



PROSIDING

Seminar Nasional Biologi XXII Perhimpunan Biologi Indonesia

“

Peran biologi dalam pendayagunaan
bioresources Indonesia
untuk meningkatkan
daya saing bangsa

”



Editor :

RE Prabowo, AR Maharning, ER Ardli, H Pramono, GE Wijayanti, MH Sastranegara, Y Sistina



Universitas Jenderal Soedirman
Purwokerto
2014

The Role of Angiotensin II Signaling on Ischaemia Reperfusion (IR) Injury-Induced Myofibroblast Differentiation

Kartika Ratna Pertiwi

*Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta
Email : doktertiwi@gmail.com*

Ischaemia Reperfusion (IR) injury is a collectively term to describe sequential events starting from an initial ischemia attack through to the return of blood flow. While the effect of IR injury had been widely studied in cardiac myocytes, Pertiwi and Chilton (2011) found that IR injury evoked cardiac fibroblasts differentiation into myofibroblasts. Ang II signaling pathway had been reported to involve in cardiac remodeling (Sun *et al.*, 2000). Because myofibroblasts were the crucial players responsible for the cardiac remodelling process, this study aimed to investigate whether blocking Ang II signaling with AT1 receptor blocker, Irbesartan (Irb), might affect the differentiation of cardiac fibroblasts into myofibroblasts. The isolated rat cardiac fibroblasts were pretreated with Irb 0.5 mg and 1mg per ml prior to the 60mins experiment of *in vitro* IR injury. Immunohistochemistry was used to determine myofibroblast by detecting the expression of SMA. The data was presented as % of myofibroblasts and was statistically analysed with paired Student's *t*-test. The results demonstrated that treating cultured fibroblasts with Irb at either a dosage of 0.5 mg/ml (Irb 1) or of 1 mg/ml (Irb 2) significantly inhibited IR-induced myofibroblast differentiation ($p < 0, 05$). No significant differences observed between the blocking effects of Irb 1 and Irb 2 in myofibroblast differentiation, indicated that both dosages of Irbesartan were equally effective in preventing IR-induced fibroblast differentiation. This study suggests that Ang II plays an important role in inducing myofibroblast differentiation after IR in which the injury may activate the endogenous RAS in cardiac fibroblast.

Key words : cardiac remodelling, RAS system, fibroblasts

PENDAHULUAN

Penyakit Jantung merupakan penyebab utama kematian di negara berkembang termasuk Indonesia. Menurut estimasi WHO antara tahun 2006 – 2015, kematian karena penyakit kardiovaskuler sekitar 17% (dikutip dalam Pertiwi and Chilton, 2011) dengan diagnosis tersering yang ditemukan adalah penyakit jantung iskemik. Namun, strategi terapi penyakit jantung iskemik dapat menimbulkan risiko bahaya baru, fenomena yang dikenal dengan Injuri Iskemia-Reperfusi (IR) yaitu sekumpulan jejas yang menggambarkan kerusakan jaringan karena berkurangnya aliran darah diikuti oleh kembalinya aliran darah yang mensuplai organ vital tersebut; peristiwa ini sering terjadi pada terapi trombolitik paska serangan angina, kateterisasi dan transplantasi jantung. Kerusakan miokardium karena jejas ini pada akhirnya akan menyebabkan disfungsi kontraktilitas dan infark miokard.

Fenomena jejas IR telah banyak diteliti terutama pengaruhnya pada sel otot (miosit) jantung. Belum banyak studi yang meneliti tentang pengaruh jejas IR pada sel mesenkim/ikat (fibroblast) jantung. Dalam responnya terhadap injuri, fibroblast diketahui akan berdiferensiasi menjadi suatu sel 'antara' yaitu sel mesenkim yang memiliki sifat menyerupai sel otot dengan ekspresi α -smooth muscle actin (α -SMA); fenotip sel seperti ini dikenal dengan Miofibroblast (Kakkar and Lee, 2010) yang merupakan sel kunci pada proses penyembuhan setelah serangan iskemia pada jantung. Namun, sel ini juga dianggap sebagai penyebab fibrosis, terbentuknya jaringan parut, karena kemampuannya mendeposit matriks ekstraseluler.

