

EKSPRESI KASPASE 8 DAN PERUBAHAN JUMLAH SEL NEUROGLIA PADA REGULASI MEKANISME APOPTOSIS SEL OTAK AKIBAT KERACUNAN MERKURI

CASPASE 8 EXPRESSION AND GLIAL CELLS COUNT IN APOPTOSIS MECHANISM OF BRAIN FOLLOWING MERCURY EXPOSURE

Paulus Sugianto*, Abdulloh Machin*, Hanik Badriyah Hidayati*, Moh. Hasan Machfoed*

ABSTRACT

Introduction: Mercury is a potent neurotoxin since it induces apoptosis and inflammatory respond in brain. Caspases e.g. caspase 8 is one of central effectors of apoptosis and serve as signaling mediators that orchestrate apoptotic execution pathways by cleaving a subset of cellular proteins. Whereas brain inflammatory response is triggered by the activation of neuroglial e.g. microglial cells and astrocytes and this glial reactivity has been used as an early marker of neurotoxicity. To study the effects of neurotoxicity mercury we use caspase 8 and microglial as a parameter of methyl mercury neurotoxicity.

Aims: To observe the process of apoptosis and inflammatory processes in the brain caused by methylmercury poisoning rats *Rattus novergicus*.

Methods: *Rattus novergicus* aged 4 months was used as experiential model and divided into 3 group of treatment with orally administered: aquabidest; methylmercury 0,2 mg and 0,4 mg/BW/day. Brains of the mice were removed after 30 days of exposure and tissue samples were obtained for examination. Caspase 8 was identified by imunohistochemistry staining using Avidin-biotin complex method. Microglial cell was counted from hystopathology examination of the HE stained brain tissue.

Results: Mean of caspase 8 in group of aquabidest; methylmercury 0,2 and 0,4 mg/BW/day were 68 ± 8.95 ; 197.3 ± 36.83 ; 275.6 ± 34.19 respectively whereas mean of microglial cell count: 65.6 ± 19.61 ; 137.1 ± 15.32 ; 167.9 ± 12.8 respectively.

Discussion: Mercury exposure increases both of caspase 8 expression and neuroglia cell count in *Rattus novergicus* brain tissue. The result suggests that methyl-mercury induces apoptosis and inflammatory respond in brain.

Keywords : Caspase 8, mercury, neuroglia

ABSTRAK

Pendahuluan: Merkuri adalah neurotoksin poten yang bisa menyebabkan terjadinya apoptosis dan inflamasi di otak. Kaspase 8 merupakan salah satu efektor utama apoptosis dan berfungsi sebagai pembawa sinyal yang mengatur jalur apoptosis dengan cara memecah protein sel, sedangkan terjadinya inflamasi di otak ditandai dengan aktivasi sel neuroglia, contohnya sel mikroglia dan astrosit, oleh sebab itu bisa mikroglia dan astrosit bisa dipakai sebagai petanda awal terjadinya inflamasi akibat neurotoksin di otak. Untuk menyelidiki toksisitas merkuri kami menggunakan kaspase 8 dan mikroglia sebagai parameter terjadinya keracunan merkuri di otak.

Tujuan: Untuk mengamati terjadinya proses apoptosis dan proses inflamasi akibat keracunan metilmerkuri pada otak tikus jenis *Rattus novergicus*.

Metodologi: *Rattus novergicus* yang berumur 4 bulan dipakai sebagai model penelitian dan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu pemberian secara oral akuabides; metilmerkuri dosis 0,2 mg dan 0,4 mg/kg BB. Selanjutnya otak tikus diambil setelah 30 hari paparan kemudian dilakukan pemeriksaan jaringan otaknya. Pemeriksaan kaspase 8 dilakukan dengan menggunakan pengecatan imunohistokimia dengan menggunakan metode Avidin-biotin. Mikroglia dihitung dari pemeriksaan histopatologi yang menggunakan pengecatan HE.

Hasil: Nilai rerata kaspase 8 pada kelompok akuabides; metilmerkuri 0,2 dan 0,4 mg/kgBB masing-masing adalah $68 \pm 8,95$; $197,3 \pm 36,83$; $275,6 \pm 34,19$, sedangkan nilai rerata jumlah mikroglia masing-masing adalah $65,6 \pm 19,61$; $137,1 \pm 15,32$; $167,9 \pm 12,8$.

Diskusi: Paparan merkuri meningkatkan ekspresi kaspase 8 dan sel neuroglia pada jaringan otak tikus *Rattus novergicus*. Hasil ini membuktikan bahwa metilmerkuri merangsang terjadinya apoptosis dan inflamasi di otak.

