

PENELITIAN

PENGARUH DEXMEDETOMIDINE INTRAVENA TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE 1 (SOD-1) OTAK KELINCI PADA *CEREBRAL ISCHEMIC REPERFUSION INJURY MODEL*

EFFECTS OF INTRAVENOUS DEXMEDETOMIDINE AGAINST RABBIT BRAIN SUPEROXIDE DISMUTASE 1 (SOD-1) LEVELS ON CEREBRAL ISCHEMIC REPERFUSION INJURY MODEL

R. A. Nino Tetuko✉*, Heru D Jatmiko**, Johan Arifin**

*Peserta program pendidikan dokter spesialis Anestesiologi dan Terapi Intensif FK Undip/RSUP Dr. Kariadi

** Staff pengajar program pendidikan dokter spesialis Anestesiologi dan Terapi Intensif FK Undip/

✉ Korespondensi/Correspondence: ninotetuko@gmail.com

ABSTRACT

Background : *Dexmedetomidine is a selective and potent α_2 -adrenergic receptor agonist (α_2 -AR), indicating the nature of sparing anesthesia, analgesia and simpatolitik, including as a protective agent for ischemic reperfusion injury (IRI). Superoxide dismutase 1 (SOD-1) play an important role in balancing the oxidation and antioxidant status, provide an important defense against the toxicity of superoxide radicals, so it can protect cells from damage. Ischemia reperfusion injury can result from various factors such as the release of free radicals oxygen and successively by lipid peroxidation, cell death by apoptosis or necrosis, inflammatory cytokines, and damage the micro vascularization. Reactive oxygen species appears within reperfusion injury to damage the cellular structure through the process of lipid peroxidation of cell membranes and results of toxic metabolites such as malondialdehyde (MDA).*

Objective : *To determine the effect of intravenous dexmedetomidine on levels of superoxide dismutase 1 (SOD-1) rabbit brain with cerebral ischemic reperfusion injury models.*

Method : *An experimental study Randomize Post Test Only Control Group Design uses 10 New Zealand rabbits. 5 rabbits given treatment with administration of 0.5 mcg/kg/h dexmedetomidine and performed occlusion of the internal carotid artery (K1). 5 rabbits untreated (KK) also performed occlusion of the internal carotid artery and superoxide dismutase 1 (SOD-1) examination as a control. Shapiro Wilk normality test continued with parametric test using Independent T-test.*

Results : *The mean levels of SOD-1 in the control group 0.47 ± 0.23 and a P value of 0.273 (normal) and average levels SOD-1 in the treatment group 1.00 ± 0.29 and a P value of 0.422 (normal). Parametric tests were used Independent T-test with p value = 0.013. Because the value of $p < 0.05$, it can be concluded there is a significant difference.*

Conclusions : *Dexmedetomidine significantly increase the value of superoxide*

dismutase 1 (SOD-1) in New Zealand rabbits that were given occlusion of the internal carotid artery.

Key words : Dexmedetomidine, levels of superoxide dismutase 1

ABSTRAK

Latar Belakang: Dexmedetomidine adalah agonis α_2 -adrenergik reseptor (α_2 -AR) yang selektif dan ampuh, menunjukkan sifat sparing anestesi, analgesia dan sifat simpatolitik, termasuk digunakan sebagai agen pelindung untuk Ischemic Reperfusion Injury (IRI). Superoxide Dismutase 1 (SOD-1) memainkan peran penting dalam menyeimbangkan status oksidasi dan antioksidan, memberikan pertahanan penting terhadap toksisitas superoksida radikal, sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan. Ischemia Reperfusion Injury dapat dihasilkan dari berbagai faktor seperti pelepasan radikal oksigen bebas dan berturut-turut oleh peroksidasi lipid, kematian sel oleh apoptosis atau nekrosis, inflamasi sitokin, dan kerusakan vaskularisasi mikro. Spesies oksigen reaktif yang muncul dengan cedera reperfusi merusak struktur selular melalui proses peroksidasi lipid dari membran sel dan hasil metabolit beracun seperti malondialdehyde (MDA).

