

## **Peranan *Transforming Growth Factor $\beta$ -1* (TGF $\beta$ -1) dalam Perkembangan Penyakit Jantung Akibat Induksi Diet Lemak Tinggi**

### **The Role of *Transforming Growth Factor $\beta$ -1* (TGF $\beta$ -1) in The Development of Heart Disease Caused by Induction of High Lipid Diet**

**Tisna Tyasasmaya<sup>1</sup>, Dhirgo Adji<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

<sup>2</sup>Bagian Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada  
Jl. Fauna No.2 Karangmalang, Yogyakarta 55281.  
Email : dhirgo\_adji@yahoo.com.

#### **Abstract**

Cardiovascular diseases are the disorder of artery carrying blood into heart muscle and characterized by thickening, stiffening and constriction of the artery. In spite of cardiovascular disease cases have been known since along time ago, the main factor, mechanism, pathogenesis and indicator of the early existence of these diseases are still unknown. Transforming growth factor  $\beta$ -1 (TGF  $\beta$ -1) is a growth factor produced by various cell types which are presumed to be involved in cardiovascular diseases. This research was done to find out the role of TGF  $\beta$ -1 in cardiovascular diseases. Twenty female Sprague Dawley rats, 150 grams of body weight were used in this research. Rats were adapted for seven days, and then divided randomly into two Groups, 10 rats for each. Group I was fed in standard diet containing 5% of saturated fat, while Group II was fed in high fat diet containing 30% of saturated fat. Rats were maintained for two months, corresponding to each diet treatment of both groups and water *ad libitum*. After two months of the diet, blood was collected from orbital vein and stored into uncoagulated tube for triglyceride measurement. Rats were then killed, necropsied and their heart tissues were collected into tubes containing 10% formaldehyde for histopathologic analysis and immunohistochemistry to see the expression of TGF  $\beta$ -1. The result of blood analysis showed that the average of triglyceride concentration of Group I was 126 mg/dl and 228.1 mg/dl of Group II. After statistically analyzed using student t-test, it showed that there was a significant difference between Group I and II ( $P < 0,05$ ). Eventhough histopathologic analysis of heart tissue did not show any alteration, the TGF  $\beta$ -1 was expressed in all heart tissue of Group II. Based on the results above, it can be concluded that TGF  $\beta$ -1 is involved in the incidence of cardiovascular disease and it is possible to use TGF  $\beta$ -1 as a diagnostic marker of cardiovascular disease.

**Keywords :** heart, cardiovascular disease, orbital vein, high fat diet, TGF  $\beta$ -1

### Abstrak

Penyakit kardiovaskuler merupakan kelainan pembuluh darah arteri yang mengalirkan darah ke otot jantung. Sampai saat ini, penyebab utama, mekanisme kejadian, patogenesis dan indikator adanya penyakit kardiovaskuler secara dini, belum diketahui. *Transforming growth factor  $\beta$ -1* (TGF  $\beta$ -1) adalah faktor pertumbuhan yang diproduksi oleh berbagai sel tubuh yang diduga terlibat pada kejadian penyakit kardiovaskuler. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui peranan TGF  $\beta$ -1 dalam kejadian penyakit kardiovaskuler. Sebanyak 20 ekor tikus *Sprague Dawley* betina, berat rata-rata 150 gram dipergunakan dalam penelitian ini. Setelah diadaptasikan selama tujuh hari, tikus dibagi menjadi dua kelompok secara acak, masing-masing 10 ekor. Kelompok I diberi diet basal mengandung lemak jenuh 5%, sedangkan Kelompok II diberi diet lemak tinggi yang mengandung lemak jenuh sebesar 30%. Tikus dipelihara selama dua bulan dengan mendapat jatah ransum sesuai dengan kelompok masing-masing dan air *ad libitum*. Pada akhir bulan ke dua, tikus diambil darahnya melalui vena orbitalis, disimpan dalam tabung tanpa antikoagulan untuk dipergunakan dalam menganalisis konsentrasi trigliserida plasma. Setelah sampel darah terkoleksi, tikus kemudian dikorbankan nyawanya, dinekropsi, selanjutnya jaringan jantung dikoleksi dalam larutan formalin 10% untuk dipergunakan dalam pembuatan preparat histopatologi dan imunohistokimia guna melihat ekspresi TGF  $\beta$ -1 dalam jaringan jantung. Hasil penelitian diperoleh konsentrasi rerata trigliserida Kelompok I = 126 mg/dl sedangkan Kelompok II = 228,1 mg/dl dan setelah dianalisis secara statistik dengan metode *Student t-test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis imunohistokimia pada jaringan jantung dari kelompok II menunjukkan ekspresi positif TGF  $\beta$ -1. Berdasarkan hasil tersebut diatas, disimpulkan bahwa TGF  $\beta$ -1 terlibat pada kejadian penyakit kardiovaskuler dan bisa dipergunakan sebagai petanda terjadinya penyakit kardiovaskuler.