Kata kunci: Kaspase 8, merkuri, neuroglia

*Staf pengajar Departemen Ilmu Penyakit Saraf FK Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya
Korespondensi: dr.machin95@gmail.com, hanikfirdaus@gmail.com

PENDAHULUAN

Merkuri (Hg) atau air raksa sering diasosiasikan sebagai polutan bagi lingkungan, terdapat di alam sekitar kita dalam tiga bentuk yaitu unsur logam merkuri, garam merkuri, dan merkuri organik.^{1,2} Merkuri masuk ke dalam tubuh terutama melalui paru-paru dalam bentuk uap atau debu sekitar 80 % diabsorpsi dan retensi, kurang dari 0,01% diabsorpsi melalui saluran pencernaan.^{3,4} Merkuri anorganik dan organik, keduanya dapat melewati sawar darah otak dan plasenta, disekresi dalam air susu. Seluruh merkuri dieliminasi secara perlahan dalam urin, air liur, dan keringat.⁵ Waktu paruh pada manusia yaitu 60 hari untuk merkuri anorganik dan 70 hari pada alkilmerkuri. Merkuri juga berikatan dengan kelompok thiol dan dapat diukur pada rambut dan kuku. Ekskresi merkuri dapat berlanjut untuk beberapa bulan sesudah pajanan merkuri berhenti.¹

Keracunan akut timbul dari inhalasi dalam konsentrasi tinggi uap merkuri yang bisa menimbulkan *pneumonitis interstitialis* akut, bronkitis, dan brokiolitis. Gejala yang timbul berupa dada rasa berat, nyeri dada, kesulitan bernafas, dan batuk. Pada *ingesti* menimbulkan gejala rasa logam, mual, nyeri abdomen, muntah, diare, nyeri kepala, dan kadang-kadang albuminuria.⁶ Kematian dapat timbul kapan saja. Dalam tiga atau empat hari kelenjar liur membengkak, timbul gingivitis, gejala-gejala gastroenteritis, dan nefritis muncul. Garis gelap merkuri sulfida dapat terbentuk pada gusi meradang, gigi dapat lepas, ulkus terbentuk pada bibir, dan pipi. Pada kasus sedang, pasien dapat mengalami perbaikan dalam satu sampai dua minggu. Pada kasus lebih berat akan berkembang gejala-gejala psikopatologi dan tremor otot, ini akan menjadi tipe kronik dan gejala kerusakan neurologi dapat menetap. Pada umumnya kasus akut pajanan terjadi pada konsentrasi 1,2–8,5mg/m³.¹

Pada sistem saraf terdapat gejala awal berupa rasa kebas pada ekstremitas dan bibir, kehilangan kontrol koordinasi dengan tungkai, ataksia, tremor, dan kehilangan pergerakan yang baik. Pengurangan lapangan pandang, kehilangan pendengaran sentral, kekakuan otot, spastik, dan refleks tendon yang berlebihan dapat juga terjadi.^{2,3}

Keracunan kronik menimbulkan triad klasik yaitu eretisme, tremor (jenis campuran yaitu menetap dan intensional), dan stomatitis. Gejala dini nonspesifik (anoreksia, penurunan berat badan, dan sakit kepala) diikuti gangguan-gangguan yang lebih karakteristik; iritabilitas meningkat, gangguan tidur (sering terbangun, insomnia), mudah terangsang, kecemasan, depresi, gangguan daya ingat, dan kehilangan kepercayaan diri.⁴

Apoptosis

Apoptosis terjadi sebagai mekanisme homeostatik yang bisa terjadi secara fisiologis selama proses embriogenesis atau sebagai respons inflamasi akut seperti keracunan, proses penuaan, kematian sel pada tumor atau akibat stimulasi jejas.⁷ Untuk melakukan apoptosis, sel melalui seleksi ketat. Seleksi tersebut dapat berupa protein yang berfungsi memicu terjadinya apoptosis atau bahkan protein yang dapat menghalangi terjadinya apoptosis.^{8,9} Jumlah neuron pada otak dewasa lebih sedikit dibanding selama fase proliferasi pertumbuhan otak pada masa embrional. Hal ini disebabkan terjadinya kematian sel terprogram atau apoptosis.¹⁰