Tujuan : Mengetahui efek dexmedetomidine intravena terhadap kadar Superoxide Dismutase 1 (SOD-1) otak kelinci dengan cerebral ischemic reperfusion injury model.

Metode : Penelitian eksperimental Randomize Post Test Only Control Group Design menggunakan 10 ekor kelinci New Zealand. 5 ekor kelinci diberikan perlakuan dengan pemberian dexmedetomidine 0,5 mcg/kgbb/jam dan dilakukan oklusi pada arteri karotis interna (K1). 5 ekor kelinci yang tidak mengalami perlakuan (KK) juga dilakukan oklusi arteri karotis interna dan dilakukan pemeriksaan Superoxide Dismutase 1 (SOD-1) sebagai control. Uji normalitas dengan Saphiro Wilk dilanjutkan uji parametric menggunakan Independent T-test.

Hasil : Kadar rerata SOD-1 pada kelompok kontrol $0,47 \pm 0,23$ dan nilai P 0,273 (normal) dan kadar rerata SOD-1 pada kelompok perlakuan $1,00 \pm 0,29$ dan nilai P 0,422 (normal). Uji beda digunakan uji parametric Independent T-test didapatkan nilai $p = 0,013$. Karena nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna.

Kesimpulan : Dexmedetomidine secara signifikan meningkatkan nilai Superoxide Dismutase 1 (SOD-1) pada kelinci New Zealand yang diberikan perlakuan oklusi pada arteri karotis interna.

Kata kunci : Dexmedetomidine, Kadar Superoxide Dismutase 1 (SOD-1).

PENDAHULUAN

Dexmedetomidine adalah agonis α_2 -adrenergik reseptor (α_2 -AR) yang selektif dan ampuh, menunjukkan sifat *sparing* anestesi, analgesia dan sifat simpatolitik, dandigunakan untuk sedasi pasien-pasien yang dirawat di unit perawatan intensif (ICU), termasuk digunakan sebagai agen pelindung untuk *Ischemic Reperfusion Injury (IRI)* pada berbagai organ.^{1,2}Tujuan utama dari pemberian obat penenang untuk pasien di unit perawatan pasca anestesi dan ICU neurologis adalah untuk memberikan anxiolysis dan analgesia³. Selain itu, Dexmedetomidine dan agonis α_2 -AR lainnya telah digunakan untuk mengelola hiperaktifitas simpatik yang dihasilkan dari sindrom putus obat pada pasien dengan penyalahgunaan zat terlarang⁴.

Superoxide Dismutase (SOD-1) memainkan peran penting pada tubuh dalam menyeimbangkan status oksidasi dan antioksidan. Enzim ini merupakan salah satu dari tiga *Superoxide Dismutases* yang bertanggung jawab untuk menghancurkan radikal superoksida bebas dalam tubuh. Isozym yang dikodekan adalah protein yang larut dalam ruang antar membran sitoplasma dan mitokondria, bertindak sebagai *homodimer* untuk mengkonversi secara alamiradikal superoksida menjadi molekul oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2)⁵. Hidrogen peroksida kemudian dapat dipecah oleh enzim lain yang disebut katalase. Dengan demikian SOD-1 memberikan pertahanan yang penting

terhadap toksisitas superoksida radikal, sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan.

Ischemia Reperfusion Injury (IRI) atau cedera iskemia-reperfusi dapat dihasilkan dari berbagai faktor-faktor seperti pelepasan radikal oksigen bebas dan berturut-turut oleh peroksidasi lipid, kematian sel oleh apoptosis atau nekrosis, inflamasi sitokin, dan kerusakan vaskularisasi mikro.^{6, 7} Spesies oksigen reaktif yang muncul dengan cedera reperfusi merusak struktur selular melalui proses peroksidasi lipid dari membran sel dan hasil metabolit beracun seperti *malondialdehyde (MDA)*, yang mana digunakan sebagai penanda sensitif cedera iskemia-reperfusi.