Manabe *et al.* (2002) menekankan bahwa Ang II mungkin merupakan kontributor utama pada fibrosis jantung. Beberapa eksperimen pada hewan percobaan secara *in vivo* mengindikasikan bahwa obat-obatan seperti antagonis AT1 reseptor dan ACE inhibitors dapat meminimalkan fibrosis jantung (Pitt *et al.*, 1997) sehingga membantu perbaikan fungsi kerja jantung khususnya paska infark miokard. Miosit dan fibroblast jantung sebelumnya diduga memiliki semua komponen RAS termasuk rennin, angiotensinogen, angiotensin (Ang) I dan Ang II, serta *Angiotensin-converting enzyme* (ACE). Penelitian menemukan bahwa baik pada miosit maupun fibroblast jantung, keduanya memiliki reseptor intrasel AT1 dan AT2 (De Mello, 1998). Penelitian lanjutan menggunakan teknik *in situ hybridization*, *in vitro autoradiography* dan immunohistokimia menunjukkan bahwa miofibroblast pada area infark jantung juga mengekspresikan reseptor rennin, ACE, reseptor *Angiotensin Type* (AT)1 dan AT2. (Sun *et al.*, 2000). Penelitian terkini (Serra and Bendersky, 2008; Leask, 2010) telah mengidentifikasi dengan jelas keberadaan sistem lokal Rennin-Angiotensin (RAS) secara autokrin dan parakrin pada jantung dan otak.

Ang II beraksi melalui reseptor yang termasuk dalam reseptor *G-protein coupled superfamily*, yaitu reseptor AT1 dan AT2 (Manabe *et al.*, 2002, Serra and Bendersky, 2008). Dengan berikatan pada AT1 reseptor, Ang II memiliki beberapa penting dalam pertumbuhan fibroblast jantung, produksi matriks ekstraseluler dan perlekatan protein matriks (Matsubara *et al.*, 1998). Secara fungsional ikatan Ang II pada AT1 turut berperan dalam mengatur kontraktilitas miokardium dengan melecutkan impuls dan menjembatani konduktivitas antar sel (*cell coupling*) (Weser, 1995; De Mello, 1998). Pada penyembuhan paska iskemia miokard, Ang II merupakan kontributor terjadinya fibrosis dengan meningkatkan produksi endothelin, memicu differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast, serta menghasilkan radikal bebas.

Patofisiologi IR cukup kompleks karena diduga melibatkan reaksi inflamasi, produksi radikal bebas, dan ion Ca^{2+} (Chamoun *et al.*, 2000). Sampai saat ini belum diketahui peranan RAS intrakardiak pada jejas IR. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah jalur sinyal Ang II berperan dalam mekanisme induksi differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast pada jejas IR. Penelitian ini merupakan lanjutan penelitian Pertiwi dan Chilton (2011) yang sebelumnya menunjukkan bahwa jejas IR pada kultur sel fibroblast jantung secara bermakna memicu differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast. Hipotesis penelitian ini adalah penghambatan sinyal Ang II dengan bloker reseptor AT1, Irbesartan (Irb), mempengaruhi induksi jejas IR pada differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast. Pemahaman akan peran Ang II dalam mekanisme jejas IR pada differensiasi fibroblast diharapkan akan membuka jalan dalam manajemen jejas IR yang sering ditemukan pada kondisi klinis seperti infark miokard akut, operasi kateterisasi jantung, dan reperfusi paska angina (Hausenloy and Yellon, 2007) untuk meminimalkan fibrosis dan meningkatkan fungsi faal jantung.

