

## POTENSI IMUNOMICELLE POLIMERIK PLGA-PEG-MCOOH SPESIFIK VCAM-1 BERBASIS SENYAWA CAPSAICIN SEBAGAI MODALITAS MUTAKHIR DALAM PENATALAKSANAAN ATEROSKLEROSIS

I Made Yoga Prabawa<sup>1</sup>, Gede Febby Pratama Kusuma<sup>1</sup>,  
Tjokorda Istri Pramitasuri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email: [yogaprabawa.bali@gmail.com](mailto:yogaprabawa.bali@gmail.com)

### ABSTRAK

Penyakit Kardiovaskular (PKV) masih menjadi penyebab mortalitas terbesar. Pada tahun 2008, diperkirakan 17.3 juta jiwa meninggal akibat PKV, dan lebih dari 80% kematian akibat PKV berasal dari Negara berkembang. Aterosklerosis dilaporkan sebagai penyebab utama terjadinya PKV. Modalitas terapi terbaru untuk aterosklerosis dengan menggunakan agonis dari TRPV1 sudah ditemukan. Jing Feng Zhao (2013) melaporkan bahwa senyawa agonis TRPV1, yaitu Capsaicin, yang terkandung dalam *Capsicum spp*; rempah termasyhur di Indonesia. Waktu paruh Capsaicin yang singkat (24 jam) dan sifatnya yang tidak spesifik terhadap lesi aterosklerotik dapat diatasi dengan mengenkapsulasi Capsaicin ke dalam polimerik immunomicelle PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1, yang dapat meningkatkan waktu paruhnya hingga 28 hari. Aktivasi TRPV1 oleh Capsaicin akan mengaktifkan kompleks LXR $\alpha$ -RXR-LXRE yang mengakibatkan terjadinya peningkatan transporter ABCA1, ApoE, dan SOAT yang secara akumulatif akan meningkatkan plasma HDL dan menurunkan tingkat makrofag sel busa sebanyak empat kali (52,5%) dan delapan kali (70,13%). Hal tersebut juga mampu menekan jumlah NF-kB (81,37%) dan p65 (87,54%), sehingga meningkatkan I $\kappa$ B (72,57%). Penambahan MCOOH pada immunomicelle akan menghambat ambilan oxLDL sebanyak 88%. Modalitas terbaru ini dapat direkomendasikan karena memiliki efek kuratif dan kardio protektif dengan efikasi tinggi, hanya memerlukan sekali injeksi, dan efek samping lebih rendah jika dibandingkan dengan modalitas konvensional.

**Kata kunci:** Capsaicin, Immunomicelle, VCAM-1, Aterosklerosis.

### ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVDs) are still being major causes of mortality. In 2008, an estimated 17.3 million people died from CVDs, and over 80% of CVDs deaths take place in developing countries. Atherosclerosis was reported to be the leading cause of CVDs. A new treatment modality for atherosclerosis using agonist of TRPV1 has been found. Jing Feng Zhao (2013) reported that TRPV1 agonist compound, Capsaicin, contained in *Capsicum spp*; a well-known spice in Indonesia. The short half-life of Capsaicin (24 hours) and its unspecific properties to atherosclerotic lesions can be solved by encapsulating it into immunomicelle polymeric PLGA-PEG-MCOOH specific VCAM-1, that will increase its half-life until 28 days. TRPV1-induced activation by Capsaicin will activate LXR $\alpha$ -RXR-LXRE complex which leads to increase of ABCA1 transporter, ApoE, and SOAT that accumulatively will upregulate plasma HDL and downregulate macrophage foam cells levels by 4-fold (52,5%) and 8-fold (70,13%). It also can suppress amount of NF-kB (81,37%) and p65 (87,54%), thus upregulate I $\kappa$ B (72,57%). Addition of MCOOH on immunomicelle will inhibit oxLDL uptake by 88%. This novel modality may give recommendation due to its curative and cardio protective effect with high efficacy, only needs one-time injection, and less side effect if compared with conventional modalities.

**Keywords:** Capsaicin, Immunomicelle, VCAM-1, Atherosclerosis.

## 1. PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular adalah jenis penyakit yang menyerang jantung dan pembuluh darah. Hingga saat ini, penyakit kardiovaskular masih menjadi penyebab mortalitas tertinggi di seluruh dunia. Pada tahun 2008 diperkirakan 17,3 juta jiwa meninggal akibat penyakit kardiovaskular. Berdasarkan data WHO, lebih dari 80% penyakit kardiovaskular terjadi di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Di Indonesia sendiri, menurut Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKIRT) prevalensi penyakit jantung pada kelompok usia 15-24 tahun adalah 18,3 per 100.000 penduduk. Sedangkan pada kelompok usia 45-54 tahun dan usia 55 tahun ke atas mencapai 174,6 per 100.000 penduduk dan 461,9 per 100.000 penduduk. Dari berbagai etiologi yang ada, aterosklerosis merupakan penyebab tertinggi terjadinya penyakit kardiovaskular.<sup>1-4</sup>

Aterosklerosis adalah penyakit inflamasi yang bersifat progresif dan menyerang pembuluh darah arteri dengan karakteristik disfungsi endotel, inflamasi vaskular, penumpukan lemak, kolesterol, serta debris seluler pada tunika intima di dinding pembuluh darah.<sup>5-7</sup> Prevalensi dari aterosklerosis sendiri cukup bervariasi, mulai dari 17% pada populasi yang berusia kurang dari 20 tahun, hingga 85% pada populasi yang berusia lebih dari 50 tahun.<sup>8</sup>

Perkembangan aterosklerosis bermula ketika *low density lipoprotein* (LDL) terjebak di dalam arteri dan mengalami oksidasi oleh *reactive oxygen species* (ROS). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa LDL secara *in vivo* mampu

teroksidasi oleh radikal bebas seperti radikal superoksida, nitrat oksida, dan hidrogen peroksida yang terdapat didalam tubuh, sehingga menghasilkan oksida LDL (oxLDL).<sup>9</sup> oxLDL bersifat imunogen dan dapat dikenali oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* pada makrofag, sehingga menyebabkan makrofag teraktivasi dan dapat menginvasi lesi aterosklerotik untuk memfagosit oxLDL. Mekanisme ini menyebabkan terakumulasinya lipid di dalam makrofag dan memicu terbentuknya sel busa (*foam cells*). Sel busa kemudian mengekspresikan sitokin dan faktor pertumbuhan seperti IL-1 dan TNF- $\alpha$  yang akan menarik makrofag lainnya ke tempat lesi sehingga meningkatkan progresivitas pembentukan plak. Lambat laun plak akan berkembang menjadi plak yang matur atau disebut ateroma.

Kestabilan ateroma dijaga oleh kap fibrosa (*fibrous cap*) yang merupakan hasil dari perubahan fenotip *smooth muscle cell* (SMC). Kap fibrosa berperan dalam menurunkan tegangan stres sirkumferensial dan mencegah kontak antara inti nekrosis dengan darah. Namun, makrofag pada plak aterosklerosis juga menyekresikan enzim proteolitik yaitu *matrix metalloproteinases* (MMPs) maupun *nitric oxide* (NO) yang menghambat proliferasi sel otot polos, mendegradasi berbagai protein dalam spektrum luas seperti: proteoglikan, kolagen tipe IV, fibronektin, laminin, dan protein matriks dari kap, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara proses inflamasi dan reparasi yang

berakibat pada penipisan dinding kap fibrosa.

Dalam keadaan kronis, penipisan kap fibrosa meningkatkan risiko terjadinya ruptur-oklusi trombotik arteri, aneurisma, dan emboli. Oleh karena itu, aterosklerosis dapat menyebabkan terjadinya infark miokard dan iskemia di berbagai bagian tubuh yang merupakan kegawatdaruratan di bidang kardiovaskuler.<sup>3,10-12</sup>

Respon inflamasi yang diperankan oleh makrofag derivat monosit dan limfosit T memiliki andil besar dalam menginisiasi aterosklerosis.<sup>13</sup> Monosit yang mencapai tunika intima akan mengalami perubahan yang diakibatkan oleh *macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF) dan faktor-faktor diferensiasi lainnya menjadi 2 jenis makrofag mayor, yaitu M1 dan M2 yang memiliki peranan antagonis dalam proses inflamasi. M1 bersifat pro inflamasi dengan menimbulkan respon peradangan akibat lipopolisakarida, sedangkan M2 bersifat anti inflamasi yang peranannya diperantarai oleh keberadaan IL-4, IL-13, IL-1, atau vitamin D3 dan secara umum menghasilkan sejumlah besar IL-10 dan reseptor *scavenger*, *mannose*, serta *arginase*. Menurut sebuah studi *in vitro*, dimana pada lesi aterosklerosis secara umum jumlah M1 lebih banyak dibandingkan dengan M2.<sup>14</sup>

Makrofag juga berkontribusi terhadap pembentukan plak, penipisan kap fibrosa, dan nekrosis fokal dimana dalam hal ini mampu mensekresikan *macrophage-derived matrix metalloproteinases* (MMPs) yang menyebabkan terjadinya degradasi jaringan ikat kolagen pada daerah tunika intima serta mengurangi jumlah *intimal myofibroblast-like* SMCs yang berujung

pada penipisan kap fibrosa.<sup>15</sup> Jika hal ini terus berlangsung, dalam keadaan kronis dapat memicu terjadinya ruptur pada plak sehingga berimplikasi pada timbulnya trombosis. Lokasi trombosis berkorelasi dengan efek yang ditimbulkan.