METODE

Penelitian ini termasuk eksperimental laboratorik dengan desain *Randomized post test only controlled group* dengan tujuan mencari pengaruh pemberian Dexmedetomidine intravena secara kontinyu pada kelinci dengan *cerebral ischemic reperfuion injury model* terhadap kadar *superoxide dismutase 1 (SOD1)* jaringan otak.⁸

Penelitian ini menggunakan 16 ekor kelinci yang akan dibedakan menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasikan dengan dikandangkan per kelompok dan diberi pakan standar serta minum yang sama selama 1 minggu.

Kriteria inklusi adalah kelinci jantan New Zealand umur 1-2 tahun

dengan berat badan 1,5-2,5 kg, tidak ada kelainan anatomis, dan aktif selama masa adaptasi. Sedangkan kriteria eksklusi adalah Kelinci sakit selama masa adaptasi 7 hari (gerakan tidak aktif).

Kelinci diberikan anestesi dengan Ketamin 35 mg/kgbb intramuskular, ditrakeostomi dengan ET no 3,0 non cuff dan diventilasi dengan *Jackson rees* dengan O₂ 4 l/mnt. Pasang jalur intravena NaCl 0,9 %. Pemeliharaan anestesi dengan Ketamin 35mg/kgbb/jam dan dipasang *pulse oxymetry*. Kelinci dibaringkan seluruh permukaan kepala dibersihkan bulunya dan didesinfeksi dengan alkohol 70%. Kulit bagian kepala diinsisi dan dilakukan eksplorasi, dilakukan oklusi arteri karotis interna.

Dosis dexmedetomidine intravena 0,5 mcg/kg/jam secara kontinyu diberikan pada kelompok perlakuan sejak awal sampai akhir prosedur, sedangkan kelompok kontrol diberikan *normal saline* 0,1 ml/kg/jam dari awal sampai akhir prosedur. Focal CNS iskemia/reperfusi tercapai dalam 60 menit oklusi dari pembuluh darah otak yang terisolasi menggunakan klip *microaneurysm*. Setelah 60 menit, oklusi dilepas dan reperfusi ditandai dengan *hyperemia* reaktif pada permukaan daerah iskemik. Ditunggu selama 1 jam sejak terjadi reperfusi, kemudian dilakukan oklusi kembali pada *arteri karotis interna* sambil disuntikkan *methylenblue* 10 % intravena 5 ml sampai mata kelinci berwarna biru. Akan tampak area otak yang tidak *tervaskularisasi* dengan

methylenblue 10 %, kemudian diambil jaringan otak pada area tersebut sebagai sampel.

Sampel jaringan dicuci cairan PBS dengan pH 7,4 untuk menghilangkan sel darah merah dan bekuan darah. Untuk menghomogenkan jaringan ditambah 5-10 ml 20mM HEPES *buffer* dingin, pH 7,2 tiap 1 gram jaringan. Jaringan disentrifus pada 1500 RPM 4°C selama 5menit, disimpan di *freezer* -80°C karena pemeriksaan dilakukan di lain hari.

Data yang terkumpul dilakukan *cleaning*, *coding* dan *tabulasi*. Data dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan program computer SPSS 15.0 for windows dan analisa data meliputi analisis deskriptif dalam bentuk rerata, *standart deviation* dan grafik. Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat distribusi datanya normal atau tidak dengan uji *Shapiro-Wilk*. Setelah dilakukan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa data hasil penelitian berdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji *Parametric T-Test*.

