

## ABSTRAK

**Latar belakang.** Penderita defek septum atrium (DSA) dapat mengalami komplikasi hipertensi arteri pulmonal (HAP). Kesintasan pasien dengan DSA berhubungan dengan stratifikasi risiko. Komplikasi HAP ini merupakan kondisi yang progresif akibat proliferasi, vasokonstriksi, inflamasi dan kerusakan DNA. Mekanisme tersebut diduga berhubungan dengan beberapa microRNA (miR). Perlu dilakukan penelitian yang menilai hubungan miR dengan stratifikasi risiko pasien dengan HAP pada DSA.

**Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil miR pada berbagai derajat stratifikasi risiko pasien HAP terkait DSA, mekanisme molekuler *in silico* dan mendapatkan kandidat miR yang berhubungan dengan derajat stratifikasi risiko tersebut.

**Metode.** Pasien dewasa dengan diagnosis hipertensi arteri pulmonal pada defek septum atrium dikelompokkan menjadi stratifikasi risiko rendah, sedang, dan tinggi. *Profiling* dilakukan menggunakan Quick-RNA FFPE Miniprep (Zymo Research, R1008) dan Quick-RNA Miniprep Kit (Zymo Research, R1055). Piranti lunak DIANA TOOLS mirPath digunakan untuk mencari mekanisme molekuler miR pada hipertensi arteri pulmonal. Piranti lunak ini memakai database Tarbase dan microT-CD. Analisis *profiling* menggunakan piranti lunak ROSALIND. Tahap validasi dilakukan dengan *quantitative Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR).

**Hasil.** Dari 8 subyek yang dilakukan *profiling*, ditemukan 64 miR yang *down-regulated* dan 7 miR di antaranya terekspresi dalam 2 kelompok stratifikasi yang berbeda. Tujuh miR yang *downregulated* tersebut adalah hsa-miR-92a-1-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-3180-5p, hsa-miR-566, hsa-miR-4536-5p, hsa-miR-378c, dan hsa-miR-582-5p. Di sisi lain, ada 25 miR ditemukan *up-regulated* dan 3 miR di antaranya ditemukan pada 2 kelompok stratifikasi yang berbeda, yaitu hsa-miR-1908-5p, hsa-miR-365b-5p, dan hsa-miR-642a-5p. Dilakukan validasi hsa-miR-145-5p dan hsa-miR-1908-5p pada 48 subyek. Ekspresi hsa-miR-145-5p *up-regulated* pada kelompok stratifikasi risiko sedang versus rendah dan pada kelompok stratifikasi risiko tinggi versus rendah (*fold change* 1,368 dan 1,146). Ekspresi hsa-miR-145-5p pada kelompok stratifikasi risiko tinggi versus sedang menunjukkan *down-regulated* dengan *fold change* 1,193. Ekspresi hsa-miR-1908-5p pada kelompok stratifikasi risiko sedang versus rendah dan pada kelompok stratifikasi risiko tinggi versus rendah menunjukkan *up-regulated* dengan *fold change* 1,925 dan 1,541. Di sisi lain, ekspresi hsa-miR-1908-5p pada kelompok stratifikasi risiko tinggi versus sedang menunjukkan *down-regulated* dengan *fold change* 1,249. Apabila kelompok non-HAP (*baseline*) dibandingkan dengan kelompok HAP, ditemukan ekspresi hsa-miR-145-5p *down-regulated* dengan *fold change* 1,024 dan ekspresi hsa-miR-1908-5p *up-regulated* dengan *fold change* 1,250. *Circadian entrainment pathway* merupakan patofisiologi HAP yang melibatkan hsa-miR-1908-5p. Di sisi lain, hsa-miR-145-5p berperan pada HAP melalui mekanisme TGF- $\beta$  *signaling pathway*, *calcium signaling pathway*, *wnt signaling pathway*, *MAPK signaling pathway*, dan *pentose phosphate pathway*.

hsa-miR-1908-5p dan hsa-miR-145-5p secara bersamaan mentarget RAPGEF2, MAP3K11 dan CACNA2D2.