Sinyal apoptosis dapat berasal dari dalam maupun dari luar sel yang dibawa oleh sel T, yaitu protein Fas atau protein *tumor necrosis factor α* (TNFα) dan bila terikat dengan masing-masing reseptornya akan memicu proses apoptosis. Sinyal apoptosis tersebut ditangkap oleh *death domain* yang teraktivasi oleh kehadiran Fas dan TNF yang bisa dihambat oleh protein FLIP (*fllice/caspase 8 inhibitory protein*). Bila ekspresi FLIP rendah, maka sinyal kematian akan diteruskan oleh mediator apoptosis selanjutnya yaitu kaspase 8¹¹ yang selanjutnya akan mempengaruhi kaspase 3 yang merupakan protein yang berperan penting didalam proses kematian sel secara patologis. Mitokondria adalah organ sel yang berfungsi sebagai tempat pembangkit energi sel. Rusaknya membran mitokondria

menyebabkan sel kehilangan energi dan salah satu protein terpenting di dalamnya, yaitu sitokrom C lepas menuju sitoplasma. Kehadiran sitokrom C di dalam sitoplasma dapat menyebabkan teraktivasinya protein Apaf 1, yang nantinya bersama-sama dengan kaspase 9 akan melanjutkan perjalanan akhir dari sinyal kematian. Mekanisme tersebut merupakan bagian dari jalur apoptosis intrinsik, yang dilihat dari asal sinyal kematian yaitu dari dalam sel.^{12 13}

Zat yang bersifat neurotoksik bisa merusak sel-sel otak melalui mekanisme seluler dan molekuler secara langsung maupun tidak langsung dan bisa mengenai jenis sel apa saja di otak sedangkan efek tidak langsung terutama disebabkan oleh sel-sel glia melalui proses yang disebut respons inflamasi pada otak. Proses peradangan ditandai dengan adanya aktivasi astrosit dan sel mikroglia sebagai respons terhadap berbagai rangsangan antara lain kerusakan otak dan zat neurotoksik.¹⁴

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamati terjadinya proses apoptosis dan proses inflamasi akibat keracunan metilmerkuri pada otak tikus jenis *Rattus novvergicus* dengan menghitung jumlah kaspase 8 di otak sebagai parameter apoptosis dan jumlah neuroglia sebagai parameter inflamasi di otak.

METODE

Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilakukan selama 4 bulan di laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas dan Laboratorium Histologi FK Universitas Airlangga mulai Oktober 2011 sampai dengan November 2011. Populasi penelitian yang dipakai adalah tikus betina (*Rattus novvergicus*), umur empat bulan, berat badan 100-200 gram. Selama satu minggu dimasukkan kandang untuk beradaptasi dengan lingkungan yang stabil, sebelum digunakan pengujian penelitian. Sampel terbagi dalam tiga kelompok yang masing masing terdiri dari 11 ekor tikus dan diberi perlakuan aquabides (P0), metilmerkuri oral dosis 0,2 mg/kg BB/hari (P1) serta metilmerkuri dosis 0,4 mg/kg BB/hari (P2) selama 30 hari untuk kemudian diamati ekspresi kaspase dan jumlah sel neuroglianya.

Ekspresi kaspase 8 ditentukan setelah melakukan fiksasi otak tikus pada objek *glass*, rehidrasi dengan alkohol dan cuci dengan PBS (*phosphate buffered saline*), kemudian direndam pada 3% hidrogen peroksida H₂O₂ dalam DW (*destilate water*) selama 20 menit, 1% BSA (*bovine serum albumin*) dalam PBS 30 menit suhu ruang, Antibodi Primer 1:1000 semalam, suhu dingin 4°C, Antibodi sekunder berlabel biotin (*anti rat IgG Biotin labelled*) dan antibodi primer anti kaspase 8, 1 jam suhu ruang, SA-HRP (*sterp avidin- hoseradish peroxidase*), 60 menit, suhu ruang, cromogen DAB (*3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride*), 20 menit, suhu ruang, counterstain (*Aceto orcein*), 3 menit, suhu ruang. Sediaan kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali dengan lensa *Japan Olympus* pada 10 lapangan pandang yang dilakukan secara acak.

