

ABSTRAK

Latar belakang: *Chronic limb-threatening ischemia* (CLTI) merupakan penyakit arteri oklusif kronis dengan tingkat amputasi dan kematian yang tinggi meskipun telah dilakukan revaskularisasi. Terapi berbasis sel menggunakan eksosom berpotensi mengobati penyakit kardiovaskular melalui peningkatan neovaskularisasi.

Metode: 40 mencit BALB/c dibagi menjadi empat kelompok intervensi: kelompok eksosom (n=10), sekretom (n=10), PBS (n=10), dan *sham-operated* (n=10). Tujuh tikus dari tiap kelompok (n=28) dinilai derajat nekrosis secara makroskopis maupun mikroskopis serta dilakukan pemeriksaan densitas kapiler dan diameter lumen arterioli untuk menilai neovaskularisasi. Tiga tikus dari tiap kelompok (n=12) dilakukan pemeriksaan profil mikroRNA menggunakan analisis *Nanostring* untuk menentukan kemungkinan proses biologis yang terlibat. Analisis *in silico* digunakan untuk mengidentifikasi mekanisme yang mungkin terjadi.

Hasil: 3 dari 7 mencit (43%) pada kelompok HLI+PBS mengalami autoamputasi, sedangkan kelompok HLI+eksosom dan HLI+ sekretom tidak ada yang mengalami autoamputasi. Densitas kapiler secara signifikan lebih tinggi pada kelompok HLI+eksosom dibandingkan kelompok HLI+PBS [1,28 (0,33–2,25) vs 0,25 (0,00–0,89), $p = 0,026$]. Lumen arterioli pada kelompok HLI+eksosom lebih tinggi dibandingkan kelompok HLI+PBS ($4,28 \pm 3,13$ vs $1,32 \pm 1,08$, $p = 0,033$), dan kelompok *sham-operated* ($4,28 \pm 3,13$ vs $1,23 \pm 0,50$, $p = 0,034$). Derajat nekrosis mikroskopis pada kelompok HLI+eksosom lebih rendah dibandingkan kelompok HLI+sekretom dan HLI+PBS ($3,71 \pm 1,6$ vs $4,67 \pm 2,58$ vs $6,86 \pm 3,39$ berturut-turut), namun tidak signifikan ($p = 0,86$ dan $0,193$). Kelompok HLI+eksosom memiliki derajat nekrosis makroskopis yang lebih rendah dibandingkan HLI+PBS [0,00 (0,00–1,00) vs 3,00 (0,00–4,00), $p = 0,005$]. Analisis *in silico* menunjukkan eksosom HUVECs memodulasi neovaskularisasi melalui beberapa mekanisme yaitu regulasi energi, jalur persinyalan PI3K/AKT dan TGF- β , sistem ubiquitin-proteasome, dan reseptor tirosin kinase.

Kesimpulan: Eksosom yang berasal dari HUVEC meningkatkan neovaskularisasi dan menurunkan derajat nekrosis dan pada model tikus iskemia tungkai belakang melalui beberapa proses biologis dan jalur persinyalan tertentu.

Kata kunci: Eksosom, neovaskularisasi, amputasi, iskemia tungkai belakang, *chronic limb-threatening ischemia*

ABSTRACT

Introduction: Chronic limb-threatening ischemia (CLTI) is a chronic occlusive arterial disease, with a high rate of amputation and mortality despite revascularization therapy. Cell-based therapy, such as exosome, offers a promising alternative treatment for cardiovascular diseases through increasing neovascularization.

Method: Forty BALB/c mice were divided into groups: exosome (n=10), secretome (n=10), PBS (n=10), and sham-operated (n=10). Seven mice from each group (n=28) were assessed for their capillary density and arteriole lumen diameter as parameters of neovascularization, and degree of necrosis was measured macroscopically and microscopically. Three mice from each group (n=12) underwent microRNA profiling using nanostring analysis to determine the possible biological processes involved. In silico analysis was used to identify the potential mechanisms.

Result: Three of 7 mice (43%) in HLI+PBS group showed autoamputation, while no amputation was found in HLI+exosome and HLI+secretome groups. The capillary density was significantly higher in HLI+exosome group compared to HLI+PBS group (1,28 [0,33–2,25] vs 0,25 [0,00–0,89], $p = 0,026$). The arteriole lumen of HLI+exosome group was higher than HLI+PBS ($4,28 \pm 3,13$ vs $1,32 \pm 1,08$, $p = 0,033$) and sham-operated group ($4,28 \pm 3,13$ vs $1,23 \pm 0,50$, $p = 0,034$). The degree of microscopic necrosis in HLI+exosome group was lower than HLI+secretome and HLI+PBS groups (3.71 ± 1.6 vs 4.67 ± 2.58 vs 6.86 ± 3.39 consecutively), but insignificant ($p = 0.86$ and 0.193). HLI+exosome had lower degree of macroscopic necrosis than HLI+PBS group [0.00 (0.00-1.00) vs 3.00 (0.00-4.00), $p = 0.005$]. In silico analysis showed HUVECs-derived exosomes potentially modulating neovascularization via several mechanisms, including energy regulation, PI3K/AKT and TGF- β signaling pathways, ubiquitin-proteasome system, and tyrosine kinases receptors.

Conclusion: HUVECs-derived exosomes improve neovascularization and decrease necrosis in a hindlimb ischemia mouse model potentially by modulating several possible mechanisms.

Keywords: *Exosome, neovascularization, amputation, hindlimb ischemia, chronic limb-threatening ischemia*