

DISERTASI

MEKANISME PENCEGAHAN PROGRESIVITAS KERUSAKAN *TIGHT JUNCTION* USUS SETELAH PEMBERIAN REKOMBINAN INTERLEUKIN-27 MODEL LUKA BAKAR BERAT PADA MENCIT (*Mus Musculus*) GALUR BALB-C



**WD. FIFIN ERVINA
011717017314**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

**MEKANISME PENCEGAHAN PROGRESIVITAS KERUSAKAN *TIGHT
JUNCTION* USUS SETELAH PEMBERIAN REKOMBINAN
INTERLEUKIN-27 MODEL LUKA BAKAR BERAT PADA MENCIT
(*Mus Musculus*) GALUR BALB-C**

**TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 27 JULI 2021**

Oleh

Promotor



**Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK (K)
NIP. 196308151990022001**

Kopromotor I



**Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.ParK (K)
NIP 194310281972031001**

Kopromotor II



**Dr. Iswinarno Doso Saputro, dr., Sp. BP (K)
NIP 196304151990031016**

RINGKASAN

Mekanisme Pencegahan Progresivitas Kerusakan *Tight Junction* Usus Setelah Pemberian Rekombinan Interleukin-27 Model Luka Bakar Berat Pada Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb-c

Luka bakar berat dengan manifestasi sepsis merupakan komplikasi utama pada pasien. Kematian akibat sepsis pada orang dewasa 50%-84% dan pada anak sekitar 50%. Di Indonesia sebanyak 195.000 pasien luka bakar meninggal dunia tiap tahunnya. Luka bakar berat menyebabkan sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α berlebih mengakibatkan terjadinya vasokonstriksi dan sel epitel usus mengalami iskemik hingga disbiosis yang berdampak pada translokasi bakteri menuju *mesenteric lymph node* sehingga mengakibatkan kerusakan *tight junction* usus.

Interleukin-27 (IL-27) telah dibuktikan secara empiris dapat berperan sebagai sitokin anti-inflamasi terhadap penurunan jumlah TNF- α dan IL-17 pada *inflammatory bowel disease* (IBD). IL-27 juga diasumsikan berikatan dengan reseptornya (IL-27RA dan gp130) di sel epitel usus sehingga mengaktifkan SOCS3 yang dapat menghambat sinyal transduksi TRAF 6 dan MAL untuk mengaktifkan NF κ B. Hambatan sinyal NF κ B menekan sekresi TNF- α sehingga tidak mampu menginduksi aktivasi MLCK yang dapat meningkatkan protein transmembran *tight junction* yaitu ZO-1 dan occludin, dengan demikian mencegah progresivitas kerusakan *tight junction*.

Tujuan penelitian ini untuk menjelaskan mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan *tight junction* usus setelah pemberian rekombinan interleukin-27 (rIL-27) model luka bakar berat melalui beberapa variabel perantara seperti ekspresi IL-27 sirkulasi dan ileum; ekspresi TNF- α sirkulasi dan ileum, ekspresi SOCS3, ekspresi NF κ B, ekspresi TLR4, dan ekspresi protein *tight junction* usus (ZO-1 dan occludin).

Penelitian dikerjakan sejak bulan Januari 2020 dan selesai Agustus 2020 dengan menggunakan fasilitas Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA UB, Laboratorium Mikrobiologi FK UB, dan Unit Mikroskop Elektron dan Laboratorium Terpadu FK UNAIR. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap.

Jenis penelitian tahap I yaitu observasioval deskripsi, sedangkan jenis penelitian tahap II yaitu eksperimen laboratorium. Jumlah sampel penelitian tahap I adalah 17 ekor mencit, sedangkan jumlah sampel penelitian tahap II adalah 24 ekor mencit terbagi dalam tiga kelompok yaitu kelompok tanpa luka bakar, kelompok luka bakar, dan kelompok luka bakar+rIL-27. 24 jam setelah perlakuan mencit dikorbankan kemudian diambil jaringan limpa dan ileum untuk dianalisis menggunakan metode *flowcytometry* dan imunohistokimia.

Analisis statistik normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk*, selanjutnya untuk mengetahui beda antar kelompok menggunakan uji *One Way Anova* dan *Kruskal-Wallis*. Uji *Scheffe* digunakan untuk melihat signifikansi perbedaan perlakuan di setiap kelompok. Uji regresi linear digunakan untuk melihat pengaruh antar variabel.

