

## **Peran Neuregulin-1 (NRG-1), Acidic Fibroblast Growth Factor (FGF), dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) pada Sel Perisit sebagai Inovasi Terbaru Penanganan Infark Miokard akibat Aterosklerosis**

*The Role of Neuregulin-1 (NRG-1), Acidic Fibroblast Growth Factor (FGF), and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Pericyte Cells as the Latest Innovation in the Management of Myocardial Infarction due to Atherosclerosis*

Ignatius Ivan<sup>1</sup>, Nicolas Daniel Widjanarko<sup>1</sup>, Harvey Sudharta<sup>1</sup>,  
Maureen Miracle Stella<sup>1</sup>, Kevin Tandarto<sup>1</sup>, Mariani Santosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Department of Physiology, Faculty of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, Indonesia

\*Corresponding author: [ignatiusivan98@gmail.com](mailto:ignatiusivan98@gmail.com)

### **KATA KUNCI KEYWORDS**

sitokin, faktor pertumbuhan, sel punca, perisit, infark miokard  
*cytokines, growth factors, stem cell, pericyte, myocardial infarction*

### **ABSTRAK**

Infark miokard telah mengakibatkan 17 juta kematian di seluruh dunia pada tahun 2005. Hal ini terutama disebabkan karena terjadinya nekrosis sel miokard akibat iskemia jangka panjang. Agen trombolitik tidak memiliki pengaruh dalam meregenerasi pembuluh darah yang pecah. Oleh karena itu, banyak sel induk pembuluh darah, terutama perisit, yang memberikan ransangan pembangunan, pematangan, rekonstruksi, dan mempertahankan permeabilitas pembuluh baru. Di sisi lain, beberapa faktor pertumbuhan seperti Neuregulin-1 (NRG-1), Acidic Fibroblast Growth Factor (FGF), dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) juga memainkan peran dalam angiogenesis yang merupakan jalur utama proses penyembuhan akibat iskemia. Tujuan dari kajian ilmiah ini adalah untuk menjelaskan peran perisit yang distimulasi oleh leptin, bersama dengan beberapa faktor pertumbuhan yang diselubungi oleh mikropartikel sebagai terapi baru infark miokard yang terutama disebabkan oleh aterosklerosis. Hasil kajian menunjukkan bahwa perisit memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel otot polos, sel saraf, dan sel endotel. Proses ini dipengaruhi oleh leptin dan juga beberapa faktor pertumbuhan yang diselubungi oleh mikropartikel

untuk meningkatkan stabilitas dan imunitas terhadap makrofag. Terapi sel punca dengan menggunakan perisit yang distimulasi oleh leptin dan faktor pertumbuhan yang diselubungi oleh mikropartikel dapat menjadi metode pengobatan infark miokard yang menjanjikan di masa depan.

#### ABSTRACT

*Myocardial infarction has led to 17 millions death in 2005 worldwide, which main causes is the necrosis of myocardial cells due to long term ischemia. To regenerate the ruptured vascular, trombolitic agent has no effect, therefore, many vascular stem cells, especially pericytes, are brought to stimulate development, maturation, reconstruction, and maintain the permeability of the new vessels. In other hand, several growth factors such as Neuregulin-1 (NRG-1), Acidic Fibroblas Growth Factor (FGF), and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) also play a role in angiogenesis, the main pathway of healing process due to ischemia. The aim of this review is to explain the role of pericytes induced by leptin, together with several growth factors covered by microparticles as a novel treatment of myocardial infarction caused mainly by atherosclerosis. The result shows that pericytes has an ability to differentiate becomes smooth muscle cells, nerve cells, and endothelial cells, that affected by leptin and also several growth factors which encapsulated by microparticles to increase its stability and immunity against macrophage uptake. As a conclusion, we sure that stem cells therapy with pericytes, induced by leptin and microparticles-containing growth factor can be a promising treatment methods in cases of myocardial infarction in the future.*

#### PENDAHULUAN

Menurut data WHO tahun 2008-2009, 30% dari kematian yang terjadi di dunia disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler. Dari 58 juta kematian pada tahun 2005, 17 juta kematian diakibatkan penyakit kardiovaskuler dan hampir setengahnya diakibatkan oleh penyakit infark miokard (Mendis *et al.*, 2011). Data WHO tahun 2012 juga menunjukkan bahwa penyakit kardiovaskuler menjadi penyebab kematian terbanyak dibandingkan penyakit-penyakit lainnya.

Infark miokard didefinisikan sebagai suatu penyakit yang ditandai dengan adanya nekrosis sel miokardium akibat suatu iskemi yang berkepanjangan. Biasanya, infark miokard sering dikaitkan dengan penyakit atherosklerosis. Infark miokard diklasifikasikan menjadi dua, yaitu *ST-segment Elevation Myocardial Infarction* (STEMI) dan *Non-ST-segment Elevation Myocardial Infarction* (NSTEMI) (Kumar A and Cannon CP, 2009).

STEMI merupakan suatu spektrum Sindroma Koroner Akut (SKA) yang paling berat. Pada pasien STEMI,

terjadi penurunan aliran darah koroner secara mendadak akibat oklusi trombotik pada plak aterosklerotik yang sudah ada sebelumnya. Trombus arteri koroner terjadi secara cepat pada lokasi dimana pembuluh darah mengalami kerusakan yang disebabkan oleh faktor-faktor seperti merokok, hipertensi, dan akumulasi lipid (Kumar A and Cannon CP, 2009).