BAHAN DAN METODA

Preparasi Hewan Coba dan Isolasi Fibroblast dari Ventrikel

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan subjek penelitian kultur fibroblast yang diisolasi dari ventrikel jantung tikus betina jenis *Sprague Dawley*. Sebelumnya hewan coba diinjeksi dengan 0,15 ml 1,000 IU heparin kemudian anestesi dilakukan dengan induksi 5% isofluran dan 1 L/mnt oksigen, dan dipertahankan dengan 2% isofluran. Dalam keadaan teranestesi, tikus dibedah untuk diambil jantungnya dengan teknik seperti pada penelitian Chilton *et al.* (2005). Jantung tikus yang telah terisolasi ini selanjutnya digantung dan diperfusi dengan pompa peristaltik Langendorff pada suhu 37°C dengan laju 8 ml/mnt secara berturut-turut sebagai berikut: (a) larutan Tyrode's yang mengandung (mM): 140 NaCl, 5,4 KCl, 1 Na_2HPO_4 , 5 HEPES, 1 $MgCl_2$, 1 $CaCl_2$ dan 10 glukosa selama 5 menit; (b) larutan Tyrode's tanpa Ca^{2+} selama 5 menit dan (c) larutan Tyrode's yang mengandung 0,04 mM $CaCl_2$, 0,004 mg/ml protease (tipe XIV, Sigma) dan 0,04 mg/ml kolagenase (tipe II, Worthington) selama sekitar 12 menit. Ventrikel kemudian dicacah dalam larutan Tyrode's yang mengandung 0,1 mM $CaCl_2$, 0,1 mg/ml protease, 1 mg/ml kolagenase dan 5 mg/ml serum bovin albumin (Sigma). Proses disosiasi dan digesti selanjutnya dilanjutkan dalam *waterbath* yang digoyang pada suhu 34°C selama 40 menit sampai terpisah sempurna.

Model jejas IR in vitro pada kultur sel fibroblast jantung tikus dengan Irbesartan (Irb)

Teknik eksperimen ini merupakan modifikasi protokol Pertiwi dan Chilton (2011) yang dikembangkan dari protokol iskemik minyak parafin dari Lai dan Nishi (1998) serta metode jejas IR dari Han *et al.* (1996). Irbesartan (Irb) merupakan AT1 bloker. Dosis yang digunakan pada penelitian ini merujuk pada penelitian Sun *et al.* (2000) yang menemukan *de novo* sekresi Ang II pada fibroblast jantung; yaitu Irb 1 = 0,5 mg/ml Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco) dan Irb 2 = 1 mg/mL DMEM. Untuk membuat Irb 1 (0,5 mg/ml), 2 mg Irb diencerkan kedalam 4 ml DMEM, sedangkan untuk membuat Irb 2 (1 mg/ml), 3 mg Irb diencerkan kedalam 3 ml DMEM. Keduanya dihomogenisasi dan disaring dalam keadaan steril sebelum disimpan dalam inkubator pada suhu 37° C sebelum eksperimen dilakukan.

Secara ringkas suspensi sel dari proses digesti dan disosiasi sebelumnya dibagi kedalam tube menjadi kelompok kontrol (*time control*, TC, TC-Irb 1, dan TC-Irb 2), kelompok IR dan kelompok eksperimen (IR-Irb 1 dan IR-Irb 2). Seluruh tube kemudian disentrifus pada 2000 rpm selama 10 menit dan dibuang supernatannya, meninggalkan sepertiga volume pelet sel. Masing-masing kelompok diberi media DMEM yang diberi penicillin/streptomycin ($100 \mu g.ml^{-1}$),

amphotericin B ($0.25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) dan gentamicin ($100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) dengan tambahan Irb sesuai dosis kelompok yang dimaksud yaitu Irb 1 dan Irb 2 pada DMEM dalam keadaan steril.

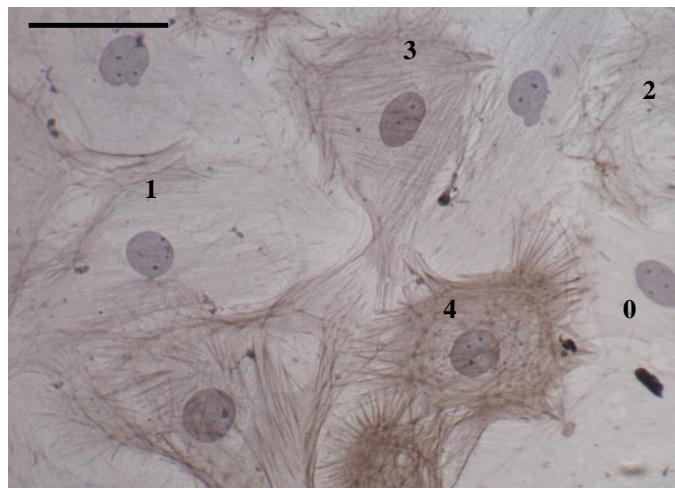
Eksperimen jejas IR *in vitro* dilakukan sesuai protokol Pertiwi dan Chilton (2011) di dalam *biosafety hood*, dimana seluruh tube eksperimen diletakkan dalam *solid block heater* pada suhu 37°C . Stimulasi iskemia pada kelompok IR dilakukan dengan menambahkan sejumlah minyak parafin sekitar kedalaman 3 – 4 mm diatas pelet sel depth ($\sim 500 \mu\text{l}$) diatas pelet sel untuk memblokir pertukaran gas dari atmosfer, sedangkan dalam waktu yang sama kelompok TC diberikan DMEM diatas pelet sel. Iskemia ini dilakukan selama 60 menit, selanjutnya reperfusi dilakukan dengan membuang minyak paraffin dan menggantinya dengan DMEM jumlah yang sama sesuai kelompok masing-masing selama 60 menit. Pelet sel kemudian diletakkan dalam petri kultur diatas *coverslip* pada kondisi steril untuk kemudian disimpan dalam inkubator.

