

PENGARUH ASAM KLOROGENAT (*Chlorogenic Acid* / CGA) TERHADAP JANTUNG TIKUS (*Rattus norvegicus* [Brekenhout, 1769]) MODEL DIABETES MELITUS : Kajian Disfungsi Endotelial, *Vascular Remodeling* dan Enzim Antioksidan

Hanifa Hanini¹, Nur Arfian², Woro Rukmi Pratiwi³

Korespondensi : hanifa.hanini@mail.ugm.ac.id

¹Mahasiswa Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

INTISARI

Latar Belakang : Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit kelainan metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah diatas ambang normal (hiperglikemia). Keadaan hiperglikemia akan menginduksi aktivasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga memicu terjadinya kerusakan oksidatif pada sel. Pada organ jantung, kondisi stres oksidatif akibat peningkatan ROS akan menyebabkan kerusakan mikrovaskular, cedera miosit, terbentuknya matriks ekstraseluler, aktivasi mediator pro-inflamasi, disfungsi endotel dan *vascular remodeling*. Asam klorogenat (CGA) merupakan senyawa fenol ekstrak kopi yang memiliki fungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, anti hipertensi dan anti kanker. Pengaruh CGA dengan variasi tiga dosis terhadap disfungsi endotel, *vascular remodeling* dan aktivitas enzim antioksidan pada jantung tikus model DM belum pernah dianalisis.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh CGA terhadap disfungsi endotel (melalui ekspresi mRNA ppET-1 dan mRNA eNOS), *vascular remodeling* (melalui ekspresi mRNA JAK2, mRNA NFATc1 dan histomorfometri) serta aktivitas enzim antioksidan melalui ekspresi mRNA SOD1 pada jantung tikus DM.

Metode : Penelitian ini menggunakan desain penelitian *quasi eksperimental* dengan *post-test only with controlled group design*. Subjek yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan berumur 2 bulan dengan berat badan 150-200 gram yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu : kelompok kontrol dengan pemberian saline (NaCl) tanpa STZ dan tanpa CGA; kelompok DM 1,5 (DM selama 1,5 bulan); kelompok DM 2 (DM selama 2 bulan); kelompok CGA 1 (DM 1,5 bulan + injeksi CGA dosis 12,5 mg/kg/BB); kelompok CGA 2 (DM 1,5 bulan + injeksi CGA dosis 25 mg/kg/BB); kelompok CGA 3 (DM 1,5 bulan + injeksi CGA dosis 50 mg/kg/BB). Ekspresi mRNA dikuantifikasi dengan *Reverse Transcriptase-PCR*. Pemeriksaan *vascular remodeling* dinilai melalui parameter *lumen area* dan *wall/lumen area ratio* (WLAR) yang kuantifikasi dengan pewarnaan *Sirius Red*. Pemeriksaan ekspresi enzim antioksidan dengan imunohistokimia.

Hasil : Diabetes Melitus memodulasi terjadinya disfungsi endotel pada jantung tikus kelompok DM melalui tingginya ekspresi mRNA ppET-1 dan rendahnya ekspresi mRNA e-NOS dibandingkan kontrol ($p<0,05$). Ekspresi mRNA ppET-1 dan mRNA e-NOS pada kelompok CGA dosis 50 mg/kgBB lebih tinggi dan bernilai signifikan dibandingkan DM. Terjadi *vascular remodeling* melalui tingginya ekspresi mRNA (JAK2 dan NFATc1), sempitnya area lumen, dan besarnya WLAR yang signifikan pada kelompok DM dibandingkan kontrol ($p<0,05$). CGA menghambat *remodeling* pada *vascular* melalui rendahnya ekspresi mRNA (JAK2 dan NFATc1), luasnya area lumen, dan kecilnya WLAR. Ekspresi mRNA NFATc1 pada kelompok CGA dosis 50 mg/kgBB lebih rendah dan bernilai signifikan dibandingkan kelompok kontrol, kelompok DM 1,5, dan DM 2 ($p<0,05$). CGA dosis 12,5 mg/kgBB berpengaruh signifikan dalam memperluas area lumen dibandingkan kelompok DM. CGA dosis 50 mg/kgBB berpengaruh signifikan dalam menurunkan rasio WLAR. Tidak terdapat pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi mRNA SOD1 setelah pemberian CGA.

Kesimpulan : Pemberian CGA dosis 50 mg/KgBB berpengaruh terhadap ekspresi mRNA eNOS yang lebih tinggi, ekspresi mRNA JAK2 dan mRNA NFATc1 yang lebih rendah, area lumen vasa resisten yang lebih luas, dan wall/lumen area ratio (WLAR) yang lebih kecil dibandingkan kelompok diabetes melitus. Pemberian variasi dosis CGA tidak berpengaruh terhadap ekspresi mRNA SOD1 dan mRNA ppET-1 dibandingkan kelompok diabetes melitus.