Penatalaksanaan aterosklerosis saat ini sebagian besar terkonsentrasi pada usaha untuk menurunkan kadar lipid dalam plasma yang dikombinasikan dengan terapi anti-inflamasi. Metode ini dapat memperlambat progresivitas aterosklerosis, namun efikasi maksimal yang dapat dicapai dari metode ini hanya 30% - 40%.<sup>16-20</sup> Beberapa metode terapi lainnya yang sudah diterapkan seperti penggunaan statin, anti-platelet, antikoagulasi,  $\beta$ -Blocker, dan ACE-inhibitor, juga memiliki kekurangannya masing-masing yang berujung pada penurunan angka kesembuhan.<sup>21-26</sup> Terapi bedah juga telah dilakukan, yaitu dengan metode angioplasti arteri koroner.<sup>27</sup> Namun, prosedur kerja yang sangat berisiko dan buruknya komplikasi pasca operasi menyebabkan metode ini tidak sepenuhnya aman dalam menangani kasus aterosklerosis.<sup>27,28</sup>

Merujuk pada belum tersedianya metode terapi yang efektif dalam menangani aterosklerosis, maka diperlukan suatu metode terapi baru yang memiliki tingkat keberhasilan tinggi dengan risiko komplikasi seminimal mungkin dalam menangani aterosklerosis. Suatu studi terbaru menemukan bahwa *Transient Receptor Potential Vanilloid type 1* (TRPV1) memiliki andil besar dalam kejadian aterosklerosis.<sup>29</sup> Aktivasi dari TRPV1 secara umum dapat mempengaruhi metabolisme lipid dan respon inflamasi

sel.<sup>30</sup> Hasil studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa aktivasi TRPV1 secara signifikan dapat menurunkan akumulasi dari lipid dan lesi aterosklerosis pada pembuluh darah melalui jalur *reverse cholesterol transport* (RCT).<sup>31</sup> TRPV1 dapat diaktivasi oleh senyawa agonis seperti *Capsaicin* yang melimpah pada tanaman cabai (*Capsicum spp.*) dan di Indonesia umum digunakan sebagai bahan rempah-rempah dalam masakan.<sup>32,33</sup> *Capsaicin* juga mampu bertaut pada protein I $\kappa$ B yang berfungsi dalam menghambat translokasi NF- $\kappa$ B ke dalam nukleus sehingga dapat menurunkan respon inflamasi dan molekul adhesi.<sup>34,35</sup>

*Capsaicin* (*trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide*) adalah senyawa alkaloid yang bersifat lipofilik, tidak berwarna, dan tidak berbau, dengan rumus molekul C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>. *Capsaicin* menyusun 70% senyawa *Capsaicinoid* yang terkandung dalam cabai, yang merupakan penyebab timbulnya rasa pedas atau panas pada cabai.<sup>36</sup> Suatu studi menemukan bahwa dalam suatu campuran cabai yang terdiri atas 55% cabai rawit, air, gula, garam, asam asetat, dan *xanthan* ternyata mengandung senyawa *Capsaicin* sebanyak 33 miligram per 30 gram campuran cabai.<sup>37</sup> *Capsaicin* akan diserap sebanyak 95% setelah pemberian per oral dan mencapai konsentrasi tertinggi dalam darah selama satu jam setelah administrasi.<sup>36</sup>

Kelemahan dari penggunaan senyawa *Capsaicin* secara langsung yaitu memiliki waktu paruh yang singkat (24 jam), tidak bersifat spesifik pada lesi aterosklerosis, dan tidak mampu menghambat influx oxLDL ke dalam

makrofag *foam cell*.<sup>33</sup> Oleh karena itu diperlukannya suatu pembawa yang dapat menghantarkan senyawa *Capsaicin* tersebut langsung ke endotel yang mengalami lesi dan mampu mengurangi influks oxLDL sehingga mengurangi progresivitas aterosklerosis.

Penelitian terkini menunjukkan bahwa endotel yang mengalami inflamasi pada aterosklerosis mengekspresikan berbagai molekul adhesi seperti VCAM-1 yang tidak terdapat pada pembuluh darah lainnya yang tidak mengalami inflamasi.<sup>38</sup> Tidak hanya itu, makrofag teraktivasi juga mengekspresikan reseptor *scavenger* SR-A1 dan CD36 yang berperan dalam influks oxLDL di tunika intima.<sup>39,40</sup> Oleh karena itu, antigen VCAM-1 pada endotel serta reseptor SR-A1 dan CD36 pada makrofag berpotensi sebagai target terapi spesifik dalam tatalaksana aterosklerosis. Agen atau pembawa yang dapat memanfaatkan potensi ini adalah imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1.<sup>41</sup>

Imunomicelle merupakan suatu micelle polimerik monolayer yang tersusun atas dua bagian, yaitu bagian inti semi-solid yang bersifat hidrofobik dan segmen pelindung yang bersifat hidrofilik pada bagian luarnya, sehingga membentuk arsitektur *core-shell*.<sup>42</sup> Karakteristik bentuk tersebut menyebabkan micelle polimerik mampu berperan sebagai pembawa zat-zat bioaktif (*bioactive micelle*), seperti protein, asam nukleat, dan obat-obatan yang bersifat hidrofobik. Bahkan micelle dapat dimodifikasi dengan tambahan ligan sehingga dapat dikirim menuju target sel yang spesifik.<sup>43</sup> PLGA dan PEG merupakan komposisi utama dimana berperan dalam

*endosomal escape*, menjaga stabilitas *Capsaicin* sebelum mencapai sel target, dan melindungi dari fagositosis oleh sistem RES dalam plasma, sedangkan gugus karboksil MCOOH mampu mengalami translokasi menuju reseptor SR-A1 dan CD36 dalam menghambat influx oxLDL.<sup>41</sup> Penambahan antibodi VCAM-1 pada segmen distal dari polimerik juga berfungsi untuk mengenali pembuluh darah yang mengalami lesi sehingga modalitas yang diberikan dapat beredar secara spesifik pada aterosklerosis.<sup>41</sup> Secara teoritis imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 memiliki efektivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mengeradikasi makrofag teraktivasi sehingga dapat memutuskan rantai pembentukan plak aterosklerosis. Kombinasi ini memiliki potensi tinggi dalam penatalaksanaan aterosklerosis dan nantinya diharapkan dapat meminimalisir kasus kegawatdaruratan kardiovaskular.

Adapun permasalahan yang dikaji pada karya tulis ini yang meliputi mekanisme konstruksi, sintesis, administrasi, mekanisme kerja, efek pasca terapi, dan analisis manfaat dari imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis senyawa *Capsaicin* akan dijelaskan kemudian.

## 2. PEMBAHASAN

### 2.1 Mekanisme Konstruksi, Sintesis, dan Administrasi Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH Spesifik VCAM-1 Berbasis Senyawa *Capsaicin*

#### 2.1.1 Tahap Preparasi Nanopartikel Micelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH

Sebagai *amphiphilic block copolymer*, Monomethoxypolyethylene glycol-poly lactide dilarutkan dalam etanol dengan suhu 60°C dan ditambahkan molekul PLGA.<sup>47</sup> Kemudian dilakukan sintesis PLGA-*b*-PEG *Co-polymer* dengan gugus karboksil terminal, dalam hal ini menggunakan MCOOH.<sup>46,47</sup>

Dari proses preparasi ini, hasil yang didapat adalah nanopartikel micelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH yang dienkapsulasi dengan senyawa hidrofobik yang akan dihantarkan ke target menggunakan metode nanopresipitasi.<sup>44-47</sup>

#### 2.1.2 Tahap Sintesis Senyawa *Capsaicin* dari *Capsicum spp*

Proses sintesis *in vitro* diawali dengan kultur jaringan plasenta *Capsicum spp*. Bagian yang akan disuspensi adalah plasenta karena akumulasi *Capsaicin* pada plasenta *Capsicum spp* sepuluh kali lebih banyak, yaitu 63,96 mg/g DW dibandingkan biji yang hanya 5,06 mg/g DW.<sup>48-50</sup> Setelah dibersihkan dengan air, plasenta *Capsicum spp* dibersihkan dengan Labolene 2% selama 10 menit dan dibilas dengan akuades, kemudian disterilkan dengan HgCl<sub>2</sub> 0,1% selama 5 menit dan kembali dibilas dengan akuades.<sup>48,49</sup> Hasil yang didapat kemudian dikultur dan disuspensi.

Dari proses kultur jaringan dan *cell suspension* ini, didapat sel-sel yang diambil dengan cara filtrasi, kemudian dikeringkan dengan suhu 60°C hingga didapat massa sel yang konstan.<sup>50</sup> Sel-sel ini selanjutnya diekstraksi dengan 10 ml methanol, disaring dengan membran Millipore FH 0,5 µm, dan terakhir dipisahkan dengan *Hewlett-Packard chromatograph* sehingga didapatkan 1.345 µg *Capsaicin* per 1 gram

plasenta *Capsicum spp.* pada hari ke-14.<sup>49,51</sup>

### 2.1.3 Enkapsulasi Senyawa *Capsaicin* ke dalam Nanopartikel Micelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH serta Konjugasi Antibodi VCAM-1

Metode yang digunakan untuk mengenkapsulasi *Capsaicin* ke dalam Nanopartikel Micelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH adalah nanopresipitasi dengan prinsip *direct dissolution*.<sup>36,37</sup> Inti dari metode *direct dissolution* adalah ekuilibriasi substrat dan imunomicelle polimerik dalam bentuk larutan.<sup>52</sup> PLGA-PEG-MCOOH (10 mg/ml) dan *Capsaicin* yang tergolong senyawa hidrofobik dilarutkan dalam pelarut polar *acetonitrile* sehingga didapat konsentrasi polimer 3,3 mg/ml. Nanopartikel kemudian diaduk selama satu jam, disentrifugasi selama 15 menit, dan dicuci dengan air yang telah di-deionisasi.<sup>36,37</sup>