Immunostaining α -smooth muscle actin:

Setelah $>75\%$ *coverslip* penuh oleh fibroblast dan miofibroblast, kultur sel diterminasi dan *coverslip* difiksasi dengan 2% paraformaldehid selama 30 menit, dipermeabilisasi dengan 1% triton X selama 10 menit dan diblok dengan 1% bovine serum albumin selama 2 jam. Fibroblast dan miofibroblast kemudian diinkubasi semalam dalam antibodi monoklonal anti- α -SMA mouse IgG₂ (*Vector labs*), diikuti dengan inkubasi selama 30 menit dalam antibodi *biotinylated horse antipad-mouse IgG* (*Vector labs*). Antibodi primer diencerkan 1:5000 dalam buffer pH 7,3 NaCl/Pi yang mengandung (mM): 140 NaCl, 2.7 KCl, 10 Na₂HPO₄, 1.8 KH₂PO₄ sedangkan antibodi sekunder diencerkan 1:200 dalam buffer NaCl/Pi yang mengandung 1% BSA. Immunoreaktivitas divisualisasi menggunakan 3,3'-Diaminobenzidine (10 menit) dan *counterstaining* dilakukan dengan hematoksin Meyer's.

Penilaian Miofibroblast

Preparat dikode kemudian dilakukan penilaian dengan mikroskop pada perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan pada lima lapang pandang. Sel-sel pada kelima area tersebut diberikan skor 0-4 tergantung dari keberadaan α -SMA (stress fibre) seperti terlihat pada Gambar 1. Skor 0 menggambarkan fibroblast yang tidak berdiferensiasi karena tidak mengekspresikan α -SMA. Jika sitoplasma sel mengandung $>75\%$ α -SMA maka sel ini diberikan skor 4 dan dilabeli sebagai miofibroblast sempurna. Sel dengan ekspresi α -SMA diantaranya diberi skor 1-3 dan dilabeli sebagai protomiofibroblast (Skor 1 jika ekspresi α -SMA $<25\%$, skor 2 antara 25% and 50% serta skor 3 antara 50% and 75%)

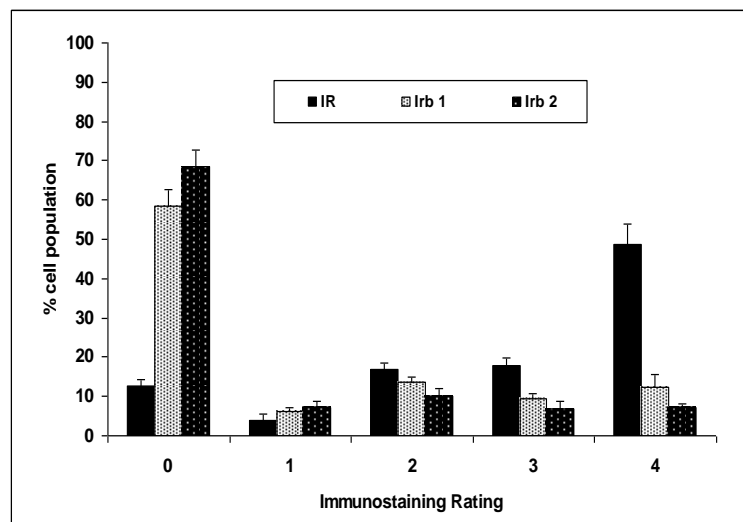


Gambar 1. Penilaian differensiasi miofibroblast ditinjau dari ekspresi α -SMA yang berpolimer sebagai *stress fibres* (tercat coklat). Skor 0 sampai 4 pada gambar menunjukkan secara berurutan fibroblast yang tidak terdifferensiasi, protomiofibroblast dan miofibroblast sempurna. Sel yang tidak mengandung *stress fibres* dinyatakan sebagai fibroblast (skor 0) dan sel dengan ekspresi *stress fibres* (1-4) dinyatakan sebagai miofibroblast. Skala bar $50 \mu\text{m}$, dengan pembesaran 400x.