Sel yang mengekspresikan kaspase 8 pada sel otak adalah sel dengan sitoplasma berwarna coklat setelah dilakukan pengecatan immunohistokimia menggunakan *antibody primer polyclonal rat anti caspase 8*. Bagian dari sel neuroglia otak yang dihitung adalah sel mikroglia. Setelah jaringan otak tikus difiksasi dengan buffer formalin 10% dicat dengan HE dan kemudian diperiksa jumlah sel neuroglia pada 10 kali lapangan pandang. Analisis data dengan sidik ragam (ANOVA) dan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 17,0.¹⁵

HASIL PENELITIAN

Pada kelompok P1 didapatkan dua tikus yang mati, yang dapat disebabkan oleh karena intoksikasi merkuri. Terdapat kenaikan berat badan tikus pada masing-masing kelompok (Tabel 2). Kenaikan berat badan terbesar adalah pada kelompok kontrol, yaitu rerata sebesar 14±15,7 g dengan uji normalitas Kolmogorof Smirnov didapatkan nilai sebesar 0,576 (P0), 0,942 (P1), dan 0,871 (P2), tanpa perbedaan yang signifikan di antara kedua kelompok perlakuan.

Tabel 1. Data dasar sampel (n=31)

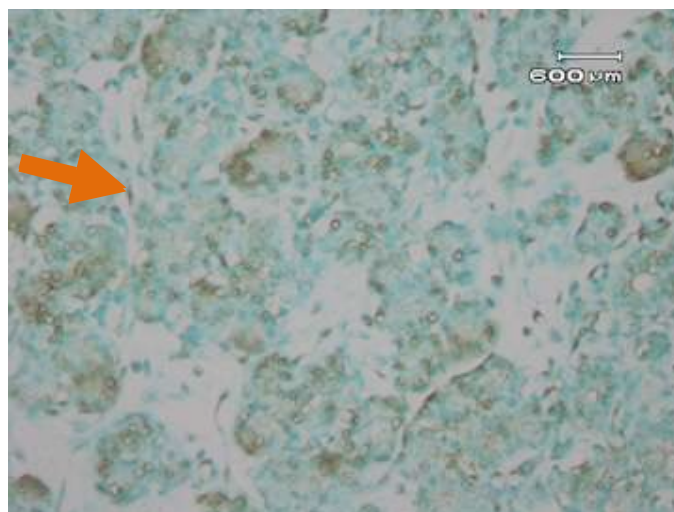
Data Awal	n	Rerata ± SD
Berat badan awal		
- P0	10	170 ± 25,35
- P1	11	160 ± 23,38
- P2	10	168 ± 22,5
Berat badan akhir		
- P0	10	182 ± 26,99
- P1	9	167 ± 21,66
- P2	10	171 ± 24,69
Perubahan berat badan		
- P0		14 ± 15,7
- P1		7,8 ± 26,8
- P2		3 ± 14,9

Pada Tabel 2 terlihat bahwa pemberian metilmerkuri akan meningkatkan ekspresi kaspase 8 pada jaringan otak, serta banyaknya perubahan mikroglia seiring dengan besar dosis metilmerkuri yang diberikan.

Tabel 2. Nilai rerata jumlah ekspresi kaspase 8 dan perubahan mikroglia pada tikus setelah pemberian metilmerkuri.

Kelompok	Ekspresi kaspase-8 (Rerata ± SD)	Perubahan mikroglia (Rerata ± SD)
P0	68,4 ± 8,95	65,6 ± 19,61
P1	197,3 ± 36,83	137,1 ± 15,32
P2	275,6 ± 34,19	167,9 ± 12,80

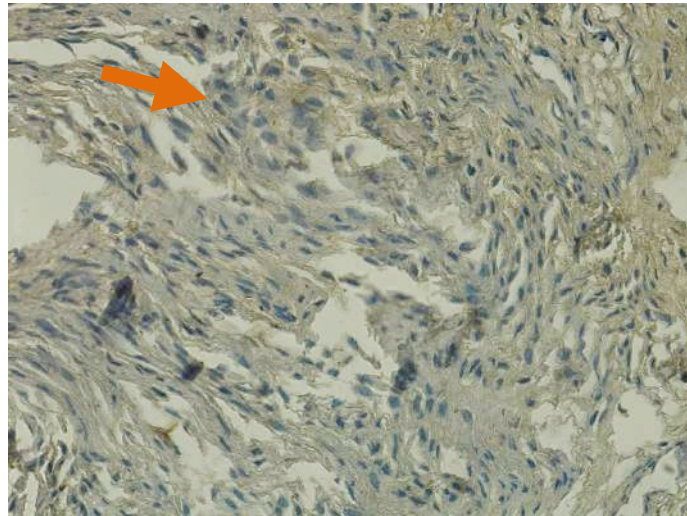
Gambar 1 menunjukkan ekspresi kaspase 8 pada kelompok kontrol (1a) dan pada kelompok perlakuan 1 dan 2 (dosis metilmerkuri 0,2 mg/kgBB dan 0,4 mg/kgBB), yaitu gambar 1b dan 1c. Dari ketiga gambar tersebut menunjukkan bahwa ekspresi kaspase 8, meningkat sesuai dengan besarnya dosis metilmerkuri yang di berikan.