**Kata kunci :** jantung, penyakit kardiovaskuler, vena orbitalis, diet tinggi lemak, TGF  $\beta$ -1

### Pendahuluan

Penyakit kardiovaskuler merupakan kelainan pada pembuluh darah arteri yang mengalirkan darah ke otot jantung, dan menciri dengan adanya penebalan, pengerasan serta penyempitan pada pembuluh darah tersebut. Saat ini penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab 40-50% kematian usia dini dan telah menduduki peringkat pertama penyebab kematian pada manusia (Karyadi, 2002). Meskipun telah banyak penelitian dilakukan oleh para ahli, namun pada kenyataannya, penyebab utama, mekanisme kejadian, patogenesis dan indikator yang dipergunakan untuk mengetahui adanya penyakit kardiovaskuler secara dini masih belum diketahui. Menurut Nicholson dan Hajjar (1998), penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit multifaktorial yang melibatkan berbagai faktor antar lain genetik, hiperkolesterolemia,

diabetes melitus, kegemukan yang didukung oleh faktor lingkungan dan stres. Faktor-faktor klasik seperti hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia dan hipertensi biasa selalu mengikuti pada kejadian penyakit kardiovaskuler.

*Transforming Growth Factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) merupakan superfamili pengikat (*ligand*), reseptor, *binding* protein yang secara bersamaan memainkan peranan dalam menjaga stabilitas struktur pembuluh darah. Gangguan spesifik pada gen yang mengkode anggota superfamili ini diduga berkaitan dengan kejadian penyakit kardiovaskuler seperti sindroma yang melibatkan hilangnya struktur pembuluh darah, timbulnya hipertensi maupun aneurisma. Kontribusi TGF- $\beta$  pada perkembangan plak atherosklerosis sangatlah kompleks karena TGF- $\beta$  dapat dihasilkan oleh berbagai sel yang berbeda sehingga mampu menempel pada berbagai reseptor

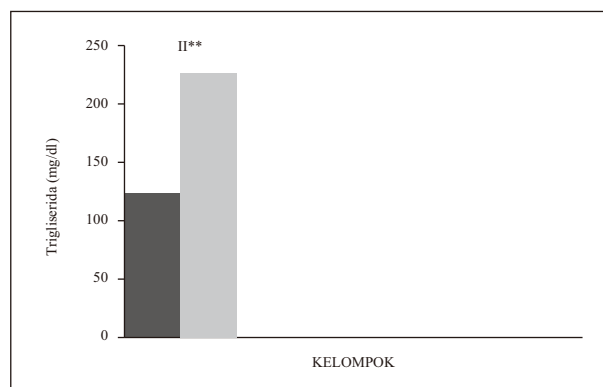
(Grainger, 2007). Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari peranan TGF- $\beta$ 1 dalam kejadian penyakit jantung, pada tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet lemak tinggi.