Data dinyatakan sebagai rerata \pm SEM % miofibroblast. Analisis statistik dilakukan dengan *paired Student's t test* untuk melihat pengaruh penghambatan reseptor AT1 dengan Irb pada differensiasi miofibroblast karena stimulasi jejas IR serta untuk membandingkan keefektifan dosis antara Irb 1 dan Irb 2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan dengan reseptor AT1 bloker Irbesartan pada kultur fibroblast baik pada dosis 0,5 mg/ml (Irb 1) dan 1 mg/ml (Irb 2) secara signifikan berpengaruh pada differensiasi miofibroblast yang terinduksi jejas IR (gambar 2). Rerata persentasi protomiofibroblast yang ditemukan pada kelompok Irb 1 maupun Irb 2 secara bermakna lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok IR ($29,3 \pm 3,5\%$ dan $24,5 \pm 5,2\%$, vs $40 \pm 4,3\%$, *paired Student's t-test*, $P < 0,05$). Rerata persentase miofibroblast matur pada kelompok Irb 1 dan Irb 2 secara bermakna juga lebih sedikit daripada kelompok IR ($12,5 \pm 5,2\%$ dan $7,3 \pm 0,5\%$ vs $47,3 \pm 5,9\%$, *paired Student's t-test*, $P < 0,05$). Sementara itu tidak ditemukan perbedaan bermakna antara rerata persentase fibroblast, protomiofibroblast dan miofibroblast matur antara kelompok Irb 1 and Irb 2 (*paired Student's t-test*, $P > 0,05$).



Gambar 2. Perbandingan differensiasi miofibroblast antara IR dengan Irbesartan. groups. Skor 0 menunjukkan fibroblast, 1-3 menunjukkan protomiofibroblast dan 4 menunjukkan miofibroblast matur. Data merupakan rerata persentase \pm SEM (n=4).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penghambatan reseptor AT1 dengan Irb secara signifikan mampu mencegah differensiasi miofibroblast pada jejas IR. Tidak ada perbedaan keefektifan dosis Irb yang diteliti baik 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml dalam memberikan perlindungan terhadap stimulasi jejas IR pada differensiasi miofibroblast.

Untuk menentukan apakah Ang II bloker dapat menstimulasi differensiasi miofibroblast tanpa adanya jejas IR, data kelompok Irb dan TC-Irb dibandingkan. Hasilnya menunjukkan tidak ada perbedaan antara Irb 1 dan TC-Irb 1 dalam persentase miofibroblast matur ($5 \pm 5,2\%$ vs $5,3 \pm 1,8\%$) serta antara kelompok Irb 2 dan TC-Irb 2 ($7,3 \pm 0,5\%$ vs $5,3 \pm 2,9\%$). Demikian halnya dengan persentase protomiofibroblast antara kelompok Irb 1 dan TC-Irb 1 ($29,3 \pm 3,5\%$ vs $26,3 \pm 1,9\%$) serta antara Irb 2 dan TC-Irb 2 ($24,5 \pm 5,2\%$ vs $18,3 \pm 2,5\%$) tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Dengan demikian penghambatan reseptor AT1 dengan Irb tidak memicu differensiasi miofibroblast pada kondisi tanpa adanya jejas/perluasan, sehingga efek pencegah differensiasi miofibroblast terjadi hanya jika terdapat jejas IR.

Jejas IR merupakan masalah kesehatan utama yang menyumbang lebih dari 20 juta kasus infark miokard per tahun (Powers *et al.*, 2007). Selama penyembuhan infark miokard, beberapa studi telah menunjukkan bahwa miofibroblast yang berdifferensiasi dari fibroblast merupakan modulator penting dalam penyembuhan kerusakan jantung (Sun *et al.*, 2000) meskipun hiperaktivitas miofibroblast dalam mendepositkan matrik ekstraseluler menyebabkan fibrosis yang selanjutnya akan mempengaruhi kontraktilitas miokardium (Willems *et al.*, 1997) serta membuat jantung lebih rentan terhadap risiko terjadinya aritmia (Rohr, 2009).