Saat ini, pengobatan bagi penderita atherosklerosis yang disebabkan oleh trombus dapat dilakukan dengan pemberian obat-obatan trombolitik yang berkerja dengan cara memecah formasi dari trombus. Penelitian membuktikan bahwa pemberian trombolitik pada pasien dengan STEMI sebelum 12 jam setelah mengalami nyeri di bagian dada akan dapat menurunkan elevasi ST melalui pembacaan EKG dengan efektivitas sebesar 78% (Saleem *et al.*, 2016). Akan tetapi, bagi jaringan yang sudah mengalami infark akibat iskemi berkepanjangan, diperlukan metode pengobatan lain untuk memperbaiki jaringan yang telah rusak.

Salah satu metode yang umumnya digunakan adalah dengan menggunakan sel punca. Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian mengenai sel punca sudah cukup berkembang dan telah banyak diidentifikasi memiliki karakteristik yang berbeda satu sama lain. Salah satu lokasi sel punca yang saat ini sudah banyak dipelajari adalah di jaringan pembuluh darah. Di dalam ketiga lapisan pembuluh darah (tunika adventisia, tunika media, dan tunika intima), ditemukan *myogenic endothelial cells* (MECs), *pericyte*, dan *adventitial cells*

(ACs) (Psaltis and Simari, 2015). MECs dan *pericyte* ternyata menunjukkan efisiensi yang sangat tinggi dalam proses regenerasi jaringan otot pada otot-otot yang mengalami distrofi dan meningkatkan fungsi kerja otot jantung yang mengalami infark (Katare *et al.*, 2011; Avolio *et al.*, 2015).

Selanjutnya, mekanisme mengenai bagaimana terjadinya perbaikan jaringan oleh perisit baru-baru ini mendapatkan penjelasan yang lebih detil. Hal ini disebabkan telah ditemukannya mekanisme peran serta leptin, suatu adipositokin yang mampu meningkatkan respon angiogenesis maupun vaskulogenesis. Respon semakin meningkat dalam keadaan hipoksia yang mampu meningkatkan jalur sinyal produksi leptin. Proses ini dilanjutkan melalui sinyal autokrin leptin sehingga mampu meningkatkan ketahanan perisit dan menstimulasi perisit bermigrasi ke target lokasi, serta sinyal parakrin yang mampu menstimulasi proliferasi sel endotel, permeabilitas, dan formasi jaringan pembuluh darah. Pada akhirnya, mekanisme ini pun dapat menjadi informasi penting sebagai target pengobatan untuk membantu regenerasi jaringan pada sistem kardiovaskular (Riu *et al.*, 2017).

Di lain pihak, beberapa *Growth Factor* (faktor pertumbuhan) seperti *Neuregulin-1* (NRG-1), *Acidic Fibroblas Growth Factor* (FGF), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) juga ikut memainkan peranan penting dalam menginduksi angiogenesis yang menjadi salah satu faktor penentu keberhasilan *remodeling* jantung pasca infark miokard (Xin *et al.*, 2013). Injeksi faktor

pertumbuhan ini ternyata mengalami masalah administrasi, yakni fagositosis oleh makrofag jaringan yang terakumulasi selama respons inflamasi berlangsung di lokasi infeksi, sehingga menurunkan efektifitas *growth factor* yang dilepaskan. Oleh sebab itu, adanya mikropartikel yang terbuat dari *Poly (lactic-co-glycolic) Acid* (PLGA) dilapisi oleh *Poly (ethylene glycol)* (PEG) yang membungkus beberapa *growth factor* tadi, terbukti ampuh dapat meningkatkan stabilitas, resistensi terhadap inaktivasi proteolitik, waktu paruh dalam sirkulasi, serta menurunkan karakter imunogenik dan toksisitas dari *growth factor* yang diangkutnya (Simon *et al.*, 2013).

#### METODE

Metode penelitian yang dilakukan ialah melalui studi pustaka sistematis dengan pencarian sumber referensi dari *Google Scholar* dan *ProQuest*. Jurnal yang dipilih adalah dengan kriteria berbahasa Inggris serta tahun rilis paling lama 10 tahun. Jurnal yang dipilih berbasis baik penelitian maupun kajian sistematis. Jurnal dicari dengan menggunakan kata kunci *cytokines*, *growth factor*, *angiogenesis*, *pericytes*, dan *myocardial infarction*.

#### DISKUSI

##### Pengantar Terjadinya Kerusakan dan Ruptur Vaskular

Cedera vaskular kerap memainkan peran sentral dalam inisiasi, progresi, hingga konsekuensi klinis dari atherosclerosis (Mitchell *et al.*, 2015). Cedera vaskular dapat disebabkan oleh adanya trauma yang dapat merusak

hubungan fungsional antar-sel endotel yakni pada ikatan kohesinya, sehingga menjadi penyebab awal kekakuan pada arteri (*arterial stiffening*). Cedera vaskular yang menyertai atherosclerosis ditandai dengan adanya akumulasi lipid dan sel-sel radang yang masuk ke dinding pembuluh darah, dengan pemicu utama terbentuknya plak dapat berasal dari faktor sistemik (tekanan darah, kadar kolesterol serum, dan merokok) maupun faktor lokal (selular dan reologikal) (Heusch *et al.*, 2014).