### Materi dan Metode

Dua puluh ekor tikus *Sprague Dawley* betina, berat rata-rata 150 gram dipergunakan dalam penelitian ini. Tikus diadaptasikan selama tujuh hari, kemudian tikus dibagi menjadi dua kelompok secara acak, masing masing kelompok 10 ekor tikus. Kelompok I adalah tikus yang diberi diet basal mengandung lemak jenuh sebesar 5%, sedangkan Kelompok II adalah tikus yang diberi diet lemak tinggi, yaitu pakan yang mengandung lemak jenuh sebesar 30%. Tikus dipelihara selama satu bulan dengan mendapatkan jatah ransum sesuai dengan kelompok masing-masing dan air secara *ad libitum*. Pada akhir bulan kedua, tikus diambil darahnya melalui vena orbitalis, disimpan dalam tabung tanpa antikoagulan untuk dipergunakan dalam menganalisis konsentrasi trigliserida dalam plasma. Setelah sampel darah terkoleksi, tikus kemudian dikorbankan nyawanya, dinekropsi dan jaringan jantung dikoleksi dalam larutan formalin 10% untuk dipergunakan dalam pembuatan preparat histopatologi dan preparat imunohistokimia untuk melihat ekspresi TGF- $\beta$ 1 dalam jaringan jantung. Konsentrasi trigliserida dalam darah dianalisis menggunakan metoda enzimatik, preparat histopatologis dibuat dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin, sedangkan analisis ekspresi TGF- $\beta$ 1 dilakukan dengan metoda imunohistokimia Streptavidin-Biotin.

### Hasil dan Pembahasan

Analisis konsentrasi trigliserida terhadap tikus kelompok I dan Kelompok II, menggunakan uji *Student T-test*, menunjukkan perbedaan signifikan ( $P < 0,05$ ) (Gambar 1).



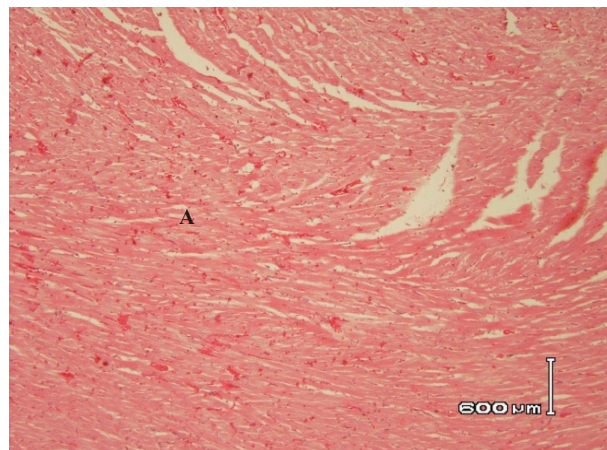
Gambar 1. Konsentrasi trigliserida plasma tikus Kelompok I dan tikus Kelompok II, menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ )

Perbedaan tersebut menggambarkan bahwa perlakuan diet pada kelompok II mendapatkan rerata konsentrasi trigliserida lebih tinggi (228,1 mg/dl) dibandingkan dengan rerata tikus pada Kelompok I (126 mg/dl).

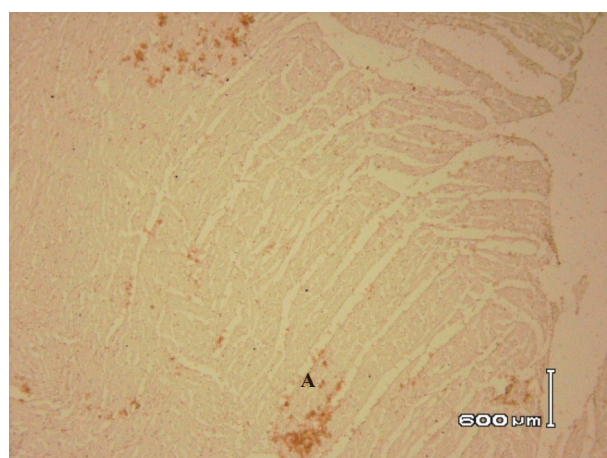
Peningkatan konsentrasi trigliserida plasma sudah lama diketahui sebagai faktor resiko terjadinya penyakit jantung. Sejak tahun 1953 faktor trigliserida telah resmi ditetapkan sebagai lipoprotein yang berkaitan dengan kejadian infark miokardial (Hokanson dan Austin, 1995). Trigliserida adalah salah satu bentuk lipida yang terbentuk dari diet lemak yang dikonsumsi sehari-hari. Trigliserida juga bisa dibentuk dari hasil metabolisme karbohidrat dan protein. Di dalam tubuh, trigliserida biasa disimpan dalam ujud sel lemak, namun sel lain seperti sel otot juga mampu menyimpan trigliserida sebagai cadangan energi.