Pertiwi dan Chilton (2011) sebelumnya telah memodifikasi model jejas IR *in vitro* dengan manipulasi menggunakan minyak parafin diatas pelet fibroblast untuk menciptakan kondisi iskemia dimana dengan hanya menyisakan sedikit media diatas sel, suplai oksigen tidak akan cukup untuk mendukung metabolisme aerobik yang merupakan salah satu karakter khas iskemia (Hearse, 2000). Manipulasi reperfusi dengan menghilangkan minyak parafin dan menggantinya dengan media akan mengembalikan kadar oksigen seperti sedia kala. Pertiwi dan Chilton (2011) menunjukkan bahwa jejas IR selama 60 dan 120 menit secara ekivalen mampu menstimulasi differensiasi fibroblast menjadi miofibroblasts. Oleh karena itu dalam penelitian lanjutan ini eksperimen jejas IR dilakukan selama 60 menit.

Menurut Tomasek *et al.* (2002), fibroblast dengan ekspresi lemah α -SMA mengindikasikan bahwa sel tersebut telah mampu berdifferensiasi menjadi miofibroblast walaupun belum sepenuhnya, sehingga skor 1-3 yang disebut protomyofibroblast menandakan fibroblast tersebut masih dalam tahap differensiasi. Hal ini mendukung pernyataan bahwa pembentukan jaringan parut paska jejas IR merupakan suatu proses yang kontinyu bukan sementara (Sun *et al.*, 2000).

Penelitian ini bertujuan mengetahui apakah menghambat reseptor AT1 mampu mencegah terjadinya differensiasi miofibroblast yang diinduksi jejas IR. Diketahui sebelumnya bahwa Ang II, yang diproduksi secara lokal oleh jantung merupakan elemen yang berperan penting dalam mekanisme maladaptif dalam penyembuhan jejas iskemik atau penekanan pada jantung melalui ikatannya dengan AT1.

Oleh karena itu model *in vitro* jejas IR pada fibroblast jantung yang dikembangkan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa efek yang terjadi merupakan akibat pengaruh lokal RAS pada jantung secara autokrin dan parakrin, ini dikarenakan model *in vitro* telah mengeliminir keberadaan RAS sistemik. Namun, penelitian ini hanya memperhatikan peran intrakardiak RAS dalam memicu differensiasi miofibroblast pada jejas IR, dan tidak dapat mengindikasikan pengaruh RAS sistemik selama proses differensiasi fibroblast yang distimulasi jejas IR.

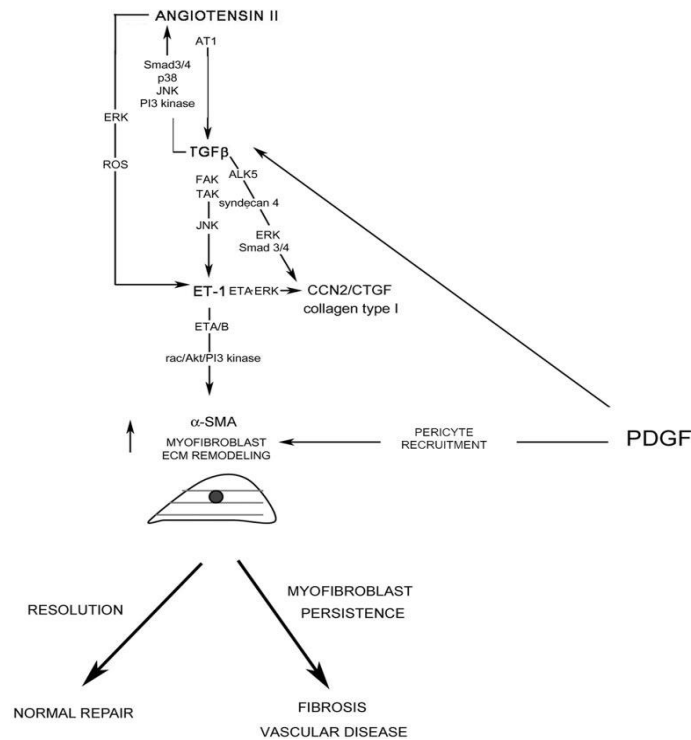
Penelitian ini telah mendemonstrasikan bahwa perlakuan Irb terhadap kultur fibroblast baik pada dosis 0,5 mg/ml (Irb 1) ataupun 1 mg/ml (Irb 2) secara signifikan mampu menghambat induksi differensiasi miofibroblast oleh jejas IR. Tidak adanya perbedaan bermakna pada penghambatan Irb 1 dan Irb 2 menunjukkan bahwa efek penghambatan differensiasi miofibroblast antara Irb 1 dan Irb 2 sama-sama efektif. Oleh karena itu, penelitian ini mengindikasikan bahwa jejas IR mampu mengaktifkan RAS endogen yang terdapat pada fibroblast jantung, memicu differensiasinya menjadi miofibroblast melalui jalur sinyal Ang II.