Pemasangan Micelle Polimerik dengan antibodi monoklonal VCAM-1 yang diperoleh dari imunisasi tikus terhadap antigen VCAM-1 mengikuti prosedur yang dipaparkan oleh Gosk.<sup>53</sup> Cyanur-PEG-PE dapat digunakan sebagai pengait antibodi monoklonal VCAM-1. Antibodi monoklonal *Rat anti-mouse VCAM-1 (M/K-271)* digunakan sebagai *homing devices*. Pemasangan dilakukan dengan rasio 1:1000 untuk protein: rasio molar lipid.<sup>54</sup> Antibodi monoklonal *rat anti-mouse VCAM-1* tersebut kemudian dimasukkan dalam Micelle Polimerik pada borate buffer pH 8.8 dan diinkubasi dalam suhu ruangan selama 16 jam.<sup>53,54</sup>

### 2.1.4 Administrasi Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis Senyawa *Capsaicin*

Administrasi secara intravena dipilih mengingat bahwa sasaran dari modalitas terapi tersebut adalah lesi aterosklerosis yang bermanifestasi pada endotel pembuluh darah. Metode administrasi intra subkutan, intra muskular, dan intra tumoral tidak digunakan karena memicu terjadinya respon pendarahan pada xenograft model tikus.<sup>55</sup>

### **2.2 Mekanisme Kerja Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH Spesifik VCAM-1 berbasis Senyawa *Capsaicin***

Setelah diadministrasikan secara IV, bagian antibodi VCAM-1 dari imunomicelle polimerik tersebut akan berikatan dengan reseptor VCAM-1 yang terdapat pada endotel yang mengalami lesi, hal ini penting dikarenakan hanya pembuluh darah yang mengalami lesi mengekspresikan VCAM-1 (85-92%).<sup>38</sup> Pengikatan ini menginduksi pengorganisasian kembali filamen aktin serta peningkatan  $Ca^{2+}$  intrasel sehingga terjadi endositosis yang diperantarai *clathrin*.<sup>56</sup>

Di dalam endotel, antibodi spesifik VCAM-1 pada imunomicelle polimerik akan didegradasi oleh enzim protease dan menyisakan fragmen micelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH dengan basis *Capsaicin*. Selanjutnya micelle polimerik yang telah berada pada tunika intima akan menuju target spesifik pada makrofag *foam cell* yang mengekspresikan SR-A1 maupun CD36.<sup>57,58</sup> Internalisasi modalitas tersebut pada makrofag tidak melibatkan mediasi dari *clathrin* dan setelahnya dilanjutkan

dengan proses deprotonisasi micelle polimerik akibat fagositasi PLGA-PEG-MCOOH oleh endosom pada pH 5,5.<sup>58</sup> Seiring dengan menurunnya pH endosom, muatan polimer PLGA akan berubah dari negatif menjadi positif (anionik menjadi kationik) yang memungkinkan terjadinya interaksi antara PLGA dan membran endosom.<sup>59,60</sup>

Interaksi ini menyebabkan terjadinya instabilitas lokal pada membran endosom sehingga memungkinkan PLGA dalam merusak membran endosomal sehingga terjadi pelepasan gugus MCOOH beserta kompartemen didalamnya yakni senyawa *Capsaicin*.<sup>59,60</sup> Gugus karboksil MCOOH akan mengalami translokasi menuju SR-A (terutama SR-A1) dan CD36 sedangkan senyawa *Capsaicin* akan menuju reseptor TRPV1 dan protein IκB untuk menjalankan aksinya.

#### 2.2.1 Mekanisme Kerja Gugus Karboksil MCOOH dalam Menghambat Ambilan oxLDL pada Makrofag *Foam Cell*

Makromolekul amphifilik *Carboxy-terminated* dengan gugus karboksil MCOOH pada micelle polimerik tersebut akan mampu berikatan dengan SR-A1 maupun CD36 dengan ikatan elektrostatik pada muatan positif di residu reseptornya.<sup>61</sup> Gugus MCOOH akan berikatan secara spesifik pada residu kationik Lys60, Lys63 and Lys66 pada SR-A1 sedangkan pada CD36 akan bertautan dengan asam amino pada residu 155-183 (Cys243- Cys311, Cys272-Cys333, dan Cys313-Cys322) di bagian *N-link Glycosylation* yang disinyalir sebagai tempat pertautan spesifik oxLDL.<sup>62</sup>

Pertautan pada daerah spesifik pada SR-A1 dan CD36 secara nyata

berfungsi untuk menghambat secara kompetitif tempat pertautan oxLDL sehingga berujung terhadap penurunan ambilan oxLDL pada tunika intima kedalam makrofag.<sup>58,62</sup>

#### 2.2.2 Mekanisme *Capsaicin* dalam Aktivasi TRPV1 terhadap Penurunan Makrofag *Foam Cell* melalui Peningkatan HDL

*Capsaicin* mampu berikatan dengan *transient receptor potential vanilloid type 1* (TRPV1) yang dikenal sebagai reseptor vaniloid.<sup>63</sup> TRPV1 umumnya banyak terekspresi pada neuron sensorisoseptif primer dan dapat diaktivasi dengan panas, proton, molekul lipid endogen, dan stimulasi oksidatif serta beberapa agonis eksogen seperti *Capsaicin* yang melimpah keberadaannya ditanaman cabai.<sup>32-34</sup> Setelah TRPV1 teraktivasi melalui pertautan *Capsaicin* pada domain N-terminal melalui residu hidrofobik TM2 dan TM3, maka akan terjadi influx  $Ca^{2+}$  intraseluler dari retikulum endoplasma yang berujung terhadap aktivasi gen *Liver X Receptor* (LXR).<sup>64-67</sup>

LXR merupakan faktor transkripsi reseptor nuklear yang aktif dalam mentranskripsi gen spesifik setelah terjadi pertautan dengan agonis LXR seperti *evodiamine*, *Capsaicin*, maupun *oksisterol*.<sup>64,66</sup> Peran LXR sangatlah vital dalam meregulasi kolesterol, asam lemak, serta homeostasis glukosa. LXR terdapat 2 jenis isoform diantaranya LXR $\alpha$  dan LXR $\beta$ .<sup>68,69</sup> LXR $\beta$  banyak terekspresi secara luas pada sel manusia dan terletak pada kromosom 19q13.<sup>68</sup>

Berbeda halnya dengan LXR $\beta$ , LXR $\alpha$  terdapat pada kromosom 11p11

serta hanya teresekpresi pada usus, hati, dan makrofag yang merespon timbulnya akumulasi dari lemak.<sup>69</sup> LXR $\alpha$  pada makrofag yang teraktivasi akan mengalami translokasi untuk membentuk heterodimer dengan *retinoid X receptor* (RXR) pada nukleus dan selanjutnya kompleks LXR $\alpha$ -RXR akan bertautan dengan *LXR response element* (LXRE).<sup>70</sup> Pertautan kompleks tersebut secara aktif akan memicu aktivasi 3 gen dalam meregulasi kolesterol.<sup>71-75</sup> Pertama, aktivasi kompleks LXR $\alpha$ -RXR-LXRE berperan dalam menginduksi ekspresi transporter *ATP binding cassette* (ABC).<sup>71,72</sup> ABCA1 merupakan suatu protein regulator efluks kolesterol (CERP) pada makrofag dan dikode pada kromosom 9. Peran kedua adalah aktivasi dari kompleks LXR $\alpha$ -RXR-LXRE yang dapat menginduksi pembentukan protein apolipoprotein E (ApoE).<sup>72,73</sup> ApoE pada manusia mengandung 299 asam amino dan dengan berat molekul 34,1 kDa serta ApoE dalam makrofag berpotensi dalam sebagai akseptor kolesterol melalui proses *ABCA1-dependent*.<sup>73,74</sup>

Peran terakhir dari aktivasi kompleks tersebut adalah menginduksi sintesis dari asam lemak yang merupakan substrat penting dalam pembentukan SOAT pada reaksi esterifikasi kolesterol dari asam lemak bebas (ALB) dengan mengaktivasi *sterol regulatory element-binding protein-1c gene* (SREBP-1c).<sup>76,77</sup> Timbulnya ABCA1 dan SOAT merupakan hal yang relevan serta berperan dalam menurunkan kolesterol bebas dan melindungi sel makrofag dari efek sitotoksik.<sup>77</sup>

Droplet asam lemak pada makrofag *foam cell* kemudian akan mengalami

translokasi kedalam ekstraseluler membentuk apoA-1 yang berujung terhadap pembentukan *high density lipoprotein* (HDL) melalui mekanisme *reverse cholesterol transport* (RCT).<sup>77,78</sup> Mekanismenya diawali dengan efluks kolesterol melalui protein ABCA1 akan memasuki plasma dan kemudian berikatan dengan pre- $\beta$ 1 HDL, suatu HDL plasma dengan berat molekul 60-70 kDa, dan memiliki diameter 5-6 nm dengan memiliki gugus protein apoA-1 yang sebelumnya telah terbentuk melalui SOAT.<sup>77-79</sup> pre- $\beta$ 1 HDL yang telah bertaut dengan kolesterol akan bertautan pada protein apoE yang telah terbentuk sebelumnya dan membentuk *nascent HDL*.<sup>78,80,81</sup>

Pada tahap tersebut, pre- $\beta$ 1 HDL telah merubah konformasinya menjadi HDL cakram (*discoidal HDL*) dengan penambahan lecithin dan fosfat oleh phospholipid transfer protein (PTLP) di plasma, sehingga berujung terhadap pembentukan HDL paling awal yang disebut *nascent HDL*.<sup>80,81</sup> Keberadaan *nascent HDL* akan menarik enzim *lecithin-cholesterol acyltransferase* (LCAT) pada residu 99-186 di region pusat apoA-1 sehingga terjadi perpindahan ester kolesterol dan membentuk HDL<sub>3</sub> yang kini berbentuk lebih sferis (*spherical shape HDL*) dibandingkan dengan *nascent HDL*. Suatu fakta yang menarik menyebutkan bahwa HDL<sub>3</sub> yang telah terbentuk akan menuju pada *scavenger reseptor* B1 (SR-B1) pada makrofag *foam cell* untuk menarik kolesterol atau lemak lebih banyak sehingga menurunkan jumlah *foam cell*.<sup>82-84</sup>

