

Pengaruh Heparin Terhadap Kadar Nuclear Factor Kappa Beta Sub Unit p65 dan Produksi Tumor Necrosis Factor Alpha Pada Isolat Monosit Dari Pasien Dengan Sepsis Berat = Effect of Heparin on NFkB p65 Sub Unit Level and TNF alpa Production in Monocyte Isolation From Severe Sepsis Patients

Dwi Yanti Anggraini, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920534783&lokasi=lokal>

Abstrak

Sepsis dikenal secara luas sebagai sindrom klinis yang merupakan hasil dari respon sistemik yang hebat terhadap infeksi dan melibatkan gangguan pada berbagai organ penderitanya. Sepsis merupakan penyebab kematian tersering pada pasien yang dirawat di unit perawatan intensif. Proses inflamasi dengan respon maladaptif terhadap proses tersebut merupakan mekanisme terjadinya disfungsi organ multipel dan kematian pada sepsis. Heparin juga diketahui dapat memodulasi proses inflamasi, namun belum banyak penelitian yang menjelaskan dosis heparin sebagai antiinflamasi. Penelitian ini ingin mengkaji lebih jauh pengaruh dosis heparin terhadap aktivasi faktor transkripsi Nuclear Factor Kappa Beta (NFkB) melalui pengukuran terhadap kadar NFkB sub unit p65 dan produksi sitokin proinflamasi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-?) untuk memberikan dasar ilmiah mengenai penggunaan dosis heparin sebagai antiinflamasi pada pasien dengan sepsis berat. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorik dengan menggunakan sampel dari 5 orang sukarelawan sehat dan 10 orang pasien sepsis berat. Sel mononuklear darah tepi (peripheral blood mononuclear cells/PBMC) dari darah vena diperoleh dengan teknik Ficoll-hypaque. Fraksi non-monosit dari PBMC menggunakan Monoclonal Antibody Cell Sorter (MACS) microbeads. Isolasi monosit diresuspensi pada medium Roswell Park Memorial Institute (RPMI) yang disuplementasi dengan 10% fetal bovine serum (FBS). Sel kemudian dipaparkan dengan heparin 0.1 IU/ml (1?g/ml), 1 IU/ml (10 ?g/ml), dan 10 IU/ml (100 ?g/ml), sedangkan kontrol tidak diberi perlakuan. Setelah diinkubasi pada 37°C dan 5% CO₂ selama 6 jam dan 24 jam, pelet sel diukur NFkB sedangkan supernatan diukur TNF-? dengan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan kadar NFkB sub unit 65 dan produksi TNF-? pada kultur monosit pasien sepsis berat yang mendapat heparin ditemukan secara signifikan lebih rendah daripada kontrol. Heparin dosis rendah 0.1 IU/ml (1?g/ml), secara signifikan menurunkan aktivasi NF?B dan produksi TNF-? lebih besar. Penelitian ini menunjukkan bahwa heparin menghambat aktivasi NFkB sehingga menurunkan produksi sitokin TNF-?. Heparin dengan dosis rendah menunjukkan pengaruh sebagai antiinflamasi lebih besar. Hasil yang diperoleh diharapkan memberikan pemahaman baru mengenai pengaruh dosis heparin sebagai anti-inflamasi pada pasien sepsis berat.

.....Sepsis is a severe systemic response to infection, based on the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) plus infection proven or clinically suspected infection, with evidence of organ failure due to hypo-perfusion. Anti-inflammatory therapy is one of the important therapeutic modality and applied potential as sepsis therapy. Inflammatory process with a maladaptive response to this process is the mechanism for the occurrence of multiple organ dysfunction and mortality in sepsis. Bacterial lipopolysaccharide binds to CD14 receptors and toll-like receptor (TLR) on the surface of monocytes and activates intracellular signal transduction involving beta-Kinase Inhibitor Kappa/IKKB that activates Nuclear Factor Kappa-Beta (NFkB) enter the nucleus and initiate transcription of RNA that encodes the

production of cytokines TNF- α . Heparin has long been known as an anticoagulant, but also known to modulate the inflammatory process. This study wanted to examine further role of heparin as an anti-inflammatory to provide a scientific basis for the use of heparin in sepsis. Peripheral blood mononuclear cells (peripheral blood mononuclear cells/PBMC) of patients with severe sepsis obtained by Ficoll-Hypaque technique. Non-monocyte fraction of PBMC were removed using a Monoclonal Antibody Cell Sorter (MACS) microbeads. Isolation of monocytes resuspended in Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS). Cells then exposed to 0.1 IU heparin (1 μ g/ml), 1 IU (10 μ g/ml), and 10 IU (100 μ g/ml), whereas controls did not. After incubation at 37°C and 5% CO₂ for 6 hours and 24 hours, each sample is aspirated into micro centrifuge tube and rotated at a speed of 400 g for 5 min. Cell pellet was measured for NF κ B and supernatant measured for TNF- α . Both were measured by ELISA. The results showed NF κ B activation and TNF- α production in cultured monocytes severe sepsis patients who received heparin found to be significantly lower than controls. Low-dose heparin 0.1 IU (1 μ g/ml), significantly decreased the activation of NF κ B and TNF- α production a lot more. This study demonstrates how heparin interfere an inflammatory response in severe sepsis patients monocytes through interrupt NF κ B activation that decrease the production of cytokines TNF- α . The results are expected to provide new insights into the role of heparin as an anti-inflammatory in patients with severe sepsis.