

INTISARI

Iskemia global sangat berpengaruh pada hippocampus yaitu menimbulkan kematian sel piramidal hippocampus dan mengganggu fungsi memori spasial. Kerusakan otak akibat iskemia dapat diatasi dengan pemberian polifenol seperti asam klorogenat. Belum terdapat penelitian yang mempelajari efek pemberian asam klorogenat terhadap kondisi iskemia global. Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh pemberian asam klorogenat terhadap gangguan fungsi memori spasial, struktur hippocampus dan respon vaskuler pada tikus model iskemia global transien.

Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan, dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok: *sham* (K1), induksi iskemia global transien tanpa asam klorogenat (K2), induksi iskemia global transien dengan asam klorogenat 15 mg (P1), 30 mg (P2), dan 60 mg (P3) /kgBB ip. Induksi iskemia global transien dilakukan dengan *bilateral carotis communis occlusion* (BCCO) selama 20 menit. Asam klorogenat diberikan tiga puluh menit setelah operasi BCCO. Fungsi memori spasial diukur pada hari ketiga setelah operasi BCCO dengan uji Morris *water maze*. Pada hari ke-10 setelah operasi BCCO, tikus diterminasi dan dilakukan isolasi hippocampus. Hippocampus kiri dibuat preparat histologi dan sel piramidal dihitung dengan cara stereologi. Hippocampus kanan diekstraksi kemudian dilakukan pemeriksaan mRNA dengan *real-time* PCR. Ekspresi mRNA yang diperiksa yaitu: *Bcl2*, *Bax*, *Caspase3*, *Sod2*, *Sod1*, *GPx*, *Tlr4*, *Mmp9*, *Et-1*, *enos*, *Cd31* dan *Vegf-A*. Data dianalisis dengan uji *oneway* ANOVA atau Kruskal-Wallis dengan nilai signifikansi $p < 0,05$, dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD atau Mann-Whitney.

Pada uji retensi memori spasial didapatkan hasil kelompok K2 memiliki fungsi retensi memori yang kurang baik dibandingkan dengan kelompok lain. Penghitungan jumlah sel piramidal hippocampus regio CA1 didapatkan hasil kelompok P2 dan P3 memiliki jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok K2 dan P1. Jumlah sel piramidal hippocampus regio CA2-CA3 tidak berbeda secara bermakna antar kelompok. Hasil pemeriksaan *real-time* PCR menunjukkan ekspresi mRNA *Bcl2* dan *Sod2* antara kelompok iskemia tanpa asam klorogenat lebih rendah dibandingkan dengan semua kelompok yang diberi asam klorogenat. Respon vaskuler dinilai dari ekspresi mRNA *Et-1* yang menunjukkan hasil bahwa ekspresi pada kelompok K1, P2 dan P3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok K2 dan P1. Hal ini didukung dengan hasil pengukuran ekspresi mRNA *Cd31* yang menunjukkan bahwa kelompok yang diberi asam klorogenat memiliki ekspresi *Cd31* lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa asam klorogenat. Ekspresi mRNA *Bax*, *Caspase3*, *Sod1*, *GPx*, *Tlr4*, *Mmp9*, *enos* dan *Vegf-A* tidak berbeda bermakna antar kelompok.

Asam klorogenat dapat meningkatkan kemampuan retensi memori spasial dan bersifat neuroprotektif terhadap sel piramidal hippocampus regio CA1. Mekanismenya melalui peningkatan ekspresi *Bcl2*, *Sod2*, *Cd31* dan menurunkan ekspresi *Et-1*.

Kata Kunci: Iskemia global, asam klorogenat, memori spasial, hippocampus.

ABSTRACT

Transient global ischemia disrupts hippocampus, resulted in pyramidal cells death and impair spatial memory function. The damage can be overcome by polyphenols such as chlorogenic acid (CGA). No studies have studied the effects of CGA on the condition of global ischemia. This study aims to study the effect of CGA on the impairment of spatial memory function, hippocampal neuronal cells and vascular response after transient global ischemia.

Male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were randomly assigned into 5 groups: sham (C1), induction of transient global ischaemia without CGA (C2), induction of transient global ischemia with CGA 15 mg (T1), 30 mg (T2), 60 mg (T3) / kgBB ip. Transient global ischemia induction was performed with bilateral carotid communis occlusion (BCCO) for 20 minutes followed by CGA injection. Measurement of spatial memory function performed on the third day after BCCO with Morris water maze test. On the 10th day after BCCO, sacrifice and hippocampal isolation were performed. Histological slides were made from left hippocampus and pyramidal cell was calculated using stereology method. The right hippocampus was isolated and processed for real time PCR. The mRNA expression of *Bcl2*, *Bax*, *Caspase3*, *Sod2*, *Sod1*, *GPx*, *Tlr4*, *Mmp9*, *Et-1*, *enos*, *Cd31* and *Vegf-A* were measured. The data were analyzed by oneway ANOVA or Kruskal-Wallis test with significance value of $p < 0.05$ followed by LSD or Mann-Whitney post-hoc test.

The C2 group spent less time and distance in the target quadrant than any other group in the spatial memory retention test. The CA1 pyramidal cell numbers in the C2 and T1 groups were lower than the T2 and T3 groups. The mRNA expressions of *Bcl2*, *SOD2* and *CD31* in the C2 group were lower than in the T1, T2, and T3 groups. The *ET1* expression was higher in the C2 and T1 groups than in the C1, T2, and T3 groups. CGA improves the spatial memory and prevents the CA1 pyramidal cells death after BCCO by increasing *Bcl2*, *SOD2*, *CD31* expressions and decreasing *ET-1* expression. mRNA expressions of *Bax*, *Caspase3*, *Sod1*, *GPx*, *Tlr4*, *Mmp9*, *enos* and *Vegf-A* did not significantly different among the groups.

CGA improves spatial memory and neuroprotective against neuronal death of CA1 pyramidal cells of hippocampus after BCCO. The mechanism through the increased expression of *Bcl2*, *Sod2*, *Cd31* and the decreased expression of *Et-1*.

Key words:

Transient global ischemia, chlorogenic acid, spatial memory, pyramidal cells of hippocampus.