Hal yang sama juga terjadi pada HDL<sub>3</sub> yang telah bertaut dengan SR-B1,



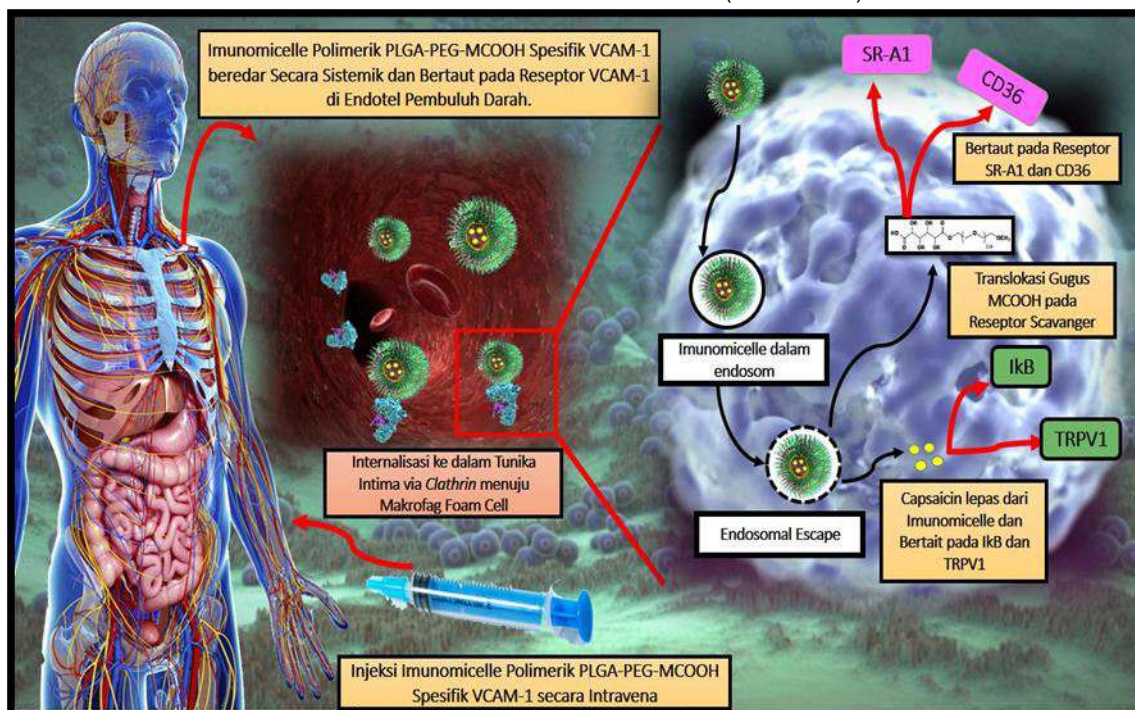
enzim LCAT akan membantu meningkatkan memindahkan ester kolesterol dan merubah HDL<sub>3</sub> menjadi HDL<sub>2</sub>.<sup>81,84</sup> Selanjutnya HDL<sub>2</sub> dalam plasma akan menuju hati dan akan mengeliminasi HDL<sub>2</sub> dalam bentuk feces melalui jalur empedu.

Hal ini secara jelas menguntungkan dimana aktivasi TRPV1 oleh *Capsaicin* berujung terhadap reduksi makrofag *foam cell* dengan meningkatkan kadar HDL dalam plasma.

### 2.2.3 Mekanisme *Capsaicin* dalam Inhibisi NF-κB terhadap Penurunan Ekspresi VCAM-1, ICAM-1, dan ELAM-1 sebagai Ateroprotektif

Terkait dengan aterosklerosis, NF-κB diaktivasi oleh oxLDL yang berujung terhadap proses inflamasi dimana terjadi pertautan *nuclear factor* (NF) dengan protein *inhibitory kappa B* (IκB) pada sitoplasma dan mengalami translokasi menuju nukleus.<sup>85-87</sup>

Studi yang dilakukan oleh Oyagbemi A *et al* menyebutkan senyawa *Capsaicin* ternyata mampu menghambat pertumbuhan sel kanker dengan memediasi inhibisi translokasi NF-κB. Bukti sinergis juga diperlihatkan oleh Mourad Z *et al* bahwa dengan memediasi inhibisi NF-κB maka pembentukan molekul adhesi VCAM-1, ICAM-1, dan ELAM-1 dapat diminimalisasi.<sup>88</sup> Mediasi pertautan *Capsaicin* dengan protein IκB berlangsung pada residu serin 32 dan 36.<sup>34,35</sup> Proses fosforilasi oleh pH rendah dalam sitoplasma makrofag *foam cell* (pH 5,5) melibatkan proses metilisasi dengan mengirimkan gugus hidroksil fenolik pada residu tersebut.<sup>34,35</sup> Hal tersebut penting dikarenakan dengan bertautan pada residu tersebut, proses ubiquinasi oleh proteosom tidak dapat terjadi, dengan demikian NF-κB tidak mengalami translokasi ke dalam nukleus (**Gambar 1**).<sup>34,35,89</sup>



**Gambar 1.** Mekanisme Administrasi, Distribusi, Internalisasi, dan Mekanisme kerja Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH Spesifik VCAM-1 berbasis Senyawa *Capsaicin*

## 2.3 Efek Pasca Terapi Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH Spesifik VCAM-1 berbasis Senyawa *Capsaicin*

### 2.3.1 Efek Gugus Karboksil MCOOH dalam Inhibisi Uptake OxLDL serta Reseptor SR-A1 dan CD36

Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Evangelia C. *et al* didapatkan bahwa nanopartikel dengan gugus karboksil MCOOH menghambat ambilan oxLDL sebanyak 75% dibandingkan dengan PCOOH yang hanya 34% ( $p < 0,05$ ) (**Gambar 2**).<sup>61</sup>

Kelebihan dari gugus karboksil MCOOH yakni mampu bertaut dengan ke-2 reseptor *scavenger* lebih baik dibandingkan dengan makromolekul lain seperti PEG-COOH dan PCOOH, yang hanya bertaut pada salah satu dari 2 reseptor *scavenger* telah dilaporkan sebelumnya.<sup>61</sup> Hambatan pada kedua reseptor meningkatkan daya hambat penyerapan oxLDL yang mencapai 86% oleh MCOOH ( $p < 0,05$ ).<sup>61</sup> Studi lain dari Nicole I. *et al* juga mendukung bahwa menghambat kedua reseptor terkait proses pengambilan oxLDL mampu menurunkan penyerapan oxLDL mencapai 88%.<sup>90</sup>

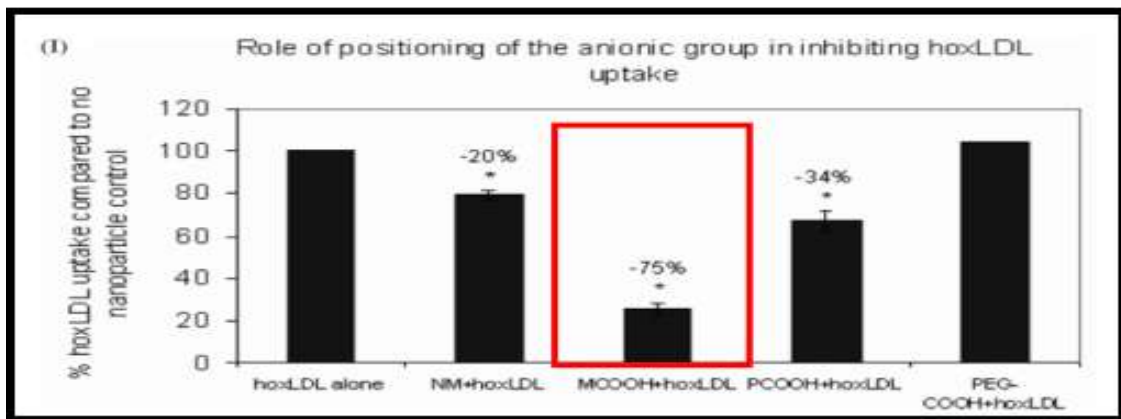
### 2.3.2 Efek *Capsaicin* terhadap Aktivasi TRPV1 dalam Meningkatkan Efluks Kolesterol, Triglisierida, apoA-1, dan Kadar HDL dalam Plasma

Pada penelitian oleh Jin-Feng Zhao *et al* dari *Department of Physiology, National Yang-Ming University, Taiwan* dengan menggunakan media kultur sel *Bone-marrow Derived Macrophage* (BMDM) yang diinkubasikan dengan agonis TRPV1 seperti

*evodiamine* (0,5 $\mu$ M) dan *Capsaicin* (10  $\mu$ M) serta penambahan antagonis TRPV1 seperti *capzasepine* (10  $\mu$ M) yang disertai dengan induksi oxLDL (50  $\mu$ g/mL) menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan. Induksi dari *evodiamine* mampu menurunkan jumlah kolesterol didalam makrofag *foam cell* sebesar 3-fold (37,5%) dan 7-fold (58,33%) masing-masing pasca terpapar hanya oxLDL dan oxLDL beserta *capzasepine*.<sup>29</sup>

Hasil serupa juga ditunjukkan oleh *Capsaicin* namun memiliki efek yang lebih kuat jika dibandingkan dengan *evodiamine*. *Capsaicin* mampu menurunkan kolesterol sebesar 4-fold (52,5%) dan 8-fold (70,13%) pasca induksi oxLDL saja atau oxLDL dan *capzasepine* (\*  $p < 0,05$  dibandingkan dengan oxLDL saja ; #  $p < 0,05$  dibandingkan oxLDL dan *capzasepine*) (**Gambar 3**). Pada penelitian yang sama juga menunjukkan penurunan jumlah triglisierida pada makrofag *foam cell* yang sama antara *evodiamine* dan *Capsaicin* sebesar 36,36% setelah terpapar oxLDL atau 63,16% setelah terpapar oxLDL dan *capzasepine*.<sup>29</sup>

Penurunan jumlah kolesterol dan triglisierida dalam makrofag *foam cell* memiliki arti positif dalam peningkatan jumlah apoA-1 dan HDL dalam plasma. Seperti yang telah dipaparkan sebelumnya bahwa *Capsaicin* mampu mereduksi jumlah *foam cell* dengan mengubah kolesterol beserta triglisierida menjadi HDL dengan memediasi jalur RCT. Bukti mendukung didapatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Shing-Jong Lin *et al* yang menunjukkan hasil yang serupa.