Dalam keadaan normal, adanya program pengaturan mitigasi beberapa faktor risiko atherosclerosis seperti LDL serum dari *laminar sheer stress*, suatu tegangan geser khusus yang dimiliki oleh sel-sel endotel (Chatzizisis *et al.*, 2007), menyebabkan LDL tersebut tidak terakumulasi di dinding pembuluh darah. Selain itu, pada kondisi aliran normal, sel-sel endotel mensekresikan Nitrit Oksida (NO) yang berperan sebagai inhibitor utama terjadinya vasokonstriksi, ekspresi gen prothrombotik, dan aktivasi gen-gen pro-inflamatori. Namun, pada kondisi dimana aliran darah mengalami ketidakteraturan dan turbulensi, maka sifat atheroprotektif endotel menjadi terhambat, yang diikuti dengan aktivasi sejumlah gen pro-inflamatori seperti *nuclear factor K- $\beta$* , yang menginisiasi perekrutan sel-sel radang dan menghalangi aktivitas vasodilatasi. Akumulasi sel radang (khususnya monosit) ini menyebabkan meningkatnya jumlah LDL yang terperangkap di dinding endotel pembuluh darah sebagai plak atherosclerosis (Tang *et al.*, 2012; Vassiliadis *et al.*, 2012; Geng *et al.*, 2006).

Di samping itu, adanya inflamasi lokal bersamaan dengan overekspresi dari NADPH oksidase pada sel otot polos endotel dapat menginduksi terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga tingkat kerusakan dan ruptur membran semakin parah (Kawabe *et al.*, 2014).

### **Kemampuan Sel Perisit untuk Menginduksi Angiogenesis**

Stem sel vaskuler didefinisikan sebagai sel multipoten yang berdiam di dinding pembuluh darah, dan memiliki kemampuan diferensiasi menjadi berbagai macam tipe sel yang membentuk pembuluh darah matur dan fungsional. Mereka terdistribusi di seluruh sistem sirkulasi dengan fungsi utamanya adalah mempertahankan integritas dari pembuluh darah serta mengatur pembentukan vaskular postnatal. Selain menjaga stabilitas pembuluh darah, perisit juga berperan dalam mengatur aliran darah. Mereka ikut ambil bagian dalam perkembangan, maturasi, rekonstruksi, serta mempertahankan permeabilitas pembuluh (Birbrair, 2014; Tahergorabi *et al.*, 2015; Garbayo *et al.*, 2016; Reboucas *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2014).

Berdasarkan kemampuan antigenik dan diferensiasinya, stem sel vaskular dapat dibagi menjadi 4, yakni *mesenchymal stem cells* (MSCs), *endothelial progenitor cells* (EPCs), *smooth-muscle progenitor cells* (SMPCs), dan *perivascular cells*, yang didalamnya mencakup *microvascular pericytes* dan *adventitial pericyte-like progenitor*. Seluruh sel ini berdiam di bagian dalam dari tunika adventisia yang dikenal pula dengan

zona vaskulogenik. Namun, penelitian lain membuktikan bahwa EPCs juga dapat ditemui pada lapisan subendotel pada perbatasan tunika intima dan tunika media dari pembuluh darah besar, sementara sel perivaskular dapat ditemukan di dalam zona vaskulogenik dan di sekitar pembuluh darah kecil (Psaltis *et al.*, 2015; Corselli *et al.*, 2011; Bobryshev *et al.*, 2015).

Sel perivaskular yang umumnya dikenal sebagai perisit adalah sekumpulan populasi sel yang memiliki fenotip, sifat biokimia, dan fungsi yang heterogen. Dahulu perisit mikrovaskular didefinisikan sebagai sel yang mengelilingi sel endotel di kapiler dan mikrovessel kebanyakan organ, kecuali pembuluh limfatik. Akan tetapi, saat ini, sel mirip perisit juga ditemukan pada dinding pembuluh darah besar dan sel ini dinamai *adventitial-pericyte like progenitor* (APCs) (Corselli *et al.*, 2011). Sel ini terlokalisasi didalam tunika adventisia pembuluh darah besar dan seringkali diasosiasikan dengan vasa vasorum. Penelitian membuktikan bahwa perisit mikrovaskular dan APCs dapat dikategorikan sebagai stem sel karena karakteristiknya yang mirip dengan MSC, yakni daya proliferasi yang tinggi serta mampu mengekspresikan marker yang mirip dengan stem sel. Selain itu, hal terpenting lainnya ialah mereka memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi banyak sel berbeda (*multilineage differentiation*) secara *in vitro*. Bukti dari multipotensi ini adalah kemampuan sel perisit untuk berdiferensiasi menjadi sel otot, sel saraf, dan sel pembuluh yang identik dengan sel asalnya (Avolio *et al.*, 2016).

Studi lain menunjukkan bahwa perisit ikut berkontribusi dalam pembentukan jaringan otot. Penelitian yang dilakukan dengan melakukan transplantasi senografik menggunakan perisit menunjukkan bahwa sel secara spontan bergabung dengan mioblas membentuk *miotube* dan membantu proses regenerasi pada jaringan otot pada kasus luka akut maupun pada jaringan otot yang mengalami nekrosis kronis seperti distrofi otot. Peneliti juga menemukan bahwa perisit membentuk sel satelit, yang merupakan *bona fide* stem sel otot. Hal ini dibuktikan dengan ditemukannya Pax7 yang diekspresikan oleh perisit yang ditransplantasi di basal lamina dari serat otot dan mengindikasikan bahwa sel perisit dapat membentuk lingkungan (*niche*) bagi sel satelit pada jaringan otot. Potensi miogenik dari perisit ini dapat digeneralisasikan untuk semua perisit yang berdiam di jaringan lainnya (Dellavalle *et al.*, 2011).