HASIL

Sebanyak 6 ekor kelinci mengalami drop out karena mati selama perlakuan. Sehingga penelitian ini menggunakan 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (KK) terdiri dari 5 ekor kelinci yang diberikan perlakuan *cerebral ischemic reperfusion injury* dan kelompok perlakuan (K1) terdiri dari 5 ekor kelinci yang diberikan perlakuan *cerebral ischemic reperfusion*

injury dan diberikan injeksi intravena Dexmedetomidine 0,5 µg/kgBB/jam pada saat mulai perlakuan iskemik sampai dengan selesai perlakuan reperfusi.

Kadar SOD1 dari tiap-tiap kelompok diperiksa menggunakan metode ELISA sedangkan hasilnya dihitung menggunakan persamaan regresi linier. Hasil dari pemeriksaankadar SOD1 dapat dilihat pada tabel 2.

Dari tabel deskriptif dan normalitas data pada kelompok kontrol dan perlakuan didapatkan nilai $p > 0,05$ atau berdistribusi normal sehingga untuk uji beda digunakan uji parametrik *Independent t-test*.

Dari hasil uji *Independent t-test* didapatkan nilai $p = 0,013$, karena $p < 0,05$ maka disimpulkan terdapat perbedaan bermakna.

PEMBAHASAN

Ischemic Reperfusion Injury (IRI) atau cedera iskemia reperfusi adalah fenomena dimana kerusakan sel dalam organ akibat hipoksia diikuti dengan perbaikan pengiriman oksigen. Berbagai bukti menunjukkan adanya keterlibatan oksigen radikal dalam patogenesis lesi iskemik. Reoksigenasi pada saat reperfusi menyediakan substrat bagi sejumlah reaksi oksidasi enzimatik.

Mitokondria memproduksi anion superoksida radikal dan hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam keadaan normal. Reperfusi setelah iskemik menyebabkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebih pada mitokondria. ROS dapat secara

langsung terlibat dengan makromolekul seluler seperti lipid, protein dan asam nukelat pada jaringan iskemik, yang akhirnya dapat menyebabkan kematian sel.

Cedera setelah iskemik-reperfusi pada sistem saraf pusat dapat berkontribusi pada morbiditas dan mortalitas stroke, trauma kepala, endotrakeostomi, repair aneurisma aorta. Cedera setelah iskemik-reperfusi pada sistem saraf pusat ditandai dengan gangguan sawar darah-otak, sehingga terjadi edema serebral, peningkatan tekanan intrakranial dan transmigrasi leukosit ke jaringan otak dan sekitarnya. Sel darah putih kemudian akan melepaskan berbagai protease mediator yang menghasilkan lipid dan ROS yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang bersifat irreversibel, terutama bila terjadi dalam daerah penumbra iskemik. Selain itu, oleh karena hilangnya vasoreaktif otak, hiperemi reaktif dapat terjadi yang mana ini dapat memperburuk edema serebral. Jadi cedera setelah iskemik-reperfusi pada sistem saraf pusat dapat bermanifestasi klinis sebagai perburukan sensorik, motorik, dan atau fungsi kognitif sampai dengan kematian.

Selama IRI, telah disimpulkan bahwa penggunaan Dexmedetomidine, yang merupakan α_2 adrenergik agonis reseptor, menghasilkan peningkatan aktivitas enzim antioksidan, dan dalam pemeriksaan histologis, memiliki peranan penting untuk mengurangi kerusakan yang diberikan oleh IRI. Reperfusi dari organ iskemik, sering

mengakibatkan kerusakan jaringan yang parah, namun situasi ini sebagian besar disebabkan oleh re-oksigenasi daripada periode iskemik.