Gambar 1a. Ekspresi kaspase 8 pada kelompok kontrol (P0). Sel immunoreaktif yang mengekspresikan kaspase 8.

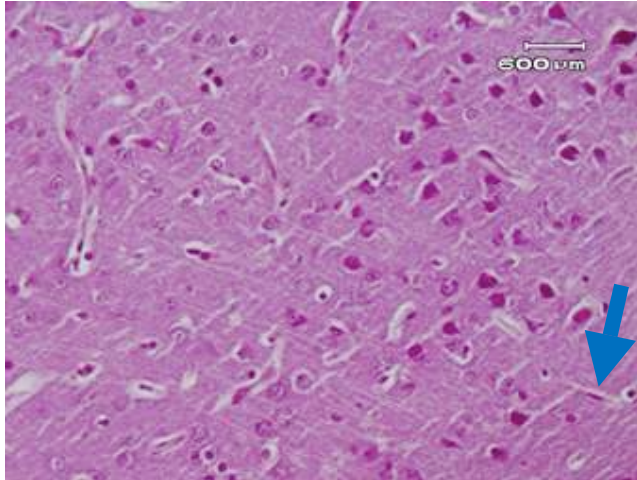


Gambar 1b. Ekspresi kaspase 8 pada kelompok perlakuan 1 (P1)

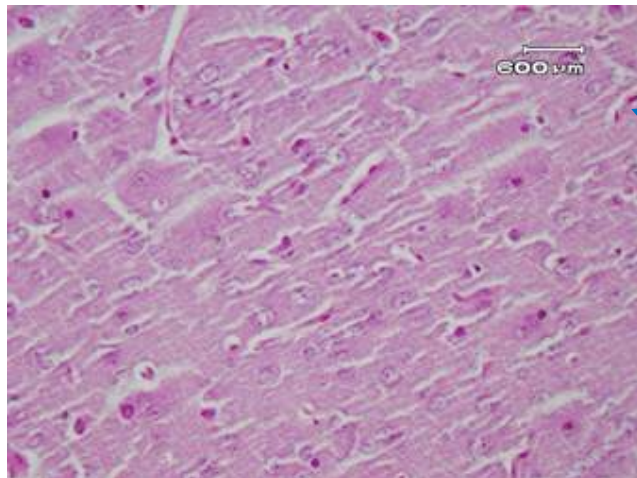


Gambar 1c. Ekspresi kaspase 8 pada kelompok perlakuan 2 (P2)

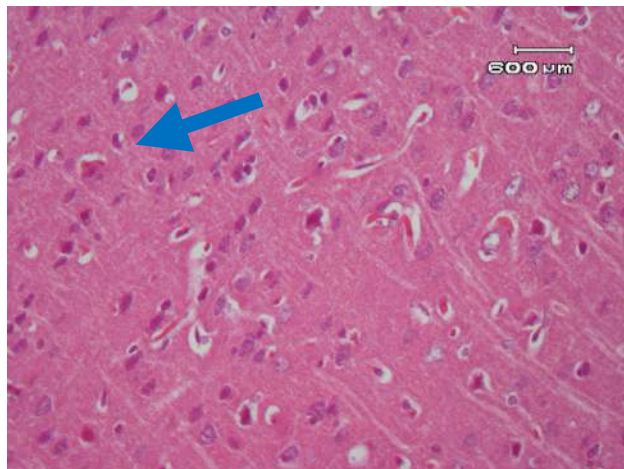
Gambar 2 menunjukkan perubahan mikroglia pada kelompok kontrol (2a) bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 (Gambar 2b dan 2c). Diketahui adanya perubahan mikroglia yang meningkat sesuai dengan besarnya dosis metilmerkuri yang diberikan.



Gambar 2a. Sel mikroglia pada kelompok kontrol/P0



Gambar 2b. Sel mikroglia pada kelompok Perlakuan 1 (P1)



Gambar 2c. Sel mikroglia pada kelompok Perlakuan 2 (P2)

Tabel 4. Uji Kolmogorov-Smirnoff (KS) pengaruh metilmerkuri terhadap ekspresi kaspase 8 dan perubahan mikroglia.

