

ABSTRACT

Background: Chronic kidney disease is a condition as a result of progressive process of tissue damage due to various types of kidney disease such as Acute Kidney Injury (AKI). Kidney ischemia/reperfusion injury is one of the main causes of AKI, where there will be tissue damage due to reperfusion injury, which occurs when the blood supply returns to the tissue, reperfusion, after a period of ischemia or lack of oxygen, anoxia or hypoxia.

Objective: To determine the effects of kidney ischemia/reperfusion injury to the p16 and MCP-1 mRNA expression as well as their correlation in mice with tubular injury.

Methods: Male Swiss background mice (3 months, 30-40 grams) were used as experimental animals for kidney ischemia/reperfusion injury models. Bilateral renal pedicle clamping was performed on them for 30 minutes. These experimental animals were divided into 4 different groups based on intervention given to them. The mice were sacrificed on the 1st day (I/R 1 group, n=6), 8th day (I/R 8 group, n=6), and 12th day (I/R 12 group, n=6). Moreover, sham operation procedure was also conducted on the control group (SO group, n=6). In this study, RT-PCR was done to calculate p16 and MCP-1 mRNA expressions as markers for cellular aging and inflammation respectively. Immunostaining was also done to see localization of MCP-1, meanwhile PAS staining was used to observe renal tubular injury in this study.

Results: RT-PCR analysis showed higher mRNA expression of p16 and MCP-1 in kidney ischemia/reperfusion injury group compared to SO group especially in IR 8 and IR 12 for p16 as well as IR 1 and IR 8 for MCP-1. The data proved that kidney ischemia/reperfusion injury stimulates mRNA expression of both p16 ($p=0.018$) and MCP-1 ($p=0.029$). PAS staining revealed tubular injury in kidney ischemia/reperfusion injury group which is associated with positive IHC staining of MCP-1 as inflammation marker.

Conclusion: Positive correlation occurs between inflammation and cellular senescence in kidney ischemia/reperfusion injury models.

Keywords: ischemia/reperfusion injury, kidney, cellular senescence, acute kidney injury, renal tubular injury, p16, MCP-1

INTISARI

Latar Belakang: Penyakit ginjal kronis merupakan suatu kondisi akibat proses kerusakan jaringan secara terus menerus yang disebabkan oleh berbagai macam penyakit ginjal seperti cedera ginjal akut. Cedera iskemia/reperfusi ginjal merupakan salah satu penyebab utama cedera ginjal akut. Pada kondisi tersebut kerusakan jaringan ginjal berlangsung ketika fase reperfusi yaitu pada saat pasokan darah kembali ke jaringan setelah periode iskemia atau kondisi kekurangan oksigen (anoksia atau hipoksia).

Tujuan: Untuk menentukan dampak dari cedera iskemia/reperfusi ginjal terhadap ekspresi mRNA p16 dan MCP-1 serta korelasi di antara ekspresi tersebut pada mencit dengan cedera tubulus ginjal.

Metode: Mencit galur Swiss jantan (umur 3 bulan dan berat 30-40 gram) digunakan sebagai hewan coba untuk model cedera iskemia/reperfusi ginjal. Pediculus kedua ginjal mencit-mencit tersebut akan dijepit selama 30 menit kemudian dilepaskan. Hewan coba ini dibagi menjadi 4 kelompok yang berbeda sesuai dengan perlakuan yang diberikan kepada mereka. Mencit tersebut akan dikorbankan pada hari pertama (kelompok I/R 1, n=6), kedelapan (kelompok I/R 8, n=6), dan kedua belas (kelompok I/R 12, n=6). Selain itu, prosedur *Sham Operation* juga dilakukan pada mencit yang akan digunakan sebagai kelompok kontrol (kelompok SO, n=6). Pada penelitian ini, RT-PCR dilakukan untuk menghitung ekspresi mRNA p16 dan MCP-1 sebagai penanda dari penuaan sel dan inflamasi. *Immunostaining* juga dilakukan untuk melihat lokalisasi dari MCP-1, sedangkan pewarnaan PAS digunakan untuk mengamati cedera tubulus ginjal pada penelitian ini.

Hasil: Analisis RT-PCR menunjukkan adanya ekspresi mRNA p16 dan MCP-1 yang lebih tinggi pada kelompok cedera iskemia/reperfusi ginjal dibandingkan dengan kelompok SO, khususnya pada kelompok I/R 8 dan I/R 12 untuk p16 serta kelompok I/R 1 dan I/R 8 untuk MCP-1. Data tersebut membuktikan bahwa cedera iskemia/reperfusi ginjal menyebabkan ekspresi mRNA dari p16 ($p=0.018$) dan MCP-1 ($p=0.029$) yang lebih tinggi daripada kondisi normal. Pewarnaan PAS menunjukkan cedera tubulus pada kelompok cedera iskemia/reperfusi ginjal yang berkaitan dengan pewarnaan IHC positif dari MCP-1 yang merupakan penanda inflamasi.

Kesimpulan: Terdapat korelasi positif antara inflamasi dan penuaan sel pada model cedera iskemia/reperfusi di ginjal.

Kata Kunci: cedera iskemia/reperfusi, ginjal, senescence, cedera ginjal akut, cedera tubulus ginjal, p16, dan MCP-1