**Gambar 2.** Peran dari Gugus Karboksil pada Nanopartikel dalam Menghambat Uptake oxLDL

Suatu uji Dil-OxLDL Binding Assay dilakukan melalui inkubasi sel kultur BMDM dengan evodiamine (125 nM, 250 nM, dan 500 nM) atau *Capsaicin* (2,5  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, dan 10  $\mu$ M) selama 12 jam dan ditambahkan larutan NBD-cholesterol 1  $\mu$ g/mL pada suhu 60 C dalam waktu 4 jam. Pada hasil didapatkan peningkatan kadar HDL maksimal terdapat pada kadar konsentrasi evodiamine 500 nM (57,23%) dan pada *Capsaicin* lebih tinggi pada konsentrasi 10  $\mu$ M (60,62%) (**Gambar 4**).<sup>30,31</sup>

Peningkatan HDL berbanding lurus dengan efluks apoA-1 sebagai promotor terbentuknya HDL. Pemberian agonis TRPV1 seperti *evodiamine* dan *Capsaicin* pada konsentrasi yang sama secara in vitro pada kultur sel BMDM terbukti meningkatkan jumlah apoA-1.<sup>31</sup> Pada penelitian tersebut didapatkan hasil yang sinergis terhadap peningkatan konsentrasi evodiamine paling tinggi pada 500 nM sedangkan *Capsaicin* pada konsentrasi 10  $\mu$ M.

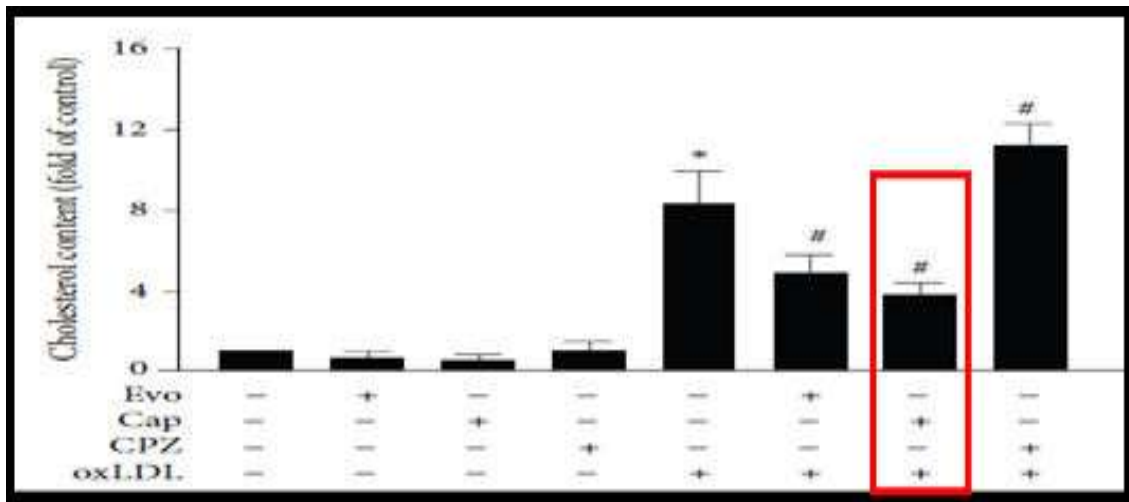
### 2.3.3 Efek *Capsaicin* terhadap Peningkatan Ekspresi Protein ABCA1

Penelitian in vivo oleh Liqun M. *et al* dari *Chongqing Institute of Hypertension*,

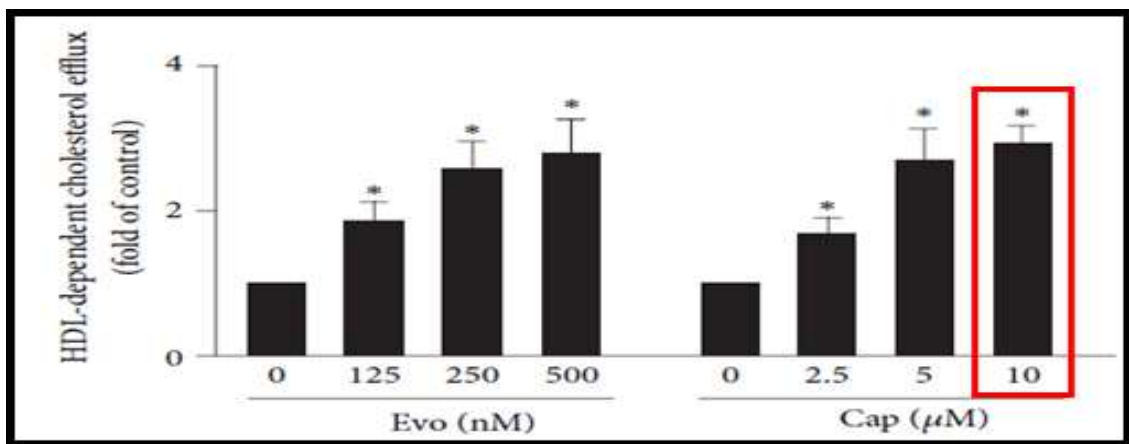
*Republic of China* pada tikus C57Bl/6J memberikan bukti relevan bahwa induksi *Capsaicin* dengan konsentrasi 1  $\mu$ mol/L selama 24 jam mampu meningkatkan ekspresi protein ABCA1 dibandingkan dengan kontrol. Pada studinya dijelaskan bahwa aktivasi TRPV1 secara statistik meningkatkan ekspresi ABCA1 dari  $1,00 \pm 0,06$  menjadi  $2,18 \pm 0,20$  ( $p < 0,05$ ) (**Gambar 5**).<sup>91</sup>

Hal serupa didukung pula pada pemeriksaan dengan pewarnaan *Oil Red O* yang secara konsisten mendukung timbulnya transporter ABCA1 di makrofag foam cell tikus C57Bl/6J pasca aktivasi TRPV1.

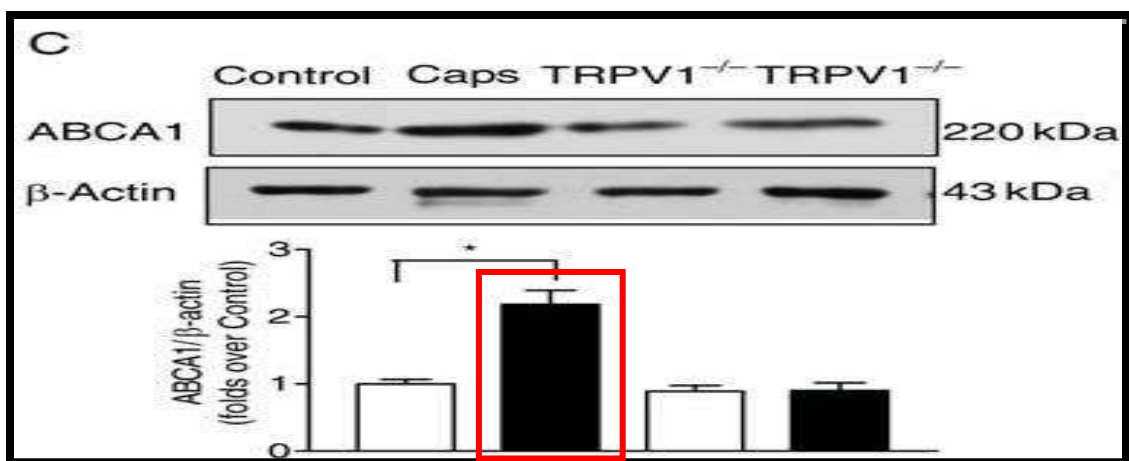
Hasil studi serupa secara konsisten juga didapatkan oleh Martin Tepel *et al* dari *Med. Klinik Nephrologie, Charite Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany* dimana pemberian *Capsaicin* dengan berbagai konsentrasi (2,5  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, dan 10  $\mu$ M) pada tikus C57Bl/6J secara in vivo mampu meningkatkan 3-fold protein transporter ABCA1 secara signifikan dan peningkatan maksimal terdapat pada dosis 10  $\mu$ M.<sup>92</sup>