Dalam beberapa penelitian, setelah re-oksigenasi meskipun terjadi peningkatan dalam jumlah spesies oksigen reaktif (ROS), antioksidan sistem pertahanan dapat menyebabkan ketidakmampuan untuk merusak jaringan. Reperfusi jaringan iskemik lebih lanjut meningkatkan reaksi inflamasi. Kasus ini terjadi karena peningkatan pelepasan radikal bebas dan akumulasi mediator inflamasi dan sel-sel kekebalan tubuh memberikan kerusakan.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat peningkatan bermakna kadar SOD1 dengan pemberian dexmedetomidine 0,5 µg/kgbb/jam intravena secara kontinyu pada kelinci yang dibuat *ischemic reperfusion injury* dibandingkan dengan kelompok yang hanya dilakukan *ischemic reperfusion injury* tanpa diberi dexmedetomidine 0,5 µg/kgbb/jam. Hal ini sesuai dengan teori yang telah pada beberapa penelitian sebelumnya.

Dexmedetomidine adalah selektif α_2 agonis, sedatif lebih selektif terhadap reseptor α_2 dibanding klonidin. Pada dosis yang lebih tinggi akan hilang selektifitasnya dan stimulasinya pada reseptor α adrenergik. Aktifasi reseptor di otak dan spinal cord menghambat fungsi neuronal, menyebabkan hipotensi, bradikardi, sedasi, ansiolitik, analgesi dan kurangnya respon simpatik terhadap pembedahan dan stres.

SOD memiliki antioksidan yang kuat dan aktivitas fisik dan berfungsi sebagai radikal bebas utama tubuh. MDA, produk akhir dari peroksidasi lipid dapat dinilai pada kombinasi dengan SOD untuk mengevaluasi efek dari Dexmedetomidine pada stres oksidatif. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa Dexmedetomidine dapat mengurangi peningkatan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD.

Pada hewan percobaan ada 2 faktor yang mempengaruhi hasil percobaan, yaitu :

1. Faktor internal

Faktor internal yang dapat mempengaruhi hasil percobaan antara lain adalah variasi biologi (usia, jenis kelamin), ras dan sifat genetik, status kesehatan dan nutrisi, bobot tubuh dan luas permukaan tubuh hewan. Usia dan jenis kelamin berpengaruh pada hasil percobaan karena pada usia yang tepat pada fase hidup hewan tersebut, efek farmakologis yang dihasilkan akan lebih baik.

Jenis kelamin juga berpengaruh dilihat dari literatur bobot badan hewan akan berbeda. Hal ini berpengaruh pada dosis yang akan digunakan pada hewan percobaan tersebut. Begitu juga dengan ras dan sifat genetik yang berbeda-beda, maka hasil percobaan juga akan berbeda. Hal ini karena gen pada setiap individu berbeda, dengan gen yang berbeda-beda dan karakteristik yang berbeda-pula, maka masing-masing memiliki perbedaan dalam perilaku, kemampuan imunologis, infeksi penyakit, kemampuan dalam reaksi terhadap obat,

kemampuan reproduksi dan lain sebagainya. Status kesehatan dan nutrisi berpengaruh terhadap hasil percobaan karena efek yang dihasilkan dalam dosis akan cepat diserap oleh tubuh dan berlangsung cepat efek yang dihasilkan. Bobot dan luas permukaan tubuh hewan yang besar akan lebih membutuhkan lebih banyak dosis untuk mendapatkan data kuantitatif yang akurat pada efek farmakologis yang terjadi.⁹

2. Faktor eksternal

Faktor eksternal yang dapat mempengaruhi hasil percobaan antara lain adalah pemeliharaan lingkungan fisiologik (keadaan kandang, suasana asing atau baru, pengalaman hewan dalam penerimaan obat, keadaan ruangan hidup seperti suhu, kelembaban udara, ventilasi, cahaya, kebisingan, serta penempatan hewan), suplai oksigen, pemeliharaan keutuhan struktur ketika menyiapkan jaringan atau organ hewan percobaan.⁹

Pada penelitian ini didapatkan 6 ekor kelinci mati selama perlakuan. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan kematian pada kelinci tersebut yaitu dari faktor internal seperti usia dan berat badan yang tidak seragam. Sehingga pada kelinci yang mendapat perlakuan dalam penelitian ini, efek farmakologis terhadap perlakuan *cerebral ischemic reperfusion injury* yang diterima dan dihasilkan masing-masing kelinci sangat berbeda, mungkin diperlukan parameter pemantauan dan penilaian tambahan berkaitan karakteristik objek penelitian dalam hal berat badan, lama tindakan, serta kondisi tanda vital he-

wan coba terkait selama mendapat perlakuan.

