic injury, Bcl-2, SOD1, oxidative stress

## INTISARI

**Latar Belakang:** Cedera iskemik otak global transien mengakibatkan stres oksidatif yang menyebabkan adanya peningkatan pada gen pro-apoptosis, enzim antioksidan, dan kerusakan otak baik fungsional maupun struktural, termasuk pada area hipokampus. Vitamin D dikenal memiliki efek antioksidan dan neuroprotektif. Namun, dampak vitamin D terhadap cedera iskemik otak global transien belum sepenuhnya dipahami.

**Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji dampak vitamin D (*calcitriol*) terhadap ekspresi mRNA Bcl-2 dan SOD1 pada hipokampus tikus model cedera iskemik global transien.

**Metode:** Tikus Wistar jantan ( $n = 24$ , umur = 2-3 bulan, berat badan = 150-300 gram) dibagi menjadi empat kelompok: *sham-operated* (SO), *bilateral common carotid artery occlusion* (BCCAO) tanpa diberi vitamin D, BCCAO + 0,125  $\mu\text{g}/\text{kgBB}$  dan BCCAO + 0,5  $\mu\text{g}/\text{kgBB}$  kelompok vitamin D (masing-masing VD1 dan VD2). Cedera otak iskemik global transien yang disebabkan oleh BCCAO dioperasi menggunakan penjepit vaskular non-traumatik selama 20 menit. Vitamin D dengan 2 dosis yang berbeda diberikan pada kelompok VD1 dan VD2 secara intraperitoneal satu kali sehari selama 10 hari. Sepuluh hari setelah prosedur BCCAO, tikus dikorbankan, dan hipokampus diambil untuk ekstraksi RNA total. *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) digunakan untuk mengukur ekspresi mRNA Bcl-2 dan SOD1 secara semikuantitatif.

**Hasil:** Pada penelitian ini ditemukan ekspresi mRNA Bcl-2 yang lebih rendah di grup BCCAO dibandingkan dengan grup kontrol ( $p=0,007$ ), dan ekspresi mRNA SOD1 yang lebih tinggi pada grup BCCAO dibandingkan dengan grup kontrol, walaupun tidak signifikan ( $p=0,358$ ). Ekspresi mRNA Bcl-2 pada grup VD1 dan VD2 lebih tinggi dibandingkan dengan grup BCCAO, tetapi hanya signifikan pada grup VD2 ( $p=0,005$ ). Di sisi lain, ekspresi mRNA SOD1 pada kedua grup perlakuan juga ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan grup BCCAO dan hanya signifikan pada grup VD2 ( $p=0,000$ ).

**Kesimpulan:** Vitamin D dengan dosis 0,5  $\mu\text{g}/\text{kgBW}$  dapat menghasilkan ekspresi mRNA Bcl-2 dan SOD1 yang lebih tinggi di hipokampus model cedera iskemik otak global transien pada tikus.

**Kata kunci:** Vitamin D, cedera iskemik otak global transien, Bcl-2, SOD1, stres oksidatif