Secara normal, trigliserida bermanfaat sebagai cadangan energi, namun pada konsentrasi yang berlebihan, trigliserida juga akan meningkatkan risiko terjadinya penyakit jantung. Pada kebanyakan manusia sehat, konsentrasi trigliserida dalam darah adalah 150 mg/ dl (Nakajima, dkk, 2001). Pada penelitian ini, konsentrasi rerata trigliserida pada kelompok II adalah 228,1 mg/dl. Kondisi tersebut jauh diatas batas trigliserida normal yaitu 150 mg/ dl. Kondisi ini seperti yang disampaikan oleh Hokanson dan Austin (1995), sangat beresiko terhadap kejadian penyakit jantung.

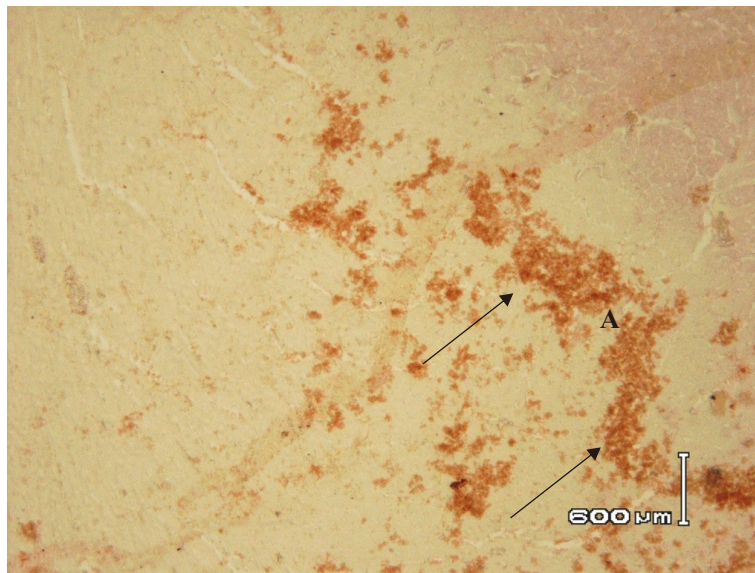
Histopatologi jantung tikus yang dipergunakan dalam penelitian ini, rerata masih menunjukkan gambaran normal (Gambar 2). Kondisi ini kemungkinan karena perlakuan selama dua bulan belum menyebabkan perubahan berarti pada organ yang bersangkutan, namun gambaran tersebut tidak menjamin sepenuhnya bahwa jantung tikus kelompok II yang diberi diet tinggi tidak bermasalah. Pernyataan ini dibuktikan dengan analisis imunohistokimia menggunakan metoda streptavidin biotin semua jantung tikus pada kelompok II positif TGF- $\beta$ 1 (Gambar 3 dan 4).



Gambar 2. Histopatologi jantung tikus menunjukkan gambaran normal struktur miokardium (A) (HE, 100x.)



Gambar 3 Hasil analisis imunohistokimia jantung tikus yang diberi diet lemak tinggi, menggunakan antibodi poliklonal anti TGF  $\beta$ -1-1, terlihat adanya reaksi positif (A) yang ditandai dengan adanya warna coklat pada lapisan miokardium (SAB, 100x.)



Gamabr 4 Hasil analisis imunohistokimia jantung tikus yang diberi diet lemak tinggi, menggunakan antibodi poliklonal anti TGF  $\beta$ -1 , terlihat adanya reaksi positif (A) yang ditandai dengan warna coklat pada lapisan miokardium (SAB, 500x.)