SIMPULAN

Terdapat peningkatan kadar SOD1 otak kelinci pada *cerebral ischemic reperfusion injury* yang diberikan Dexmedetomidine dibandingkan dengan kelinci yang tidak mendapat Dexmedetomidine. Agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian Dexmedetomidine intravena pada kelompok umur dan berat badan yang sama pada kelinci dan dengan memperhatikan faktor internal dan eksternal yang lain pada hewan coba.

Tabel 2 . Kadar SOD-1 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Sampel	KK	K1
1	0,8492	0,8750
2	0,2663	1,1973
3	0,3520	0,8155
4	0,5347	0,7244
5	0,3685	1,4218

Tabel 3. Deskriptif dan normalitas kadar SOD-1

Kelompok	Mean ± SD	Median (min – maks)	P	Keterangan
Kontrol	0,47 ± 0,23	3685 (2663 – 8492)	0,273	Normal
Perlakuan	1,00 ± 0,29	8750(7244 – 1,4218)	0,422	Normal

Tabel 5. Perbedaan kadar SOD 1 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan uji *Independent t-test*

Kelompok	Mean ± SD	P
Kontrol	0,47 ± 0,23	0,013
Perlakuan	1,01 ± 0,29	

DAFTAR PUSTAKA

1. McCutcheon CA, Orme RM, Scott DA, Davies MJ and McGlade DP: A comparison of dexmedetomidine versus conventional therapy for sedation and hemodynamic control during carotid endarterectomy performed under regional anesthesia. *Anesth Analg.* 102:668–675. 2006
2. Ramsay MA and Luterman DL: Dexmedetomidine as a total intravenous anesthetic agent. *Anesthesiology.* 101:787–790. 2004
3. Billings FT 4th, Chen SW, Kim M, et al: alpha2-Adrenergic agonists protect against radiocontrast-induced nephropathy in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 295:F741–F748. 2008
4. Multz AS: Prolonged dexmedetomidine infusion as an adjunct in treating sedation-induced withdrawal. *Anesth Analg.* 96:1054–1055. 2003
5. Sea K, Sohn SH, Durazo A, Sheng Y, Shaw BF, Cao X, Taylor AB, Whitson LJ, Holloway SP, Hart PJ, Cabelli DE, Gralla EB, Valentine JS (Jan 2015). "Insights into the role of the unusual disulfide bond in copper-zinc superoxide dismutase". *The Journal of Biological Chemistry* 290 (4): 2405–18. [doi:10.1074/jbc.M114.588798](https://doi.org/10.1074/jbc.M114.588798). [PMID 25433341](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25433341/)
6. J. M. McCord, "The evolution of free radicals and oxidative stress," *American Journal of Medicine*, vol. 108, no. 8, pp. 652– 659, 2000
7. D. L. Carden and D. N. Granger, "Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury," *The Journal of Pathology*, vol. 190, no. 3, pp. 255– 266, 2000
8. Jiang W, Liu Q, Yuan X. (2014). "Combined intervention of preconditioning and postconditioning against cerebral ischemia/reperfusion injury". 2014 Jan;39(1):30-5. [doi:10.11817/j.issn.1672-7347.2014.01.006](https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2014.01.006). [PMID 24473383](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24473383/)
9. Sulaksono, ME. Peranan, pengelolaan dan pengembangan hewan percobaan. Biomedis. Jakarta. 1992