**Kesimpulan.** Ekspresi hsa-miR-145-5p dan hsa-miR-1980-5p cenderung meningkat dengan bertambahnya stratifikasi risiko. Ada beberapa mekanisme HAP pada DSA dan yang paling banyak adalah MAPK *signaling pathway* lalu TGF-  $\beta$  *signaling pathway*. hsa-miR-145-5p dan hsa-miR-1908-5p secara bersamaan mentarget RAPGEF2, MAP3K11 dan CACNA2D2.

Kata kunci: microRNA; defek septum atrium; hipertensi arteri pulmonal; stratifikasi risiko

## ABSTRACT

**Background.** Patient with atrial septal defect (ASD) may experience pulmonary arterial hypertension (PAH) as a complication. Survival rate of patient with ASD are related to the risk stratification. Patient with PAH will fall to progressive condition because of proliferation, vasoconstriction, inflammation, and DNA impairment. These mechanisms were found to be related to a few microRNAs (miR). It should be done a research to assess association between miR and risk stratification in patient with PAH due to ASD.

**Objective.** This study aims to determine the miR profile at various levels of risk stratification of PAH patients related to ASD, the in silico molecular mechanisms and to obtain miR candidates related to the degree of risk stratification.

**Methods.** Adult patients with atrial septal defect with pulmonary hypertension are classified as having a low, moderate, and high risk. Quick-RNA FFPE Miniprep (Zymo Research, R1008) and Quick-RNA Miniprep Kit (Zymo Research, R1055) are used for profiling. DIANA TOOLS mirPath software was used to search for the molecular mechanisms of miRs in pulmonary arterial hypertension. This software uses the Tarbase and microT-CD databases. Profiling analysis with ROSALIND software. Quantitative Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR) is used for validation.

**Results.** From serum of eight subjects, there were 64 down-regulated miRs include 7 miRs were expressed in 2 different risk stratification groups. These 7 downregulated miR were hsa-miR-92a-1-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-3180-5p, hsa-miR-566, hsa-miR-4536-5p, hsa-miR-378c, and hsa-miR-582-5p. In other hand, 25 up-regulated miRs were found with 3 miRs were expressed in 2 different risk stratification groups, consists of hsa-miR-1908-5p, hsa-miR-365b-5p, and hsa-miR-642a-5p. Validation of hsa-miR-145-5p and hsa-miR-1908-5p were conducted on 49 subjects. The expression of hsa-miR-145-5p was up-regulated in the moderate versus low risk stratification group and the high versus low risk stratification group (fold changes of 1,368 and 1,146). hsa-miR-145-5p expression in the high versus moderate risk stratification group is down-regulated with a fold change of 1,193. hsa-miR-1908-5p was found to be up-regulated with fold changes of 1,925 and 1,541 in the stratification of risk moderate versus low and in the stratification of high versus low risk. In addition, hsa-miR-1908-5p expression in the stratification of high versus moderate risk indicates down-regulation with a fold change of 1,249. If non-PAH compare to PAH group, hsa-miR-145-5p was down-regulated with fold change 1,024 and hsa-miR-1908-5p was up-regulated with fold change 1,250. hsa-miR-1908-5p has a role in PAH pathophysiology by circadian entrainment pathway. In other hand, hsa-miR-145-5p was involved in some PAH mechanism consists of TGF- $\beta$  signaling pathway, calcium signaling pathway, wnt signaling pathway, MAPK signaling pathway, dan pentose phosphate pathway. hsa-miR-1908-5p and hsa-miR-145-5p are regulate RAPGEF2, MAP3K11 and CACNA2D2 together.

**Conclusion.** Serum hsa-miR-145-5p and hsa-miR-1980-5p level are increasing trend accordance with risk stratification. MAPK signaling pathway and TGF- $\beta$

signaling pathway are the most common mechanism in PAH. Together, hsa-miR-145-5p and hsa-miR-1908-5p regulate MAP3K11, CACNA2D2, and RAPGEF2.

**Keywords:** microRNA; atrial septal defect; pulmonary arterial hypertension; risk stratification