Peranan TGF  $\beta$ -1 dalam penyakit kardiovaskular masih sangat kontroversial. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa peran TGF  $\beta$ -1 dapat memproteksi atau bahkan menyebabkan progresi dari penyakit kardiovaskular tersebut. Hal ini disebabkan karena TGF  $\beta$ -1 merupakan salah satu sitokin imunomodulator yang aksi kerjanya berpengaruh terhadap banyak tipe sel yang menyusun dinding-dinding pembuluh darah jantung. *Transforming growth factor TGF  $\beta$ -1* dapat berperan dalam migrasi, diferensiasi, proliferasi maupun apoptosis sel (Seay dkk., 2005). Meskipun demikian, keberadaan TGF  $\beta$ -1 merupakan suatu petanda adanya aktivitas pada jaringan dimana TGF  $\beta$ -1 tersebut muncul. Seay dkk. (2005) melaporkan bahwa pada hewan percobaan, ekspresi TGF  $\beta$ -1 yang berlebihan diduga berfungsi untuk memperbaiki struktur pembuluh darah arteri yang rusak terutama pada sel sel dan struktur matriks baru di Tunika intima disertai transdiferensiasi dari *Vascular Smooth Muscle Cells* (VSMCs). Fungsi

protektif TGF  $\beta$ -1 selanjutnya juga mengaktifkan mekanisme apoptosis dari jaringan yang bersangkutan agar pertumbuhan sel di daerah tunika intima pembuluh darah tidak terjadi secara berlebihan. Pada penelitian ini, induksi diet lemak tinggi dalam satu bulan perlakuan di samping menyebabkan peningkatan konsisten dari konsentrasi trigliserida, efek peningkatan tersebut mungkin sudah mulai menyebabkan gangguan pada struktur intima pembuluh darah, memicu pertumbuhan plak atheroma pembuluh darah yang dimulai dari aktivitas tunika intima yang berlebihan. Pada kondisi tersebut TGF  $\beta$ -1 muncul untuk mencegah proliferasi dan migrasi lebih lanjut dari sel otot polos dan sel endothel, agar pembentukan plak atheroma dapat dicegah.

#### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Bagian Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, atas

pinjaman laboratorium untuk penelitian hewan coba dan analisis imunohistokimia, Bagian Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, untuk pemotretan jaringan jantung pada penelitian ini.

#### Daftar Pustaka

- Hokanson, J.E. and Austin, M.A. (1995) Plasma Triglyceride is a Risk Factor for Cardiovascular Disease Independent of High-density Lipoprotein Cholesterol level : A Meta-analysis of Population-based Prospective Studies. Division of Metabolism, Endocrinology and Nutrition, Department of Medicine, University of Washington, Seattle, USA. *Cardiovascular Risk* 3: 213-219.
- Karyadi, E. (2002) *Kiat Mengatasi Penyakit Diabetes, Hiperkolesterolemia dan Stroke*. PT. Gramedia, Jakarta. Hal 1-27.
- Nakajima, K., Hinman, J., Plaffinger, D., Edelstein, C. and Scanu, A.M. (2001) Changes in Plasma Triglyceride Levels Shift Lipoprotein (a) Density in Parallel With That of LDL Independently of Apolipoprotein (a) Size. *Arterio, Thrombo, Vasc Biol.* 21: 1238.
- Nicholson, A.C. and Hajjar, D.P. (1998) Herpesvirus in Atherosclerosis and Trombosis, Etiologic Agents or Ubiquitous Bystanders?. *J Arterio. Trombo. Vas. Biol.* 18: 339-348.
- Grainger, D.J. (2007) TGF  $\beta$ -1 and Atherosclerosis in Man. Department of Medicine, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom. *Cardiovas. Res.* 74: 213-222.
- Schoenstadt, A. (2011). Triglycerides. 10 September 2011 <http://cholesterol.emedtv.com/triglycerides/triglycerides.html>
- Seay, U., Sedding, D., Krick, S., Hecker, M., Seeger, W. and Eickelberg (2008) Transforming Growth Factor- $\beta$ -Dependent Growth Inhibition in Primary Vascular Smooth Muscle Cells Is p38-Dependent. *JPET.* 315: 1005-1002.