

**BAB 1****PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Pada tahun 2015, data global menunjukkan bahwa penyakit jantung koroner (PJK) merupakan penyebab kematian pada 8.9 juta pasien dan diperkirakan akan mencapai 23,6 juta pada tahun 2030 (Roth *et al.*, 2017). Infark miokard merupakan penyebab utama gagal jantung oleh karena kematian kardiomyosit. Sampai saat ini, tujuan tatalaksana infark miokard secara farmakologis maupun intervensi terbatas pada mengembalikan aliran darah koroner (revaskularisasi) dan mengurangi beban otot jantung. Berbagai pilihan tatalaksana tersebut tidak dapat menggantikan kardiomyosit yang telah rusak dengan sel kontraktile yang baru. Sampai saat ini, tidak ada terapi kuratif untuk gagal jantung tahap lanjut akibat PJK kecuali dengan transplantasi jantung. Namun transplantasi jantung hanya dapat dilakukan pada sebagian kecil pasien karena terkendala oleh keterbatasan donor dan kemungkinan rejeksi imunitas (Burchfield & Dimmeler, 2008; Dimmeler *et al.*, 2005).

Kemampuan regeneratif miokardium pada orang dewasa terbatas karena sel miokard merupakan sel yang telah berdiferensiasi sempurna. Perbaikan miokardium yang rusak dapat dilakukan melalui penggantian sel baru yang berasal dari sel punca atau *stem cell* (Hanson *et al.*, 2012; Srivastava, 2017). Terapi inovatif dibutuhkan khususnya untuk menghadapi tantangan atas ketidakmampuan jantung melakukan *self regeneration*. Metode untuk regenerasi miokard dikenal dengan kardiomioplasti seluler (Chachques *et al.*, 2005; Hamano *et al.*, 2001).

Pemrograman ulang sel (*cellular reprogramming*) memiliki potensi untuk mendapatkan ketersediaan sel melalui teknik induksi sel punca pluripoten dan

transdiferensiasi. Sel pluripoten hasil induksi memiliki persamaan dengan sel punca embrionik dalam hal pluripotensi dan dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel. Namun, terdapat pula kekurangan sel pluripoten ini yaitu masih memiliki masalah keamanan, etik, dan hukum (Takahashi & Yamanaka, 2006). Transdiferensiasi merupakan konversi jenis sel terdiferensiasi tertentu menjadi sel yang lain. Transdiferensiasi memiliki keuntungan melebihi teknik induksi sel punca pluripoten meliputi; 1) tidak memerlukan tahap-tahap diferensiasi tambahan sehingga secara keseluruhan proses relatif sederhana, 2) transdiferensiasi tidak melalui tahap sel pluripotensial dengan proses dediferensiasi lebih dahulu, sehingga risiko teratogenensis dan tumorigenesis lebih rendah dan akhirnya lebih aman (Wang *et al.*, 2015).

Keberhasilan proses pemrograman ulang sel dipengaruhi oleh jenis sel target. Secara umum, sel dengan tingkat diferensiasi lanjut lebih sulit diprogram ulang. Sel punca haematopoietik mengekspresikan salah satu penanda permukaan yaitu CD34<sup>+</sup>. Sel CD34<sup>+</sup> berasal dari lapisan embrionik yang sama dengan organ jantung saat organogenesis yaitu lapisan mesoderm (Lim *et al.*, 2013). Sel CD34<sup>+</sup> mempunyai potensi untuk menjadi sel yang dapat berdiferensiasi menjadi sel spesifik salah satunya adalah kardiomyosit. Sel CD34<sup>+</sup> dapat diambil dari darah perifer melalui prosedur minimal invasif yang *well established* dan sel-sel yang diambil akan diganti secara alami oleh produksi sel induk dari sumsum tulang tubuh. Karena sel darah perifer secara terus-menerus diremajakan oleh sel induk dari sumsum tulang, diharapkan sel tersebut memiliki lebih sedikit titik mutasi terkait lingkungan (Romagnani, *et al.*, 2006). Sel CD34<sup>+</sup> dari darah perifer mudah didapat dalam jumlah besar dengan efisiensi pemrograman ulang pada kisaran 0,01 - 0,02% (Raab *et al.*,

2014; Romagnani *et al.*, 2006). Sampai saat ini belum pernah diteliti tentang transdiferensiasi sel CD34+ darah perifer menjadi kardiomyosit matur.

Proses diferensiasi suatu jenis sel menjadi sel lain dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti faktor transkripsi, jalur pensinyalan, lingkungan mikro dari sel (*niche*) dan juga mekanisme epigenetik (Kogut *et al.*, 2018). Sebagian besar penelitian transdiferensiasi artifisial baik secara *in vitro* dan *in vivo* dilakukan dengan metode modifikasi lingkungan mikro seperti penambahan medium tumbuh tertentu. Selain menggunakan modifikasi lingkungan mikro, beberapa studi terbaru menunjukkan bahwa modifikasi epigenetik merupakan metode yang berpotensi dalam memicu transdiferensiasi sel. Modifikasi epigenetik dapat merubah fungsi suatu gen tanpa merubah sekuens DNA intrasel. Salah satu metode modifikasi epigenetik adalah menggunakan *microRNA (miRNA)*. Transdiferensiasi sel dengan *miRNA* relatif lebih mudah dilakukan ke dalam sel matur dan tidak memiliki risiko perubahan genom secara permanen sehingga lebih aman (Raghuwanshi *et al.*, 2017).