Leask (2010) mengemukakan suatu diagram (gambar 3) yang menunjukkan komunikasi antara Ang II dan *Transforming Growth Factor* (TGF- β) dalam proses respon fibrogenik *in vivo*. Ang II secara langsung dapat mengaktifkan TGF- β , CCN2/CTGF dan ET-1 sedangkan TGF- β juga dapat mengaktifkan ET-1 dan CCN2/CTGF; ET-1 juga dapat langsung mengaktifkan CCN2/CTGF. Selain itu, TGF- β mungkin juga dapat menstimulasi AT1, sehingga memperkuat jalur sinyal Ang II. Pada akhirnya sitokin-sitokin tersebut mampu memicu aktivasi fibroblast dan transformasi miofibroblast. Pada proses penyembuhan secara normal, miofibroblast mengalami apoptosis ketika tercapai resolusi fungsi organ tersebut, sedangkan pada fibrosis organ vaskular miofibroblast dapat bertahan sampai 17 tahun dalam jaringan parut pada infark miokard.

Penelitian sebelumnya baik *in vivo* ataupun *in vitro*, menunjukkan bahwa terdapat sekresi basal Ang II, ikatannya dengan reseptor AT1 mampu memicu differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast (Brilla *et al.*, 2000). Penelitian ini mengindikasikan bahwa tidak terdapat efek penghambatan reseptor AT1 terhadap differensiasi fibroblast tanpa adanya stimulus jejas IR. Sehingga, Irb yang tidak mempengaruhi fibroblast dalam kondisi lingkungan yang sehat, menunjukkan bahwa sekresi basal Ang II tidak menstimulasi differensiasi fibroblast.

Temuan penelitian ini juga didukung penelitian *in vitro* autoradiografi oleh Rogers *et al.* (1986) yang menunjukkan bahwa hanya katup jantung dan aorta yang memiliki jumlah reseptor Ang II terbanyak pada jantung yang sehat, sementara atrium dan ventrikel hanya mengekspresikan sedikit reseptor Ang II. Sehingga, dapat diasumsikan bahwa intrakardiak RAS lebih teraktivasi ketika terjadi kondisi patologis.

Temuan penelitian ini menggarisbawahi peran Ang II dalam menstimulasi differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast sebagai respon terhadap jejas IR. Pemahaman akan peran Ang II dalam mekanisme differensiasi miofibroblast terinduksi IR akan sangat bermanfaat dalam terapi jejas IR yang dapat terjadi pada berbagai kasus klinis seperti infark miokard akut, operasi *coronary artery bypass graft* (CABG) dan terapi paska serangan jantung (Hausenloy and Yellon, 2007).



Gambar 3. Kolaborasi Ang II dan TGF-β dalam mekanisme respon fibrogenik.

Respon maladaptif miofibroblast terhadap injuri IR pada akhirnya dapat mempengaruhi fungsi faal jantung dengan mengganggu kontraktilitas miokard dan risiko aritmia. Sehingga, mencegah fibrosis jantung dengan mencegah differensiasi fibroblast menjadi miofibroblast merupakan target terapi yang menjanjikan dan bernilai pada penanganan jejas IR.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Lisa Emily Chilton, PhD dan staf Departemen Fisiologi *School of Biomedical Science James Cook University, Australia* atas bantuan dan kerjasamanya selama melakukan penelitian ini.