Kelompok	Eskpresi kaspase 8		Perubahan mikroglia	
	Z	P	Z	P
P0	0,79	0,549	0,852	0,462
P1	0,41	0,995	0,711	0,692
P2	0,43	0,992	0,349	1,000

Pada uji sampel tunggal Kolmogorov-Smirnoff (KS) tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara pengaruh metilmerkuri terhadap ekspresi kaspase 8 pada masing-masing kelompok. Pada masing-masing kelompok juga didapatkan distribusi yang normal secara statistik.

Uji statistik sampel tunggal KS pengaruh metilmerkuri terhadap perubahan mikroglia pada masing-masing kelompok didapatkan perbedaan yang tidak signifikan secara statistik dan didapatkan pula distribusi yang normal.

Uji KS pada masing-masing variabel menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna pada masing-masing kelompok, tetapi dengan uji statistik parametrik yaitu uji Pearson didapatkan korelasi yang sangat kuat antara ekspresi kaspase 8 dengan perubahan mikroglia oleh paparan metilmerkuri ($r=0,917$) dengan kemaknaan ($p=0,000$).

Tabel 5. Hasil Uji ANOVA pengaruh metilmerkuri terhadap ekspresi kaspase 8 pada jaringan otak tikus

Kelompok	df	F	P
Antar Kelompok	2	126,019	0,000
Dalam Kelompok	27		

Pada uji ANOVA pengaruh metilmerkuri terhadap ekspresi kaspase 8 didapatkan nilai F 126,019 ($p= 0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa metilmerkuri dapat menyebabkan peningkatan ekspresi kaspase 8 yang signifikan secara statistik.

Dengan melakukan analisis *post hoc metode Turkey* didapatkan adanya perbedaan rerata yang bermakna ketika dibandingkan pada masing-masing kelompok, hal ini menunjukkan ekspresi kaspase 8 disebabkan oleh karena paparan metilmerkuri dan tidak disebabkan oleh faktor yang lain.

Tabel 6. Hasil Uji ANOVA pengaruh metilmerkuri terhadap perubahan mikroglia jaringan otak tikus.

Kelompok	Df	F	P
Antar Kelompok	2	105,513	0,000
Dalam Kelompok	27		

Uji ANOVA pengaruh metilmerkuri terhadap perubahan mikroglia didapatkan nilai F 105,513 ($p=0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa metilmerkuri menyebabkan perubahan mikroglia yang secara statistik signifikan.

Dengan melakukan analisis *post hoc metode Turkey* menunjukkan adanya hasil yang signifikan dengan *standard error* 7,22557. Pada perbandingan antara masing-masing kelompok didapatkan hasil yang signifikan ($p=0,000$). Pada perbandingan antara P1 dan P2 didapatkan hasil yang juga signifikan ($p=0,001$). Hal ini menunjukkan bahwa perubahan mikroglia ini memang disebabkan oleh karena paparan metilmerkuri.

PEMBAHASAN

Penelitian ini memakai tikus sebagai hewan coba oleh karena kemiripan metabolisme tikus dengan manusia. Pada penelitian ini didapatkan 2 ekor tikus yang mati, yaitu pada

kelompok P1 (metilmerkuri dosis 0,2 mg/kgBB). Kematian tikus ini memang tidak diketahui apakah oleh karena intervensi yang dilakukan ataukah oleh karena faktor lain (lingkungan, gizi, dan lain-lain).

Pada Uji KS kami dapatkan masing kelompok punya distribusi normal dan tidak ada perbedaan antara kelompok P0, P1, dan P2. Terdapat korelasi yang kuat antara ekspresi kaspase 8 dengan perubahan neuroglia oleh paparan metilmerkuri ($r=0,917$) yang dalam hal ini yang diukur adalah mikroglia dengan kemaknaan ($p=0,000$). Korelasi yang kuat menunjukkan bahwa ekspresi kaspase 8 dan perubahan neuroglia memang disebabkan oleh karena paparan metilmerkuri. Analisis ANOVA mengenai pengaruh metilmerkuri terhadap ekspresi kaspase 8 menunjukkan hasil yang signifikan ($p=0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa metilmerkuri akan menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel neuron. Analisis *post hoc* dengan menggunakan metode Benferroni dan Turkey juga menunjukkan adanya pengaruh metilmerkuri yang signifikan dan berkaitan dengan dosis.

Metilmerkuri memiliki toksisitas terhadap jaringan otak oleh karena sangat mudah menembus sawar darah otak¹⁶. Oleh karena itu pada penelitian ini kami ingin melihat apakah metilmerkuri dapat menyebabkan terjadinya apoptosis.