Hingga saat ini terdapat 2 subpopulasi perisit *bona fide*, yakni tipe-1 (nestin-GFP-/NG2+) dan tipe-2 (nestin-FGP+/NG2+) pada jaringan interstitium otot. Keduanya mengekspresikan *marker* perisit NG2, PDGFR-beta, dan CD146 yang banyak diasosiasikan dengan pembuluh darah. Faktor pembeda antara tipe-1 dan tipe-2 ialah: pada subpopulasi perisit tipe-2, sel membentuk *miotube* pada saat dikultur sedangkan subpopulasi perisit tipe-1 tidak. Pada saat terjadi luka, hanya perisit tipe-2 yang berpartisipasi dalam regenerasi jaringan, membentuk serabut-serabut otot secara *in vivo*.

Selain itu, penelitian juga menunjukkan bahwa kapasitas

regeneratif perisit tipe-2 dipengaruhi oleh lingkungan mikro dari inang (*host microenvironment*), karena pada saat perisit diinjeksikan pada binatang yang lebih tua, serat otot yang terbentuk lebih sedikit dan lebih kecil. Akan tetapi, apakah transplantasi perisit tipe-2 ini dapat meningkatkan performa dan perbaikan dari sel otot jantung masih memerlukan penelitian lebih lanjut (Birbriair *et al.*, 2014).

### **Penggunaan Leptin untuk Menginduksi Fungsi Angiogenesis Adventitial Pericyte**

Dalam hal eradikasi pertumbuhan tumor, angiogenesis perlu dihambat sedini mungkin. Namun dalam kasus terjadinya penyakit jantung seperti infark miokard, menstimulasi angiogenesis menjadi langkah yang perlu diambil (Kelly *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Riu, *et al.*, salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menginduksi angiogenesis adalah menggunakan adipositokin leptin (Riu *et al.*, 2017). Pada penelitian *in vivo* di tikus, Leptin dengan kadar 10 nM dipercaya mampu mengurangi luas kerusakan infark miokard yang telah terjadi. Selain itu, pada manusia, leptin memiliki efek kardioprotektif yang dijumpai pada fase akut hiperleptinemia (Tahergorabi *et al.*, 2015).

Leptin sendiri dapat bekerja secara lebih optimal dalam keadaan hipoksia. Hal ini selaras dengan apa yang dikemukakan oleh Alvarez *et al.*, bahwa akibat adanya faktor transkripsi penginduksi angiogenesis yang menjadi aktif ketika merespon keadaan hipoksia, ternyata dapat pula meningkatkan faktor

pertumbuhan lain seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), yang mampu menstimulasi angiogenesis (Tahergorabi *et al.*, 2015; Garbayo *et al.*, 2016). Dalam kondisi hipoksia yang berlangsung 12 hingga 24 jam, didapatkan kadar mRNA leptin yang mencapai puncaknya dan protein leptin yang menetap bahkan hingga normoxia telah terjadi (Diaz *et al.*, 2017).

Leptin secara spesifik diatur oleh *Hypoxia Inducible Factor 1 alpha* (HIF1a) sebagai faktor transkripsi yang akan mengikat *Hypoxia Response Element* (HRE) yang merupakan situs promotor pada gen leptin. Lebih jauh lagi, dengan meningkatkan ekspresi miR-210, maka sinyal terbentuknya leptin akan lebih banyak diekspresikan. Mekanismenya yakni melalui miR-210 yang mendefosforilasi *Leptin Receptor- Janus Kinase 2* sehingga menghambat *protein-tyrosin phosphatase 1B* yang merupakan suatu regulator negatif leptin. miR-210 ini pun juga terinduksi dalam keadaan hipoksia. Proses angiogenesis oleh leptin ini bersifat siklik karena setelah STAT3 yang terfosforilasi mengaktifkan target gen leptin yang meningkatkan ketahanan dan migrasi sel-sel perisit, maka selanjutnya respon perisit akan semakin kuat untuk meningkatkan angiogenesis. Proses inipun dapat terjadi baik secara autokrin maupun parakrin (Riu *et al.*, 2017).

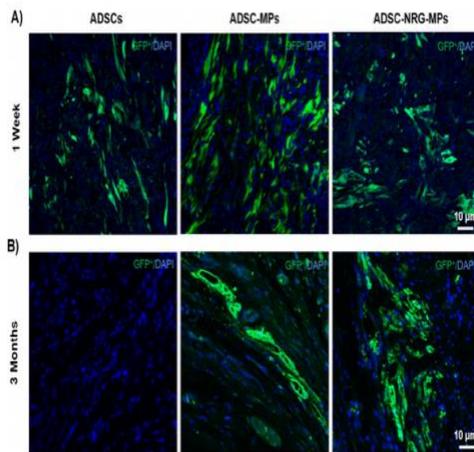
**Pengaruh Neuregulin (NRG) yang Diadministrasikan dengan Mikropartikel yang Dilapisi Campuran Kolagen dan Poly-d-lisin terhadap Proses Ko-lokalisasi Sel ADSC kedalam Jaringan Otot.**