**Gambar 3.** Efek *Evodiamine* dan *Capsaicin* dalam Menurunkan Jumlah Kolesterol dalam Makrofag *Foam Cell*



**Gambar 4.** Agonis TRPV1 meningkatkan Jumlah HDL dari Makrofag *Foam Cell*



**Gambar 5.** Ekspresi Transporter ABCA1 pasca Induksi *Capsaicin* pada Makrofag *Foam Cell* Tikus C57Bl/6J

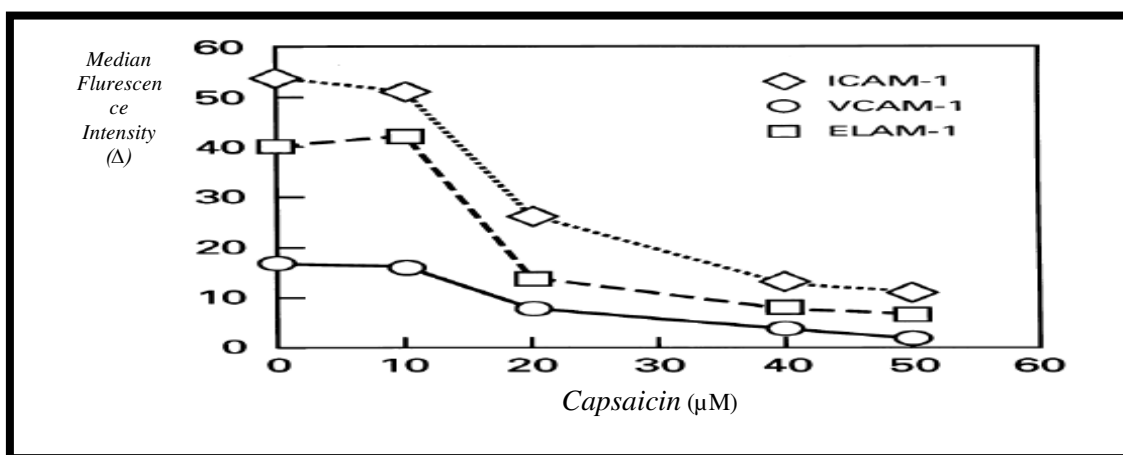
Keuntungan pemberian *Capsaicin* memiliki efek sinergis dengan gugus karboksil MCOOH pada imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH mengingat tidak terjadi peningkatan ekspresi reseptor SR-A dan CD36 sehingga tidak meningkatkan influx oxLDL pada makrofag.

### 2.3.4 Efek Senyawa *Capsaicin* terhadap Penurunan VCAM-1 akibat Inhibisi Pembentukan NF-kB dan p65 serta Peningkatan Ekspresi IκB

Studi yang dilakukan oleh Seong-Su Han *et al* pada kultur sel HL-60 ( $1 \times 10^6$ /ml) secara *in vitro* menyebutkan bahwa pemberian senyawa *Capsaicin* mampu menurunkan jumlah NF-kB. Pada sel HL-60 sebelumnya telah diinkubasi dengan 12-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 10 nM dengan durasi 1 jam untuk menginduksi

pembentukan NF-kB yang kemudian diberikan berbagai konsentrasi *Capsaicin* (2 μM, 5 μM, dan 10 μM) dengan menunjukkan jumlah tertinggi nilai hambat pembentukan NF-kB ada pada konsentrasi 10 μM (81,37%) pada pemeriksaan EMSA. Hal serupa didukung dengan peningkatan protein IκB (72,57%) pada sitoplasma dan penurunan jumlah gen p65 (87,54%) di nukleus yang bertanggung jawab dalam translokasi NF-kB pasca induksi *Capsaicin* (10 μM).<sup>34</sup>

Penurunan NF-kB dan p65 serta peningkatan protein IκB berujung pada penurunan VCAM-1, ICAM-1, dan ELAM-1 yang relevan dengan studi dilakukan oleh Charalambos T *et al* pada sel HL-60 pasca induksi TNF (10 ng/mL) dan capsaicin (0-50 μM) setelah 6 jam (**Gambar 6**).<sup>35</sup>



**Gambar 6.** Efek Senyawa *Capsaicin* dalam Menurunkan Ekspresi Molekul Adhesi VCAM-1, ICAM-1, dan ELAM-1

## 2.4 Analisis Manfaat Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH Spesifik VCAM-1 Berbasis Senyawa *Capsaicin* dalam Penatalaksanaan Aterosklerosis

Modalitas terapi utama dalam penatalaksanaan aterosklerosis saat ini berfokus dalam mencegah terbentuknya lesi dengan cara menurunkan kadar

kolesterol dalam darah yang bertujuan untuk mencegah terjadinya kejadian *fatty streak* akibat hiperkolesterolemia dan menurunkan risiko terkena penyakit kardiovaskuler.<sup>93</sup>

Meskipun dapat menurunkan angka kejadian serangan jantung dan stroke, penggunaan medikamentosa belum

sepenuhnya menghambat progresivitas lesi aterosklerosis.<sup>94</sup>

Salah satu contohnya adalah medikamentosa berbasis agonis PPAR $\gamma$ , meskipun memiliki efek anti-aterogenik dan anti-inflamasi, namun dapat meningkatkan kerentanan pasien mengidap edema, peningkatan bobot tubuh, dan risiko gagal jantung.<sup>43,95-97</sup>

Selain hiperkolesterolemia, inflamasi juga memiliki peran utama terhadap progresivitas aterosklerosis. Penelitian menunjukkan bahwa penggunaan antagonis sitokin pro-inflamasi seperti antagonis TNF- $\alpha$  dan IL-1 menunjukkan hasil yang memuaskan Terhadap penurunan progresivitas aterosklerosis.<sup>98,99</sup> Di sisi lain, penelitian yang menguji penggunaan antagonis pro-inflamasi yang bersifat sistemik meningkatkan kerentanan terhadap komplikasi infeksi dikarenakan sitokin pro-inflamasi tersebut sangatlah penting dalam memicu respon imun terhadap agen infeksi, sehingga sifat tidak spesifiknya modalitas sistemik ini menyebabkan penggunaannya juga menjadi terbatas.<sup>100,101</sup>

Menilik kelemahan terapi aterosklerosis konvensional dari pemaparan di atas, maka Imunomicelle Polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis senyawa *Capsaicin* sangat berpotensi sebagai terapi utama dalam penatalaksanaan aterosklerosis secara kuratif maupun preventif.

Dalam langkah kuratif, *Capsaicin* dapat menginduksi aktivasi TRPV1 lainnya adalah peningkatan *Reverse Cholesterol Transporter (RCT)-dependent cholesterol efflux* yang selanjutnya menekan akumulasi

lipid intraseluler, dimana peningkatan kadar HDL maksimal terdapat pada konsentrasi 10  $\mu$ M secara *in vitro* (60,62%).<sup>29,31,55</sup>

Sedangkan sebagai upaya preventif diantaranya adalah dapat mencegah pembentukan *foam cell* oleh gugus MCOOH yang mengurangi influks oxLDL dan menurunkan ekspresi molekul adhesi dengan inhibisi degradasi protein I $\kappa$ B oleh *Capsaicin*.<sup>61</sup>

Penggunaan imunomicelle polimerik sebagai pembawa *Capsaicin* lebih stabil bila dibandingkan dengan liposom.<sup>102,103</sup> Nanopartikel basis liposom juga memiliki kelemahan dalam kontrol kinetik obat pada jaringan yang dituju, berbeda dengan imunomicelle polimerik yang memiliki kontrol pelepasan obat yang baik dan spesifik.<sup>102,103</sup> Penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa keunggulan imunomicelle polimerik lainnya adalah menjaga substrat dari inaktivasi hepatik dan degradasi oleh enzim serta memiliki kapasitas pemuatan obat yang lebih tinggi 8% dari liposom. Dari segi konstruksi, metode yang kami rekomendasikan memberikan beberapa keuntungan. Pertama, nanopresipitasi *direct dissolution* adalah metode paling sederhana dibandingkan dengan metode enkapsulasi substrat hidrofilik lainnya seperti dialisis, *oil-in-water emulsion* atau emulsifikasi, modifikasi *film-method*, dan kompleksasi, sehingga biaya yang dibutuhkan juga lebih sedikit dan berpotensi lebih besar untuk dikembangkan secara industrialisasi.<sup>52</sup> Kedua, metode nanopresipitasi *direct dissolution* tidak menggunakan pelarut toksik sama sekali sehingga aman untuk diadministrasikan.<sup>52</sup>

Potensi pengembangan imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis *Capsaicin* di Indonesia dapat ditinjau dari empat indikator yaitu harga, durasi, efek samping, dan keunggulan modalitas terapi. Adapun imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 dibandingkan dengan Statin, golongan terapi antiplatelet (Aspirin), dan immunomodulasi. Dua pembanding pertama merupakan terapi aterosklerosis yang paling banyak diterapkan di Indonesia, sedangkan immunomodulasi dipilih karena merupakan terapi aterosklerosis yang tergolong baru dan mulai banyak digunakan oleh masyarakat Eropa.<sup>59,60</sup>

Biaya yang dikeluarkan untuk terapi aterosklerosis berbasis Statin berkisar antara Rp 120.000,00 hingga Rp 5.000.000,00 setiap bulan dengan durasi rata-rata pengobatan selama 6 bulan.<sup>104</sup> Keunggulan dari Statin memang dapat memperbaiki profil HDL dalam waktu relatif singkat selama 1 bulan namun memiliki efek samping berupa gangguan penglihatan dan risiko diabetes dengan onset yang tergolong lama yaitu 4-6 tahun dan hanya terjadi pada 3,6% pasien yang mengonsumsi Statin dengan durasi tersebut.<sup>104</sup> Kisaran harga terapi Aspirin selama satu bulan adalah Rp 30.000,00 hingga Rp 100.000,00. Keunggulan dari terapi aspirin adalah kemampuannya untuk mengencerkan gumpalan darah, sehingga dapat menghindari pasien dari risiko stroke lebih lanjut namun beberapa kasus dapat menimbulkan pendarahan internal serta sindrom Reye, sehingga tidak boleh

dikonsumsi oleh pasien asma dan anak di bawah 16 tahun.<sup>105</sup> Sedangkan untuk terapi imunomodulasi berbasis *dendritic cell* (DC), biaya yang diperlukan sekitar US\$ 2.700 untuk 10 kali injeksi dalam kurun waktu 4 bulan. Keunggulan dari terapi imunomodulasi dibandingkan medika mentosa adalah dapat menginduksi antibodi pasien untuk melawan respon inflamasi yang menginduksi aterosklerosis sehingga efek preventifnya lebih diunggulkan, sedangkan efek samping yang ditimbulkan tidak terlalu signifikan seperti demam dan *muscle pain* dengan durasi maksimum 48 jam.<sup>12</sup>