Kaspase 8 adalah salah satu inisiator terjadinya apoptosis¹⁷. Kaspase adalah kunci yang bertanggung jawab untuk terjadinya apoptosis, sehingga pada saat terjadi apoptosis, maka proses yang terjadi dalam sel akan dihentikan dan sel akan disiapkan untuk difagosit. Kaspase juga menyebabkan kematian sel *in vivo*, oleh karena itu pada penelitian ini kita mengetahui secara tidak langsung mekanisme apoptosis yang terjadi oleh karena metilmerkuri.

Reseptor kematian sel yang diinduksi oleh karena apoptosis adalah melalui TNF-alfa akan menyebabkan aktivasi kaspase 8¹⁸. Selain kaspase 8 ada pula reseptor lain juga dapat menyebabkan apoptosis oleh karena TNF alfa, antara lain p75, bersama-sama dengan reseptor Trk.

Pada penelitian ini kita melihat adanya aktivasi jalur apoptosis yang diinduksi oleh kaspase 8 meningkat pada kelompok yang diberikan perlakuan metilmerkuri, hal ini menunjukkan bahwa kerusakan yang disebabkan oleh metilmerkuri salah satunya adalah melalui mekanisme apoptosis.

Induksi apoptosis dapat melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik, yang keduanya akan mempengaruhi kaspase. Terdapat 14 macam kaspase yang disintesis dalam bentuk pro enzim yang akan mengalami proteolisis dan aktivasi oleh kaspase lain. Pada penelitian ini kami melihat ekspresi kaspase 8 yang merupakan inisiator kaspase pada jaringan otak tikus, dan menunjukkan ekspresi kaspase 8 yang meningkat oleh pemberian metilmerkuri, hal ini menunjukkan bahwa merkuri menyebabkan dimulainya proses apoptosis pada sel neuron. Terjadinya apoptosis pada sel neuron akan berdampak pada gangguan fungsi neuron yang bila kita lihat secara klinis pada manusia akan menyebabkan defisit neurologis maupun kognitif.

Induksi apoptosis ini kemungkinan oleh karena proses langsung metilmerkuri melalui jalur stres oksidatif maupun melalui jalur inflamasi. Pembuktian kedua jalur ini perlu lebih didalami pada penelitian lanjutan.

Perubahan neuroglia yang disebabkan oleh pemberian metilmerkuri dianalisis dengan uji statistik KS untuk dilihat normalitas distribusinya. Ternyata masing masing-kelompok didapatkan distribusi yang normal. Dengan menggunakan uji statistik ANOVA pengaruh metilmerkuri terhadap perubahan neuroglia menunjukkan nilai F 105,513 ($p=0,000$) menunjukkan bahwa metilmerkuri menyebabkan perubahan neuroglia pada jaringan otak tikus. Analisis *post hoc* dengan menggunakan metode Turkey dan Benferroni menunjukkan hasil yang signifikan dan berhubungan dengan dosis, perubahan bertambah besar dengan meningkatnya dosis paparan. Pemberian metilmerkuri pada tikus dapat menyebabkan defisit kemampuan motorik, koordinasi, aktifitas secara umum, dan memori.

Salah satu mekanisme kerusakan sel neuron yang disebabkan paparan metilmerkuri adalah melalui mekanisme inflamasi dan autoimun.¹⁹ Neuroglia dan sel mast adalah sel imunologi pada jaringan otak yang dapat mengganggu fungsi sel neuron. Pada penelitian ini kami ingin melihat pengaruh metilmerkuri terhadap kerusakan sel neuron melalui mekanisme

inflamasi. Dengan perbedaan perubahan neuroglia yang dalam hal ini yang diukur adalah mikroglia menunjukkan bahwa pada kelompok yang terpapar merkuri dengan kontrol menunjukkan terjadinya inflamasi di otak. Zhang Y dkk menyatakan bahwa paparan metilmerkuri akan menyebabkan inflamasi dan merangsang ekspresi GM-CSF, MCP-1, dan IL-1 β . GM-CSF adalah faktor hemopoetik yang terlibat pada proses inflamasi, rekrutmen sel, dan modulasi¹⁹.

Keunggulan pada penelitian ini adalah penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan menggunakan hewan coba yang mendapat perlakuan yang sama dalam masing-masing kelompok. Ekspresi kaspase 8 dan perubahan neuroglia dilihat secara langsung melalui metode imunohistokimia, sehingga faktor perancu pada penelitian ini dapat diminimalisir.