*Adipocyte-Derived Stem Cell* adalah stem sel yang diperoleh dari jaringan adiposit dan memiliki sifat multipoten. Saat ini, penggunaan ADSC sudah sangat banyak, akan tetapi penelitian terbaru mengaitkan ADSC dengan permukaan dari mikropartikel (MP) yang membungkus Neuregulin (NRG) membentuk kompleks ADSC- NRG-MP. Permukaan partikel mikro (MP) selanjutnya dilapisi dengan campuran kolagen (perbandingan 1:1) dan poly-d-lisin. Pemberian ADSC maupun MP-NRG secara terpisah sebenarnya sudah dapat meningkatkan daya regenerasi/proliferasi dari jaringan sekitar dibandingkan dengan grup kontrol. Akan tetapi, peningkatan daya proliferasi dan diferensiasi terbesar terjadi pada saat keduanya diberikan pada waktu bersamaan (Diaz *et al.*, 2017).

Neuregulin adalah suatu *Growth Factor* yang memainkan peran pada sistem kardiovaskular dan bekerja dengan cara menginduksi penyusunan/pembentukan membran sarkomer, meningkatkan ketahanan sel dan yang terpenting adalah proliferasi kardiomyosit dan angiogenesis.

Penelitian membuktikan bahwa MP dapat membantu ko-lokalisasi sel ADSC ke dalam jaringan otot dan meningkatkan ketahanan ADSC di dalam jaringan dalam jangka panjang. Suatu penelitian dilakukan dengan menggunakan ADSC yang diberi *green-fluorescent protein* (GFP) agar dapat diamati keberadaannya didalam jaringan. Tiga perlakuan diberikan berbeda: (1) hanya ADSC-GFP<sup>+</sup>, (2) ADSC-GFP<sup>+</sup> dikombinasikan dengan MP, (3) ADSC-GFP<sup>+</sup> dikombinasikan dengan MP yang berisi Neuregulin

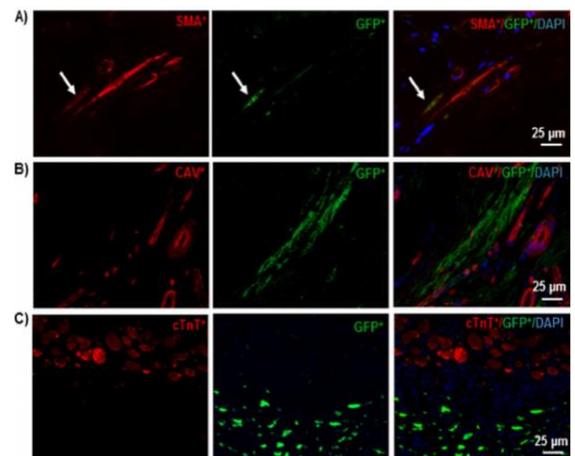
(gambar 1). Pada perlakuan ADSC-GFP+ tanpa NRG dan MP, <1% dari ADSC dapat ditemukan. Pada perlakuan kedua, dapat dilihat bahwa terjadi kolokalisasi dari sel dan keberadaan ADSC belum terlalu banyak berkurang. Demikian juga pada perlakuan ke-3, mirip dengan hasil yang didapat pada perlakuan ke-2 (Diaz *et al.*, 2017).



**Gambar 1.** Analisa ketahanan ADSC didalam jantung tikus dengan MI dalam 1 minggu dan 3 bulan setelah transplantasi. (Diaz *et al.*, 2017).

Selanjutnya, pengaruh diferensiasi ADSC menjadi otot polos, vaskular, dan otot jantung dapat dibuktikan dalam suatu penelitian dimana sampel yang telah diberikan transplantasi ADSC-GFP+ diamati 3 bulan kemudian untuk mengamati proses diferensiasinya. ADSC-GFP yang ditransplantasikan dibagi menjadi 3 perlakuan dimana masing-masing ADSC diikatkan dengan *alpha-Smooth Muscle Actin* (alfa-SMA), Caveolin-1, dan cTnT secara berurutan. Hasilnya, pada sampel pertama yang menggunakan alfa-SMA menunjukkan adanya

perpaduan warna (*positive co-staining*) untuk alfa-SMA dan ADSC-MP dan ADSC-NRG-MP yang mengindikasikan sel telah berdiferensiasi menjadi otot polos. Untuk sampel 2 dan sampel 3 yang masing-masing menggunakan caveolin-1 dan cTnT, tidak menunjukkan adanya perpaduan warna (*negative co-staining*) menunjukkan sel pada kedua sampel tidak berdiferensiasi menjadi otot polos (gambar 2) (Diaz *et al.*, 2017).



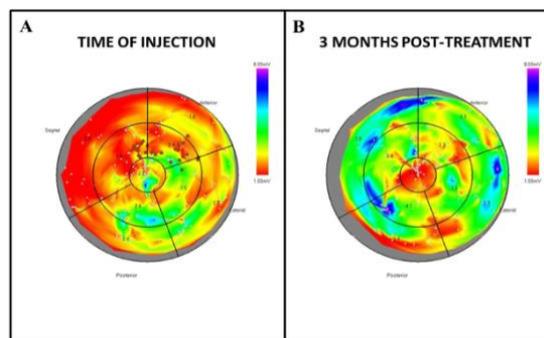
**Gambar 2.** Pewarnaan GFP+ dengan alfa-SMA menunjukkan adanya perpaduan (*co-staining positif*) sedangkan pewarnaan ADSC-GFP dengan CAV dan cTnT tidak menunjukkan adanya perpaduan (*negative co-staining*) (Diaz *et al.*, 2017).