*MicroRNA* memiliki peran kunci pada tahap diferensiasi kardiomyosit karena merupakan regulator penting pada patologi jantung. Profil *miRNA* kardiomyosit yang diperoleh dari sel punca embrionik manusia menunjukkan bahwa “*myomiRs*” *miR-1*, *miR-133a*, *miR-208*, dan *miR-499* berubah secara signifikan dibanding *miRNA* lain selama diferensiasi jantung. *MicroRNA-1* diketahui memiliki jumlah paling dominan pada jaringan jantung hingga 45% sedangkan *miR-133a* merupakan *miRNA* yang berasal dari satu kluster yang sama dengan *miR-1* yang fungsi dan kerjanya saling berhubungan (Malizia & Wang, 2011; Wang *et al.*, 2015).

*MicroRNA* merupakan RNA *non coding* (bukan penyandi) yang bekerja pada tahap pasca transkripsi dengan mendegradasi atau menghambat translasi *messenger RNA (mRNA)* sasaran yang berakibat modifikasi ekspresi gen (Serradifalco *et al.*,

2013). *MicroRNA-1* diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat ekspresi gen *histone deacetylase 4* (HDAC4) yang kemudian meningkatkan ekspresi gen *myocyte enhancer factor 2* (MEF2). Peningkatan MEF2 diketahui dapat memicu diferensiasi sel mesodermal menjadi kardiomyosit matur yang ditandai dengan meningkatnya *cardiac troponin (c-troponin)* (Chen *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2015; Al-Maqtari *et al.*, 2017).

*MicroRNA-133a* dapat menghambat ekspresi gen *serum response factor binding protein 1* (SRFBP1) yang merupakan kofaktor dari ekspresi gen *serum response factor* (SRF) (Sepulveda *et al.*, 2002). Penghambatan SRF pada sel mesodermal akan memicu proliferasi dan menghambat diferensiasi sel menjadi kardiomyosit matur (Al-Maqtari *et al.*, 2017). Hingga saat ini belum pernah dilakukan penelitian tentang pengaruh *miR-1* dan *miR-133a* dalam proses induksi transdiferensiasi sel CD34+ menjadi kardiomyosit matur. Keberhasilan proses transdiferensiasi sel dapat dievaluasi dengan mengukur efisiensi. Efisiensi transdiferensiasi didapatkan melalui perhitungan jumlah sel yang telah mengalami transdiferensiasi dibagi dengan jumlah sel sumber yang dilakukan intervensi (Kogut *et al.*, 2018).

Berdasarkan latar belakang di atas maka diperlukan penelitian tentang pengaruh transfeksi *miR-1* dan *miR-133a* dalam proses induksi transdiferensiasi sel CD34+ darah perifer menjadi kardiomyosit matur secara *in vitro* untuk memperoleh sumber sel yang berguna dalam pengembangan terapi kardiomioplasti seluler.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat pengaruh transfeksi *miR-1* terhadap penurunan ekspresi gen HDAC4 pada proses induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur ?
2. Apakah terdapat pengaruh transfeksi *miR-133a* terhadap penurunan ekspresi gen SRFBP1 pada induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur ?
3. Apakah terdapat perbedaan pengaruh antara transfeksi *miR-1*, *miR-133a* dan pemberian medium diferensiasi kardiomyosit dalam induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur dengan penanda ekspresi *cardiac troponin* ?
4. Apakah terdapat korelasi ekspresi gen HDAC4 dan gen SRFBP1 dengan *cardiac troponin* dalam proses induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur ?
5. Berapakah besarnya efisiensi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur dengan menggunakan transfeksi *miR-1* dan pemberian medium diferensiasi kardiomyosit ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis peran *miR-1* dan *miR-133a* dalam proses induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur secara *in vitro*.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan pengaruh transfeksi *miR-1* terhadap penurunan ekspresi gen HDAC4 pada induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur.
2. Membuktikan pengaruh transfeksi *miR-133a* terhadap penurunan ekspresi gen SRFBP1 pada induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur.
3. Membuktikan perbedaan pengaruh antara transfeksi *miR-1*, *miR-133a* dan pemberian medium diferensiasi kardiomyosit dalam induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur dengan penanda ekspresi *cardiac troponin* ?
4. Membuktikan korelasi ekspresi gen HDAC4 dan gen SRFBP1 dengan *cardiac troponin* dalam proses induksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur.
5. Mengungkap besarnya efisiensi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur melalui transfeksi *miR-1* dan pemberian medium diferensiasi kardiomyosit.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat teoritis

1. Memberikan informasi ilmiah terbaru bahwa transfeksi *miR-1* dan *miR-133a* dapat menginduksi transdiferensiasi sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur melalui jalur perubahan pada ekspresi gen HDAC4 dan SRFBP1.

2. Memberikan informasi ilmiah terbaru tentang besarnya efisiensi pemrograman ulang dengan *miR-1* dan *miR-133a* pada sel CD34<sup>+</sup> darah perifer untuk transdiferensiasi menjadi kardiomyosit matur.

#### **1.4.2 Manfaat praktis**

1. Mendapatkan sumber kardiomyosit matur dari sel CD34<sup>+</sup> darah perifer untuk pengembangan terapi kardiomoplasti seluler dengan pengambilan sel secara minimal invasif dan sel-sel yang diperoleh akan diganti secara alami oleh produksi sel induk sumsum tulang tubuh.
2. Teknik transdiferensiasi artifisial sel CD34<sup>+</sup> darah perifer menjadi kardiomyosit matur diperoleh secara lebih sederhana dan diaplikasikan lebih aman karena tanpa melalui tahap perkembangan sel pluripotensial. Hal ini akan mengurangi risiko teratogenesis dan tumorigenesis ketika ditransplantasikan pada pasien gagal jantung karena infark miokard.