Hasil penelitian tahap I yaitu model luka bakar dengan paparan 90°C selama 8 detik sebanyak 4 kali + 10µL rIL-27 telah menyebabkan translokasi bakteri di *mesenteric lymph node* dan terjadi kerusakan jaringan kulit. Hasil penelitian tahap II yaitu membuktikan tidak ada pengaruh rIL-27 terhadap IL-27 sirkulasi ($p=0,593$); tidak ada pengaruh rIL-27 terhadap IL-27 ileum ($p=0,704$); ada pengaruh IL-27 sirkulasi terhadap TNF- α sirkulasi ($p=0,001$); ada pengaruh TNF- α sirkulasi terhadap TLR4 ($p=0,041$); tidak ada pengaruh signifikan TLR4 terhadap NF κ B ($p=0,185$); ada pengaruh IL-27 ileum terhadap SOCS3 ($p=0,001$); tidak ada pengaruh SOCS3 terhadap NF κ B ($p=0,929$); tidak ada pengaruh NF κ B terhadap TNF- α ileum ($p=0,511$), tidak ada pengaruh TNF- α sirkulasi terhadap ZO-1 ($p=0,560$), tidak ada pengaruh TNF- α sirkulasi terhadap ocludin ($p=0,806$), tidak ada pengaruh TNF- α ileum terhadap ZO-1 ($p=0,976$), tidak ada pengaruh TNF- α ileum terhadap ocludin ($p=0,923$), dan ada pengaruh tetapi tidak signifikan ZO-1 terhadap ocludin ($p=0,084$).

Rekombinan IL-27 berpengaruh langsung terhadap pencegahan progresivitas kerusakan *tight junction* usus. Mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan *tight junction* usus akibat luka bakar berat dapat dijelaskan secara khusus melalui beberapa variabel seperti ekspresi TNF- α sirkulasi, TLR4, SOCS3, dan ocludin.

Penelitian ini memperoleh temuan baru yaitu: (1) Rekombinan IL-27 mampu mencegah progresivitas kerusakan *tight junction* usus setelah paparan luka bakar berat melalui beberapa variabel seperti ekspresi TNF- α sirkulasi, TLR4, SOCS3, dan ocludin; (2) Ada pengaruh langsung dari rekombinan IL-27 terhadap peningkatan ekspresi ZO-1, ocludin, dan komposit ZO-1+occludin (3) Ada mekanisme langsung rekombinan IL-27 terhadap penurunan ekspresi TNF- α di sirkulasi dan ileum. Sehingga dapat dikatakan bahwa IL-27 berperan sebagai sitokin anti-inflamasi.

ABSTRACT

Prevention Mechanism of Intestinal Tight Junction Damage After Administration of Recombinant Interleukin-27 In Severe Burn Injury Mice (Mus musculus) Balb-c

Severe burns can result in translocation of the intestinal flora microbes into the circulation. The bacterial translocation is caused by damage to the intestinal tight junction. It is known that the damage to the tight junction is influenced by TNF- α . Interleukin-27 (IL-27) is assumed to inhibit the secretion of TNF- α in the circulation and ileum. The aim of this study is to prove the mechanism of preventing progression of tight junction damage after administration of recombinant IL-27 (rIL-27) in a severe burn model.

The number of samples in the first phase of the study was 17 mice which were divided into 6 groups. The number of samples in the second phase of the study were 24 mice which were divided into three groups, namely the without burns group, the burn group, and the burn+rIL-27 group. 24 hours after exposure to burns, the mice were sacrificed and then the mesenteric lymph nodes, skin tissue, spleen and ileum were examined and several parameters were examined from the independent variable, the intermediate variable, and the dependent variable.

The results of the first stage of the study were burn model with exposure to 90⁰C for 8 seconds as much as 4 times + 10 μ L rIL-27 caused bacterial translocation in the mesenteric lymph node and skin tissue damage. The results of the second phase of the study were proving that there was no effect of rIL-27 on circulating IL-27 ($p=0.593$); there was no effect of rIL-27 on ileal IL-27 ($p=0.704$); there was an effect of circulating IL-27 on circulating TNF- α ($p=0.001$); there was an effect of circulating TNF- α on TLR4 ($p=0.041$); there was no significant effect of TLR4 on NF κ B ($p=0.185$); there was an effect of ileal IL-27 on SOCS3 ($p=0.001$); there was no effect of SOCS3 on NF κ B ($p=0.929$); there was no effect of NF- κ B on ileal TNF- α ($p=0.511$), no effect of circulating TNF- α on ZO-1 ($p=0.560$), no effect of circulating TNF- α on occludin ($p=0.806$),

no effect Ileal TNF- α on ZO-1 ($p=0.976$), there was no effect of ileal TNF- α on occludin ($p=0.923$), and there was a significant but insignificant effect of ZO-1 on occludin ($p=0.084$).

The conclusion is that Recombinant IL-27 has a direct effect on preventing the progression of intestinal tight junction damage. The mechanism of preventing the progression of intestinal tight junction damage due to severe burns can be specifically explained through several variables such as expression of TNF- α in the circulation, TLR4, SOCS3, and occludin.

Keywords: Recombinant IL-27, intestinal tight junction, severe burns, ZO-1, occludin.