Kelemahan dari penelitian ini adalah ekspresi kaspase 8 dan perubahan neuroglia tidak diperiksa pada bagian spesifik di otak seperti pada daerah lobus frontalis, parietalis, basal ganglia, dan lain lain, sehingga sulit untuk dilakukan korelasi klinis kaspase 8 dan perubahan neuroglia. Pada penelitian ini kami juga tidak menilai perubahan perilaku dan memori pada tikus dan tidak melakukan penyelidikan lebih lanjut penyebab kematian 2 tikus pada kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

Paparan merkuri meningkatkan ekspresi kaspase 8 dan sel neuroglia pada jaringan otak tikus *Rattus norvegicus*. Peningkatan ekspresi kaspase 8 ini membuktikan bahwa metilmerkuri merangsang terjadinya apoptosis dan juga peningkatan sel neuroglia membuktikan bahwa merkuri merangsang terjadinya proses inflamasi di otak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Smart RC, Hodgson E. Molecular and biochemical toxicology. Edisi ke-4. Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons; 2008.
2. Patrick L. Mercury toxicity and antioxidants: Part 1: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. *Altern Med Rev*. 2002;7(6):456-71.
3. Xu Z, Yang J, Yu J, Yin Z, Sun W, Li J. Effects of BSO, GSH, Vit-C and DMPS on the nephrotoxicity of mercury. *Toxicol Ind Health*. 2007;23(7):403-10.
4. Jones L, Bunnell J, Stillman J. A 30-year follow-up of residual effects on New Zealand School Dental Nurses, from occupational mercury exposure. *Hum Exp Toxicol*. 2007;26(4):367-74.
5. Mackert JR, Jr., Berglund A. Mercury exposure from dental amalgam fillings: absorbed dose and the potential for adverse health effects. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1997;8(4):410-36.
6. Levy, Barry. S. Occupational and environmental health : recognizing and preventing disease and injury. Edisi ke-6. New York: Oxford University Press; 2011.
7. Saraiva L, Silva RD, Pereira G, Goncalves J, Corte-Real M. Specific modulation of apoptosis and Bcl-xL phosphorylation in yeast by distinct mammalian protein kinase C isoforms. *J Cell Sci*. 2006;119(Pt 15):3171-81.
8. Seidl R, Bidmon B, Bajo M, Yoo PC, Cairns N, LaCasse EC, dkk. Evidence for apoptosis in the fetal Down syndrome brain. *J Child Neurol*. 2001;16(6):438-42.
9. Nagashima K. A review of experimental methylmercury toxicity in rats: neuropathology and evidence for apoptosis. *Toxicol Pathol*. 1997;25(6):624-31.
10. Nervous and Neuromuscular System [program]: Cambridge University Press; 2001.
11. Kataoka T, Budd RC, Holler N, Thome M, Martinon F, Irmeler M, dkk. The caspase-8 inhibitor FLIP promotes activation of NF-kappaB and Erk signaling pathways. *Curr Biol*. 2000;10(11):640-8.
12. Zhang Y, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in primary cortical neurons is inhibited by equine estrogens via down-regulation of caspase-3 and prevention of mitochondrial cytochrome c release. *BMC Neurosci*. 2005;6:13.
13. Hagberg H, Mallard C, Rousset CI, Xiaoyang W. Apoptotic mechanisms in the immature brain: involvement of mitochondria. *J Child Neurol*. 2009;24(9):1141-6.
14. Monnet-Tschudi F, Zurich MG, Honegger P. Neurotoxicant-induced inflammatory response in three-dimensional brain cell cultures. *Hum Exp Toxicol*. 2007;26(4):339-46.
15. Steel RGB, Torrie. JH. Prinsip dan Prosedur Statistik. Jakarta: PT. Gramedia Utama Pustaka; 1993.

16. Rusyniak DE, Arroyo A, Acciani J, Froberg B, Kao L, Furbee B. Heavy metal poisoning: management of intoxication and antidotes. *EXS*. 2010;100:365-96.
17. Luo KQ, Yu VC, Pu Y, Chang DC. Measuring dynamics of caspase-8 activation in a single living HeLa cell during TNFalpha-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;304(2):217-22.
18. Gibson R. Role of apoptosis in neuronal toxicology. In: R R, editor. *Apoptosis in Toxicology*. New York: Taylor & Francis, 2000; p. 145-67.
19. Zhang Y, Gao D, Bolivar VJ, Lawrence DA. Induction of autoimmunity to brain antigens by developmental mercury exposure. *Toxicol Sci*. 2011;119(2):270-80.