**Peran Neuregulin 1 (NRG-1) dan Acidic Fibroblast Growth Factor (FGF) dengan Bantuan Administrasi Mikropartikel PolyesterPoly (Lactic-Co-Glycolic) Acid (PLGA) dalam Tatalaksana Infark Miokard Melalui Injeksi Kateter Jantung**

Menurut Garbayo, faktor pertumbuhan juga dapat dijadikan sebagai agen terapi untuk penyakit infark miokard. Hanya saja terdapat berbagai masalah dalam administrasi sitokin-sitokin ini. Hal ini disebabkan adanya gangguan kestabilan dan degradasi dari molekul tersebut setelah masuk ke dalam tubuh (Garbayo *et al.*, 2016). Oleh karena itu, terdapat suatu mikropartikel yang merupakan suatu vesikel ekstraselular berukuran skala nano hingga mikro yang mampu mengemas faktor pertumbuhan sehingga dapat diadministrasi ke dalam tubuh (Ae *et al.*, 2016).

Salah satu mikropartikel yang sudah disetujui pemakaian klinisnya adalah *polyester poly(lactic-co-glycolic acid)* (PLGA) yang dapat dibentuk dan diproses menjadi seperti sebuah mikropartikel untuk diinjeksikan dengan bantuan kateter jantung. Faktor pertumbuhan seperti NRG1 dan FGF masing-masing dapat dikemas didalam PLGA dan mampu menginduksi terjadinya angiogenesis dan vaskularisasi, proliferasi sel-sel otot, rekrutmen sel progenitor (Ae *et al.*, 2016). Penelitian juga menunjukkan bahwa partikel mikro memudahkan distribusi protein terapeutik seperti NRG di regio MI, selain itu partikel mikro juga meningkatkan fungsi jantung secara *in vivo* pada mode babi dan tikus yang mengalami Infark Miokard (IM) (Garbayo *et al.*, 2016; Reboucas *et al.*, 2016). Dari segala jenis FGF, FGF Tipe 1 dan 2 lah yang memiliki efek stimulasi paling poten terhadap angiogenesis (Li *et al.*, 2014). Sementara itu, secara spesifik NRG-1 juga dapat mengurangi terjadinya trombosis pada pembuluh

darah. Penilaian kemampuan vaskularisasi dinilai berdasarkan level area pembuluh darah pada *alpha-smooth muscle actin* dimana pada administrasi NRG-1 dan FGF menimbulkan peningkatan area pembuluh darah yang lebih signifikan (1.65x lebih tinggi untuk penggunaan NRG-1 dan 1.5x lebih tinggi ketika menggunakan FGF). Kemudian hasil lebih lanjut yang ditemukan pada injeksi FGF dan NRG-1, melalui penilaian *bipolar voltage* menunjukkan bahwa setelah tiga bulan ditemukan perluasan daerah infark hanya 1.2x dari luas awal sementara pada kontrol, ditemukan perluasan infark hingga 2.1x. Hal ini ditunjukkan oleh visualisasi dibawah ini (gambar 3) (Simon *et al.*, 2013).



**Gambar 3.** Representasi area bipolar peta NOGA yang diambil saat waktu injeksi (A) dan setelah pengobatan (B). Poin pemetaan ditandai dengan titik putih sementara titik hitam di A menunjukkan tempat injeksi. (Simon *et al.*, 2019).

**Berkurangnya Uptake dan Daya Fagositosis Makrofag terhadap Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) yang Dikemas dalam**

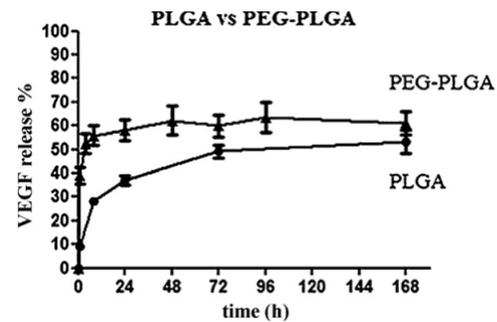
### Mikropartikel PLGA terlapisi Poly (ethylene glycol) (PEG)

Masalah terakhir yang timbul dalam administrasi sejumlah *growth factor* penginduksi angiogenesis disebabkan oleh hadirnya makrofag pada lokasi infeksi yang ternyata berperan dalam fagositosis mikropartikel PLGA-berisikan-VEGF sehingga mengganggu distribusi normal dari VEGF itu sendiri. Pada tahun 1978, suatu penelitian dilakukan oleh Van Oss et.al. yang bertujuan untuk mengurangi probabilitas dan kecenderungan suatu protein agar tidak difagosit oleh makrofag, yakni dengan cara mengubah sifat permukaannya menjadi lebih hidrofilik. Atas dasar itu, konsep serupa dikembangkan oleh Abuchowsky et.al., pada tahun 1977 yang berhasil menemukan suatu molekul hidrofilik Poly (ethylene glycol) (PEG) sebagai material pelapis di permukaan mikropartikel PLGA, yang sudah diujicobakan terlebih dahulu. PEG dipersiapkan melalui metode evaporasi pelarut-emulsi ganda menggunakan TROMS (*Total Recirculation One Machine System*) (Kinard et al., 2012).