Dibandingkan dengan ketiga terapi sebelumnya, imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis *Capsaicin* hanya memerlukan sekali injeksi untuk memberikan efikasi tata laksana aterosklerosis yang signifikan, yaitu degradasi trigliserida pada makrofag *foam cell* hingga sebesar 63,16% sehingga pembentukan *foam cell* yang berkontribusi besar terhadap progresivitas aterosklerosis dapat dihindari pada uji coba *in vitro* dan *in vivo*. Biaya terapi imunomicelle yang diperlukan berkisar antara \$150 hingga \$275, terlepas dari jenis modalitas yang digunakan.<sup>106,107</sup> Adapun kelemahan dari modalitas ini yakni waktu paruh *Capsaicin* yang relatif singkat ( $\pm$  24 jam), namun hal tersebut dapat ditanggulangi dengan penambahan PEG sebagai *stabilizer* dan PLGA yang meningkatkan waktu paruhnya hingga 28 hari.<sup>108</sup> Selain itu, substrat yang digunakan sebagai modalitas terapi yaitu *Capsaicin* terdapat dalam genus *Capsicum sp.* jenis tanaman lokal Indonesia yang relatif murah, mudah didapat serta



dibudidayakan, sehingga prinsip *cost-effectiveness* dapat tercapai tanpa mengabaikan efektivitas dan efikasi pemberian modalitas

### 3. SIMPULAN

Konstruksi imunomicelle polimerik PLGA-PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis senyawa *Capsaicin* terdiri dari preparasi basis nanopartikel Micelle Polimerik yang dimodifikasi dengan PLGA, PEG, dan gugus MCOOH serta konjugasi antibodi VCAM-1, sintesis senyawa *Capsaicin* dari genus *Capsicum spp*, enkapsulasi *Capsaicin* dan mengonjugasikan antibodi VCAM-1 pada segmen distal ampifilik nanopartikel yang kemudian diadministrasikan secara intravena. Setelah bertautan dengan reseptor, modalitas terapi akan didegradasi oleh endosom sehingga menyisakan MCOOH yang mengalami translokasi menuju SR-A1 dan CD36 sedangkan senyawa *Capsaicin* akan menuju TRPV1 dan protein I $\kappa$ B dalam menjalankan aksinya. Dibandingkan dengan terapi Statin, antiplatelet, dan *Dendritic Cell (DC)*, modalitas ini lebih direkomendasikan secara teoritis meninjau dari efek terapi yang diberikan. Selain itu, modalitas ini hanya memerlukan sekali injeksi, lebih stabil, memberikan efek kuratif dan kardioproteksi yang memiliki tingkat keberhasilan tinggi serta minim efek samping.

### 4. SARAN

Gagasan kreatif dalam karya ilmiah ini masih memerlukan berbagai pengkajian dan penelitian lebih lanjut mengenai potensi dan dosis mengenai konsentrasi penggunaan imunomicelle polimerik PLGA-

PEG-MCOOH spesifik VCAM-1 berbasis capsaicin. Hal ini penting, mengingat pengobatan konvensional belum mampu mengatasi permasalahan kardiovaskuler yang disebabkan oleh aterosklerosis.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Navas-Acien A, Sharrett AR, Silbergeld EK, et al., 2005, *Arsenic Exposure and Cardiovascular Disease: A Systematic Review of The Epidemiologic Evidence*, Am J Epidemiol, 162:1037-1049.
2. Verschuren J, Trompet S, Wessels J, et al., 2012, *A Systematic Review on Pharmacogenetics in Cardiovascular Disease: Is It Ready for Clinical Application?*, European Heart Journal, 3:165-175.
3. Frostegard J, 2013, *Immunity, Atherosclerosis and Cardiovascular Disease*, BMC Medicine, 11:117.
4. World Health Organization, 2011, *Cardiovascular Disease Fact Sheet*, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
5. Alberts-Grill N, Denning TL, Rezvan A, Jo H, 2013, *The Role of The Vascular Dendritic Cell Network in Atherosclerosis*, Am J Physiol Cell Physiol, 305:C1-C21.
6. Kim S, Park J, Kim K, et al., 2012, *The Protective Effect of Apamin on LPS/Fat-Induced Atherosclerotic Mice*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012:1-10.
7. Habets K, Puijvelde G, Duivenvoorde LM, et al., 2010, *Vaccination Using Oxidized Low-Density Lipoprotein-Pulsed Dendritic Cells Reduces Atherosclerosis in LDL Receptor-*



- Deficient Mice. Cardiovascular Research*, 85:622-630.
8. Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar R, et al., 2001, *High Prevalence of Coronary Atherosclerosis in Asymptomatic Teenagers and Young Adults*, *Circulation*, 103:2705-2710.
  9. Wang L, Bao Y, Yang Y, Wu Y, Chen X, Si S, Hong B, 2010, *Discovery of Antagonists for Human Scavenger Receptor CD36 via an ELISA-Like High-Throughput Screening Assay*, *J Biomol Screen*, 15(3):239–250.
  10. Ross R, 1999, *Atherosclerosis – An Inflammatory Disease*, *The New England Journal of Medicine*, 340(2):115-126.
  11. Itabe H, Obama T, Kato R, 2011, *The Dynamics of Oxidized LDL during Atherogenesis*, *Journal of Lipids*, 1-9.
  12. Hansson GK, 2005, *Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease*, *N Engl J Med*, 352:1685-95.
  13. Schrijvers DM, De Meyer GR, Herman AG, Martinet W, 2007, *Phagocytosis in atherosclerosis: Molecular mechanisms and implications for plaque progression and stability*, *Cardiovasc Res*, 73:470–480.
  14. Wesemann DR, Benveniste EN, 2003, *STAT-1 $\alpha$  and IFN- $\gamma$  as modulators of TNF- $\alpha$  signaling in macrophages: regulation and functional implications of the TNF receptor 1:STAT-1 $\alpha$  complex*, *Journal of Immunology*, 171(10):5313–5319.
  15. Ahuja KDK, Robertson IK, Geraghty DP, Ball MJ, 2006, *Effects of chili consumption on postprandial glucose, insulin, and energy metabolism*, *Am J Clin Nutr*, 84:63-9.
  16. Roche LD, Hernandez DA, 2012, *New Alternatives for Atherosclerosis Treatment Based on Immunomodulation*, *ISRN Vascular Medicine*, 1-6.
  17. Baigent C, Keech A, Kearney PM, et al., 2005, *Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins*, *Lancet*, 366:1267–1278.
  18. LaRosa JC, He J, Vupputuri S, 1999, *Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials*, *JAMA*, 282:2340–2346.
  19. Kushner FG, Hand M, Smith SC, et al., 2009, *2009 focused updates: ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction (updating the 2004 guideline and 2007 focused update) and ACC/AHA/SCAI guidelines on percutaneous coronary intervention (updating the 2005 guideline and 2007 focused update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines*, *Circulation*, 120:2271–2306.
  20. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, et al., 2008, *Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology*, *Eur Heart J*, 29:2909–2945.

21. Pollack CV Jr, Braunwald E, 2008, *2007 update to the ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: implications for emergency department practice*, *Ann Emerg Med*, 51:591–606.
22. Rapezzi C, Biagini E, Branzi A, 2008, *Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the task force for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology*, *Eur Heart J*, 29:277–278.
23. Shimokawa T, Smith WL, 1992, *Prostaglandin endoperoxide synthase. The aspirin acetylation region*, *J Biol Chem*, 267:12387–12392.
24. Halushka MK, Walker LP, Halushka PV, 2003, *Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin*, *Clin Pharmacol Ther*, 73:122–130.
25. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al., 2004, *Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction*, *Circulation*, 109:3171–3175.
26. Snoep JD, Hovens MM, Eikenboom JC, van der Bom JG, Jukema JW, Huisman MV, 2007, *Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis*, *Am Heart J*, 154:221–231.
27. Nordmann AJ, Hengstler P, Leimenstoll BM, Harr T, Young J, Bucher HC, 2004, *Clinical Outcomes of Stents Versus Balloon Angioplasty In Non-Acute Coronary Artery Disease*, *European Heart Journal*, 25:69-80.
28. Serruys P, Jaeger P, Kiemeneij F, et al., 1994, *A Comparison of Balloon-Expandable-Stent Implantation with Balloon Angioplasty In Patients with Coronary Artery Disease*, *The New England Journal of Medicine*, 331(8):489-495.
29. Zhao J, Ching L, Kou YR, et al., 2013, *Activation of TRPV1 Prevents OxLDL-Induced Lipid Accumulation and TNF- $\alpha$ -Induced Inflammation in Macrophages: Role of Liver X Receptor  $\alpha$* , *Mediators of Inflammation*, 2013:1-14.
30. Zhang LL, Liu DY, Ma LQ, et al., 2007, *Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity*, *Circ Res*, 100:1063–1070.
31. Ma L, Zhong J, Zhao Z, et al., 2011, *Activation of TRPV1 reduces vascular lipid accumulation and attenuates atherosclerosis*, *Cardiovascular Research*, 92:504-513.
32. Sanatombi K, Sharma GJ, 2008, *Capsaicin Content and Pungency of Different Capsicum spp. Cultivars*, *Not Bot Hort Agrobot Cluj*, 36(2):89-90.
33. Bode AM, Dong Z, 2011, *The Two Faces of Capsaicin*, *Cancer Res*, 71:2809-2814.
34. Han SS, Keum YS, Seo HJ, Chun KS, Lee SS, Surh YJ, 2001, *Capsaicin suppresses phorbol ester-induced activation of NF-kappaB/Rel and AP-1*