Kata kunci: Antioksidan, CGA, Disfungsi Endotel, DM, *Vascular Remodeling*

THE EFFECT OF CHLOROGENIC ACID (CGA) ON RAT HEART (*Rattus norvegicus* [Brekenhout, 1769]) DIABETES MELLITUS MODEL : A Study of Endothelial Dysfunction, Vascular Remodeling, and Antioxidant Enzymes

Hanifa Hanini¹, Nur Arfian², Woro Rukmi Pratiwi³

Correspondence : hanifa.hanini@mail.ugm.ac.id

¹Postgraduate Student Program of Master of Biomedical Sciences Faculty of Medicine, Public Health and Nursing
Gadjah Mada University, Yogyakarta

²Department of Anatomy Faculty of Medicine, Public Health and Nursing
University of Gadjah Mada, Yogyakarta

³Department of Pharmacology Faculty of Medicine, Public Health and Nursing
University of Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Background: Diabetes Mellitus (DM) is one of the metabolic disorders diseases characterized by enhancement in blood glucose levels above the normals threshold (hyperglycemia). Hyperglycemia induces activation of Reactive Oxygen Species (ROS) triggered oxidative damage to cells. In the heart organs, oxidative stress conditions due to increasing of ROS will cause microvascular damage, myocyte injury, the formation of extracellular matrix, activation of pro-inflammatory mediators, endothelial dysfunction, and vascular remodeling. Chlorogenic acid (CGA) is a coffee extract phenol compound that has functions as an antioxidant, anti-inflammatory, antihypertensive and anti-cancer. The effect of CGA with three-dose variations on endothelial dysfunction, vascular remodeling, and antioxidant enzyme activity in the heart of the rat DM model has never been analyzed.

Purpose: This study aims to examine the influence of CGA on endothelial dysfunction (through the expression of mRNA ET-1 and mRNA eNOS), vascular remodeling (through the mRNA JAK2, mRNA NFATc1 expression, and histomorphometry), and the activity of antioxidant enzymes through the SOD1 mRNA expressions in the heart of DM rats.

Method: This research used a quasi-experimental research design with post-test only with controlled group design. The subjects used were rats (*Rattus norvegicus*) strains Wistar with a weight of 150-200 grams divided into 6 groups, namely: control group by saline administration (NaCl) without STZ and without CGA; DM group 1 (DM for 1.5 months); DM group 2 (DM for 2 months); CGA group 1 (DM 1.5 months + CGA injection dose 12.5 mg/kg/BW); group CGA 2 (DM 1.5 months + injection CGA dose 25 mg/kg/BW); CGA group 3 (DM 1.5 months + injection CGA dose 50 mg/kg/BW). mRNA expressions quantified by Reverse Transcriptase-PCR. Vascular remodeling examination assessed by lumen area parameters and wall/lumen area ratio (WLAR) quantification by Sirius red staining.

Results: Diabetes Mellitus modulate the occurrence of endothelial dysfunction in rat heart group DM through the high mRNA expression of ppET-1 and the low mRNA expression of eNOS compared to the control group ($p < 0.05$). The mRNA expression of ppET-1 and eNOS in the CGA group dose 50 mg/kgBW was higher and significant value than DM. Vascular remodeling occurs through the high of mRNA expression (JAK2 and NFATc1), the narrowness of the lumen area, and the high of WLAR in the DM group compared to the control group ($p < 0.05$). CGA inhibits vascular remodeling through the low mRNA expression (JAK2 and NFATc1), the breadth of the lumen area and the small of WLAR. The mRNA expression of NFATc1 in the CGA group dose 50 mg/kgBW was lower and of significant value compared to the control, DM 1.5, and DM 2 group ($p < 0.05$). CGA doses of 12.5 mg/kgBW had a significant effect in expanding the lumen area compared to the DM group. CGA dosage of 50 mg/kgBW had affected of lowering the WLAR ratio. There was no significant effect on the mRNA expression of SOD1 after administration of CGA.

Conclusion: Administration of CGA doses of 50 mg/kgBW effect on the high mRNA expression of eNOS, the lower mRNA expression of JAK2 and NFATc1, the breadth of the lumen area vasa resistant, and the small of wall/lumen area ratio (WLAR) compared to the diabetes mellitus group. The variation of the CGA dose did not affect to the mRNA expression of SOD1 and ppET-1 compared to the diabetes mellitus group.

Keywords: Antioxidant, CGA, Endothelial Dysfunction, DM, Vascular Remodeling