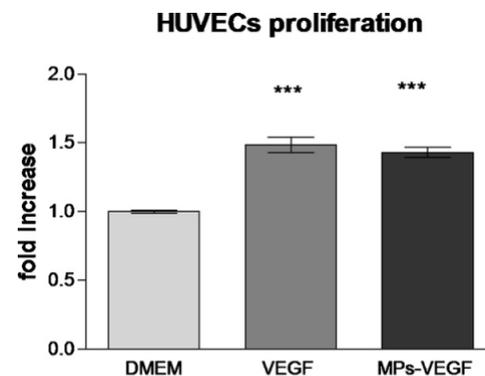
Bioaktivitas dari VEGF selanjutnya dipelajari secara *in vitro* dengan terlebih dahulu dikemas dalam mikropartikel menggunakan medium yang berisikan 0.25 ml PBS, pH 7.4 pada suhu 37°C. Selanjutnya, mikropartikel VEGF dilepaskan ke jaringan umbilikal untuk merangsang angiogenesis endotel vena umbilikal (HUVEC) dengan pengamatan selama 12 jam (grafik 1) (Karal et al., 2011).

Hasil yang diamati berupa proliferasi sel-sel endotel umbilikal

(HUVEC) dengan menggunakan mikroskop fluoresen EVOSfl dan *flow cytometry*. Terdapat 3 jenis perlakuan utama, yakni HUVEC yang dirangsang oleh VEGF bebas dalam serum, HUVEC yang dirangsang oleh VEGF dari mikropartikel PEG, serta kontrol yang dalam hal ini digunakan ialah medium DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) (grafik 2).

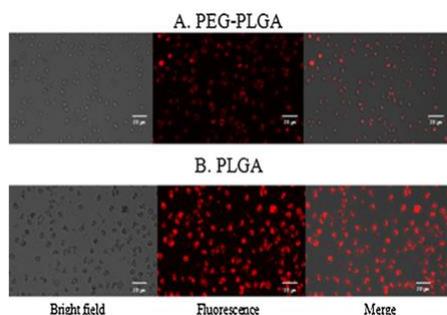


Grafik 1. Perbandingan bioaktivitas VEGF yang dilepaskan dari mikropartikel PLGA dan PLGA-yang dilapisi PEG ke jaringan umbilikal manusia (Karal et al., 2011).



Grafik 2. Perbandingan jumlah proliferasi HUVEC pada tiga perlakuan berbeda: DMEM (kontrol), VEGF bebas dalam serum, dan VEGF dengan mikropartikel PEG (Simon et al., 2013).

Pada mikroskop fluoresen, mikropartikel diwarnai dengan *Rhodamine B isothiocyanate* kemudian diinkubasi bersama sel makrofag J774 yang telah diidentifikasi sebelumnya. Pada pengamatan dengan *flow cytometry*, *uptake* mikropartikel oleh makrofag menampakkan pola persebaran granula di sitoplasma sel makrofag, dimana keberadaan granula tiga kali lipat dijumpai pada inkubasi mikropartikel PLGA tanpa PEG dibandingkan dengan inkubasi mikropartikel PLGA dengan PEG. Hal ini menunjukkan bahwa *uptake* makrofag lebih banyak terjadi terhadap mikropartikel yang tidak dilapisi oleh PEG (Simon *et al.*, 2013).



**Gambar 4. Pengamatan *uptake* makrofag terhadap mikropartikel PLGA yang terlapisi PEG dan tidak terlapisi PEG di bawah mikroskop fluoresen (Simon *et al.*, 2013).**

### KESIMPULAN

Terapi sel punca dengan *myogenic endothelial cells* (MECs), perisit mikrovaskular, dan *adventitial-pericyte like progenitor* (APCs) terbukti mampu menginduksi angiogenesis melalui proliferasi sel endotel, permeabilitas, dan formasi jaringan pembuluh darah.

Proses ini diperkuat dengan adanya leptin, suatu adipositokin yang mampu meningkatkan ketahanan perisit dan menstimulasi perisit untuk bermigrasi ke lokasi angiogenesis dan vaskulogenesis. Selain itu, sifat multipoten yang dimiliki sel perisit untuk dapat berdiferensiasi menjadi sel otot, sel saraf, dan sel pembuluh yang identik dengan sel asalnya, menjadikan terapi perisit sebagai target pengobatan untuk membantu regenerasi jaringan pada sistem kardiovaskular.

Di lain pihak, injeksi beberapa faktor pertumbuhan seperti *Neuregulin-1* (NRG-1), *Acidic Fibroblasts Growth Factor* (FGF), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang dikemas dalam suatu mikropartikel *Poly (lactic-co-glycolic) Acid* (PLGA) terlapisi *Poly (ethylene glycol)* (PEG) melalui kateter jantung turut merangsang terjadinya angiogenesis dan vaskularisasi, proliferasi sel-sel otot, serta rekrutmen sel progenitor seperti perisit. Pengemasan dalam mikropartikel ini menambah ketahanan sejumlah faktor pertumbuhan tersebut terhadap degradasi proteolitik dan *uptake* oleh makrofag serta meningkatkan efisiensi distribusinya ke lokasi infeksi.