PUSTAKA

- Brilla C G, Funck R C and Rupp R H. 2000. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. *Circulation* 102: 1388–1393.
- Chamoun F, Burne M, O'donnell M and Rabb H. 2000. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Frontiers in Bioscience* 5: e103-109
- Chilton L, Ohya S, Freed D, George E, Drobcic V, Shibukawa Y, MacCannell Y, Imaizumi R B, Clark I, Dixon M and Giles W R. 2005. K⁺ currents regulate the resting membrane potential, proliferation, and contractile responses in ventricular fibroblasts and myofibroblasts. *American Journal of Physiology Heart Circulation Physiology* 288: H2931–H2939.
- De Mello W C. 1998. Intracellular angiotensin II regulates the inward calcium current in cardiac myocytes. *Hypertension* 32: 976–982
- Han J, Kim E, Ho W K and Earm YE. 1996. Blockade of the ATP-sensitive potassium channel by taurine in rabbit ventricular myocytes. *Journal of Molecular Cell Cardiology* 28(9):2043-2050
- Hausenloy D J and Yellon D M. 2007. Preconditioning and postconditioning: new strategies for cardioprotection. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 10: 451-459
- Hearse D J and Sutherland F J. 2000. Experimental models for the study of cardiovascular function and disease. *Pharmacological Research* 41(6): 597-603
- Kakkar R and Lee R T. 2010. Intramyocardial Fibroblast Myocyte Communication. *Circulation Research* 106: 47-57
- Lai Z F and Nishi K. 1998. Intracellular chloride activity increases in guinea pig ventricular muscle during simulated ischemia. *American Journal of Physiology (Heart Circulation)* 275(44): H1613–H1619
- Leask A. 2010. Potential therapeutic targets for cardiac fibrosis TGF β, Angiotensin, Endothelin, CCN2, and PDGF, partners in fibroblast activation. *Circulation Research* 106: 1675-1680

- Manabe I, Shindo T and Nagai R . 2002. Gene expression in fibroblasts and fibrosis *Circulation Research* 91: 1103-1113
- Matsubara H, Kanasaki M and Murasawa S. 1998. Differential gene expression and regulation of angiotensin II receptor subtypes in rat cardiac fibroblasts and cardiomyocytes in culture. *Journal of Clinical Investigation* 93: 1592-1601
- Pertiwi K and Chilton L. 2011. Ischaemic preconditioning prevents the differentiation induced by ischaemia/reperfusion injury of rat cardiac fibroblast into myofibroblast in Prosiding of The 2011 International Physiology Society, UK
- Pitt B, Segal R, Martinez F A. 1997. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly Study, ELITE). *Lancet* 349: 747-752
- Powers S K, Murlasits Z, Wu M I N and Kavazis A N. 2007. Ischemia-reperfusion-induced cardiac injury: A Brief Review. *Sports and Exercise* 39(9): 1529-1539
- Rogers T B, Gaa S T and Allen I S. 1986. Identification and characterization of functional angiotensin II receptors on cultured heart myocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 236: 438-444
- Rohr S. 2009. Myofibroblasts in diseased hearts: new players in cardiac arrhythmias? *Journal of Heart Rhythm* 6(6): 848-856
- Serra J L and Bendersky M. 2008. Review: Atrial fibrillation and rennin-angiotensin system. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease* 2: 215-222
- Sun Y, Zhang J Q, Zhang J and Lamparter S. 2000. Cardiac remodeling by fibrous tissue after infarction in rats. *Journal of Clinical Laboratory and Clinical Medicine* 315: 316-323
- Tomasek J J, Gabbiani G, Hinz B, Chponnier C and Brown R A. 2002. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodeling. *Molecular Cell Biology* 3: 349-363
- Villarreal F J, Kim N N and Ungab G D. 1993. Identification of functional angiotensin II receptors on cardiac fibroblasts. *Circulation* 88: 2849-2861
- Weser K J. 1995. Nature of inotropic action of angiotensin on ventricular myocardium. *Circulation Research* 16: 230-237
- Willems I E M G, Havenith M G, De Mey J G R and Daemen M JA P. 1994. The α -smooth muscle actin-positive cells in healing human myocardial scars. *American Journal of Pathology* 145: 868-875