### KEPUSTAKAAN

- Ae B 2016. The Clinical Utility of Circulating Microparticles Measurement in Heart Failure Patients. *J Vasc Med Surg*. 6: 1-11.
- Avolio E *et al.* 2015. Combined Intramyocardial Delivery of Human Pericytes and Cardiac

- Stem Cells Additively Improves the Healing of Mouse Infarcted Hearts Through Stimulation of Vascular and Muscular Repair Novelty and Significance. *Circ Res.* 116(10): e81-94.
- Avolio E *et al.* 2015. Expansion and Characterization of Neonatal Cardiac Pericytes Provides a Novel Cellular Option for Tissue Engineering in Congenital Heart Disease. *J Am Heart Assoc.* 4(6): e002043.
- Alvarez-Martins I *et al.* 2016. The impact of chronic intermittent hypoxia on hematopoiesis and the bone marrow microenvironment. *Pflugers Arch.* 468: 919-32.
- Birbrair A 2014. *Pericyte subtypes at the intersection between tissue regeneration and pathology* [Ph.D.]. [United States -- North Carolina]: Wake Forest University.
- Birbrair A *et al.* 2013. Role of pericytes in skeletal muscle regeneration and fat accumulation. *Stem Cells Dev.* 22(16): 2298-314.
- Bobryshev Yv *et al.* 2015. Vascular stem/progenitor cells: current status of the problem. *Cell Tissue Res.* 362(1): 1-7.
- Chatzizisis YS *et al.* 2007. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol.* 49(25): 2379-93.
- Corselli M *et al.* 2011. The Tunica Adventitia of Human Arteries and Veins As a Source of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Dev.* 21(8): 1299-308.
- Dellavalle A *et al.* 2011. Pericytes resident in postnatal skeletal muscle differentiate into muscle fibres and generate satellite cells. *Nat Commun.* 2: 499.
- Díaz-Herráez P *et al.* 2017. Transplantation of adipose-derived stem cells combined with neuregulin-microparticles promotes efficient cardiac repair in a rat myocardial infarction model. *J Control Release Off J Control Release Soc.* 10: 249:23-31.
- Garbayo E *et al.* 2016. Catheter-based Intramyocardial Injection of FGF1 or NRG1-loaded MPs Improves Cardiac Function in a Preclinical Model of Ischemia-Reperfusion. *Sci Rep.* 6: srep25932.
- Geng Y-J *et al.* 2006. Vascular stem cells: a new concept in the pathogenesis of atherosclerosis and interventions for coronary heart disease. *Future Cardiol.* 2(5): 585-92.
- Heusch G *et al.* 2014. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure. *Lancet Lond Engl.* 383(9932): 1933-43.

- Katare R *et al.* 2011. Transplantation of Human Pericyte Progenitor Cells Improves the Repair of Infarcted Heart Through Activation of an Angiogenic Program Involving Micro-RNA-132 Novelty and Significance. *Circ Res.* 109(8): 894–906.
- Karal-Yılmaz O *et al.*, 2011. Preparation and in vitro characterization of vascular endothelial growth factor (VEGF)-loaded poly(D,L-lactico-glycolic acid) microspheres using a double emulsion/solvent evaporation technique. *J Microencapsul.* 28(1): 46–54.
- Kawabe J-I and Hasebe N 2014. Role of the vasa vasorum and vascular resident stem cells in atherosclerosis. *BioMed Res Int* : 701571.
- Kelly-Goss MR *et al.*, 2014. 'Sweat RS, Stapor PC, Peirce SM, Murfee WL. Targeting pericytes for angiogenic therapies. *Microcirc N Y N* 1994. 21(4): 345–57.
- Kinard LA *et al.* 2012. Synthesis of oligo(poly(ethylene glycol) fumarate). *Nat Protoc.* 7(6): 1219–27.
- Kumar A and Cannon CP 2009. Acute Coronary Syndromes: Diagnosis and Management, Part I. *Mayo Clin Proc.* 84(10): 917–38.
- Li N *et al.* 2014. Heart regeneration, stem cells, and cytokines. *Regen Med Res.* 2(1).
- Mendis S *et al.* 2011. World Health Organization definition of myocardial infarction: 2008–09 revision. *Int J Epidemiol.* 40(1): 139–46.
- Mitchell A *et al.* 2015. Vascular injury and repair: a potential target for cell therapies. *Future Cardiol.* 11(1): 45–60.
- Psaltis PJ and Simari RD 2015. Vascular Wall Progenitor Cells in Health and Disease. *Circ Res.* 116(8): 1392–412.
- Rebouças J de S *et al.* 2016. Cardiac Regeneration using Growth Factors: Advances and Challenges. *Arq Bras Cardiol.* 107(3): 271–5.
- Riu F *et al.* 2017. The adipokine leptin modulates adventitial pericyte functions by autocrine and paracrine signalling. *Sci Rep.* 1: 7.
- Saleem S *et al.* 2016. Post thrombolytic resolution of ST elevation in STEMI patients. *Pak J Med Sci.* 32(1): 201–5.
- Simón-Yarza T *et al.* 2013. PEGylated-PLGA microparticles containing VEGF for long term drug delivery. *Int J Pharm.* 440(1): 13–8.
- Tang Z *et al.* 2012. Differentiation of multipotent vascular stem cells contributes to vascular diseases. *Nat Commun.* 3: 875.
- Tahergorabi Z and Khazaei M 2015. Leptin and its cardiovascular

- effects: Focus on angiogenesis.  
*Adv Biomed Res.* 4: 79.
- Vassiliadis E et al. 2012. Novel cardiac-specific biomarkers and the cardiovascular continuum.  
*Biomark Insights.* 7: 45-57.
- Xin M *et al.* 2013. Mending broken hearts: cardiac development as a basis for adult heart regeneration and repair. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 14: 529-541