- transcription factors in mouse epidermis*, Cancer Lett, 164(2):119-26.
35. Seong-Su Han, Young-Sam Keum, Kyung-Soo Chun, Young-Joon Surh, 2002, *Suppression of phorbol ester-induced NF- $\kappa$ B activation by Capsaicin in cultured human promyelocytic leukemia cells*, Archives of Pharmacal Research, Volume 25. Issue 4. pp 475-479.
  36. Reyes-Escogido M, Gonzalez-Mondragon EG, Vazquez-Tzompantzi E, 2011, *Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin*, Molecules, 16:1253-1270.
  37. Napoli C, Ignarro LJ. 2009. *Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases*. Arch Pharm Res. 32: 1103-8. D. J. Preiss,
  38. N. Sattar, 2007, *Vascular cell adhesion molecule-1: a viable therapeutic target for atherosclerosis?*, Int J Clin Pract, pp 697–701.
  39. Kathryn J. Moore, Ira Tabas, 2011, *Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis*, Cell, 145 pp 1-5.
  40. Becker, L., Gharib, S.A., Irwin, A.D., Wijsman, E., Vaisar, T., Oram, J.F., and Heinecke, J.W., 2010, *A macrophage sterol-responsive network linked to atherogenesis*, Cell Metab, Vol 11. pp 125–135.
  41. Iyer AK, Greish K, Seki T, Okazaki S, Fang J, Takeshita K, Maeda H, 2007, *Polymeric micelles of zinc protoporphyrin for tumor targeted delivery based on EPR effect and singlet oxygen generation*, J Drug Target, 15: 496–506.
  42. Blanco E, Kessinger CW, Sumer BD, Gao J, 2009, *Multifunctional Micellar Nanomedicine for Cancer Therapy*, Exp Biol Med, 234(2):123-131.
  43. Lewis DR, Kamisoglu K, York A, Moghe PV, 2011, *Polymer-Based Therapeutics: Nanoassemblies and Nanoparticles for Management of Atherosclerosis*, Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 3(4):400-420.
  44. Kamaly, et al., 2012, *Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development, and clinical translation*, Chem Soc Rev, 41(7):2971-3010.
  45. Farokhzad OC, et al., 2006, *Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy in vivo*, PNAS, 103(16):6315-6320.
  46. Jung T, Breitenbach A, Kissel T, 2000, *J. Controlled Release*, 67:157-169.
  47. Blanco E, Kessinger CW, Sumer BD, and Gao J, 2009, *Multifunctional Micellar Nanomedicine for Cancer Therapy*, Exp Biol Med (Maywood), 234(2):123-131.
  48. Pandhair V, Sharma S, 2008, *Accumulation of Capsaicin in Seed, Pericarp and Placenta of Capsicum annum L Fruit*, Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 17(1):23-27.
  49. Arora R, Gill N S, Chauhan G, Rana A C, 2011, *An Overview about Versatile Molecule Capsaicin*, Int Jour of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 3(4): 280-286.
  50. Noichinda S., Bodhipadma K., Lerksasen P., Ketsa S., 2012, *Difference in Capsaicin Content among Thai Capsicum*, The Jour App Sci, 11(1):1-4.

51. Sudhakar Johnson, T. and Racishankar, G. A. and Venkataraman, L. V., 1991, *In vitro Capsaicin production by immobilized cells and placental tissues of Capsicum annum L. grown in liquid medium*, Plant Science, 70(2):223-229.
52. Pepic et al., 2012, *Polymeric Micelles in Ocular Drug Delivery: Rationale, Strategies and Challenges*, Chem. Biochem. Eng. Q., 26(4):365-377.
53. Gosk S., 2007, *VCAM-directed immunoliposomes loaded with vascular-disrupting agents for selective targeting and occlusion of the tumor vasculature - as a novel therapeutic strategy*, Dissertation Universitaat Bonn, pp.39-41.
54. Kang DI, Lee S, Lee JT, Sung BJ, Yoon JY, Kim JK, Chung J, Lim SJ, 2011, *Preparation and in vitro evaluation of anti-VCAM-1-Fab'-conjugated liposomes for the targeted delivery of the poorly water-soluble drug celecoxib*, J Microencapsul, 28(3):220-7.
55. Xu X, Wang P, Zhao Z, Cao T, He H, Luo Z, Zhong J et al., 2011, *Activation of transient receptor potential vanilloid 1 by dietary Capsaicin delays the onset of stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats*, AHA Journal, 42(11):3245-51.
56. Mulder WJM, Strijkers GJ, Briley-Saboe KC, Frias JC, Aguinaldo JGS, Vucic E, Amirbekian V, Tang C, Chin PTK, Nicolay K, Fayad ZA, 2007, *Molecular imaging of macrophages in atherosclerotic plaques using bimodal PEG-micelles*, Magn Reson Med, 58(6):1164-1170.
57. Febbraio M, Sheibani N, Schmitt D, Silverstein R, Hajjar D, Cohen P, et al., 2000, *Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice*, J Clin Invest, 105:1095-1108.
58. Manning-Tobin JJ, Moore KJ, Seimon TA, Bell SA, Sharuk M, Alvarez-Leite JI, et al., 2009, *Loss of SR-A and CD36 activity reduces atherosclerotic lesion complexity without abrogating foam cell formation in hyperlipidemic mice*, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 29:19-26.
59. Panyam J, Zhou WZ, Prabha S, Sahoo SK, Labhasetwar V, 2002, *Rapid endolysosomal escape of poly(DL-lactide-coglycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery*, FASEB J, 16:1217-1226.
60. Panyam J, Labasethwar V, 2003, *Dynamics of Endocytosis and Exocytosis of Poly(D,L-Lactide-coglycolide) Nanoparticles in Vascular Smooth Muscle Cells*, Pharmaceutical Research, 20(2):212-220.
61. Chnari E, Jessica SN, Wang J, Uhrich KE, an Moghe PV, 2006, *Engineered Polymeric Nanoparticles for Receptor-Targeted Blockage of Oxidized Low Density Lipoprotein Uptake and Atherogenesis in Macrophages*, Biomacromolecules, 7:1756-1805.
62. Kunjathoor V, Febbraio M, Podrez E, Moore K, Andersson L, Koehn S, et al., 2002, *Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid*

- loading in macrophages, *J Biol Chem*, 277:49982–49988.
63. K. C. Thomas, M. Ethirajan, K. Shahrokh et al., 2011, *Structure-activity relationship of Capsaicin analogs and transient receptor potential vanilloid 1-mediated human lung epithelial cell toxicity*, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 337, no. 2, pp. 400–410.
  64. Almasi R, Szoke E, Bolcskei K, Varga A, Riedl Z, et al., 2008, *Actions of 3-methyl-N-oleoyldopamine and 4-methyl-N-oleoyldopamine on the rat TRPV1 receptor in vitro and in vivo*, *Life Sci*, pp 644–651.
  65. Zhong B, Wang DH, 2008, *N-oleoyldopamine, a novel endogenous Capsaicinlike lipid, protects the heart against ischemia-reperfusion injury via activation of TRPV1*, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, H728–735.
  66. Wang H, Wang DH, Galligan JJ, 2010, *P2Y2 receptors mediate ATP-induced resensitization of TRPV1 expressed by kidney projecting sensory neurons*, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, R1634–1641.
  67. Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, Eid SR, 2007, *The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept*, *Nat Rev Drug Discov*, pp 357–372.
  68. R. Sorrentino, S. Morello, S. Chen, E. Bonavita, and A. Pinto, 2010, *The activation of liver X receptors inhibits toll-like receptor-9-induced foam cell formation*, *Journal of Cellular Physiology*, vol. 223. no. 1. pp. 158–167.
  69. L.-C. Cheng, K.-H. Su, Y. R. Kou et al., 2011,  *$\alpha$ -Lipoic acid ameliorates foam cell formation via liver X receptor  $\alpha$ -dependent upregulation of ATP-binding cassette transporters A1 and G1*, *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 50, no. 1, pp. 47–54.
  70. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, and Tontonoz P, 2003, *Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors*, *Nature Medicine*, vol. 9, no. 2, pp. 213–219.
  71. Bischoff, E.D., Daige, C.L., Petrowski, M., Dedman, H., Pattison, J., Juliano, J., Li, A.C. and Schulman, I.G., 2010, *Non-redundant roles for LXRA $\alpha$  and LXRB $\beta$  in atherosclerosis susceptibility in low density lipoprotein receptor knockout mice*, *J. Lipid Res*.
  72. Krasowski, M.D., Ni, A., Hagey, L.R. and Ekins, S., 2011, *Evolution of promiscuous nuclear hormone receptors: LXR, FXR, VDR, PXR, and CAR*, *Mol. Cell. Endocrinol*, 334:39–48.
  73. Nedumaran, B., Kim, G.S., Hong, S., Yoon, Y.-S., Kim, Y.-H., Lee, C.-H., Lee, Y.C., Koo, S.-H. and Choi, H.-S., 2010, *Orphan nuclear receptor DAX-1 acts as a novel corepressor of liver X receptor  $\alpha$  and inhibits hepatic lipogenesis*, *J. Biol. Chem*, 285:9221–9232.
  74. Chinetti GG, Baron M, Bouhrel MA et al., 2011, *Human Atherosclerotic Plaque Alternative Macrophages Display Low Cholesterol Handling but High Phagocytosis Because of Distinct Activities of the PPAR and LXR Pathways*, *Circ. Res*, 108:985–995.

75. Jakobsson T, Venteclef N, Toresson G., Damdimopoulos AE., Ehlund A, Lou,X, Sanyal,S, Steffensen KR, Gustafsson,JA, and Treuter,E., 2009, *GPS2 is required for cholesterol efflux by triggering histone demethylation, LXR recruitment, and coregulator assembly at the ABCG1 locus*, Mol. Cell., 34:510–518.
76. Laffitte, B.A. *et al.*, 2001, *LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 98:507–512.
77. Repa, J.J. *et al.*, 2000, *Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) by oxysterol receptors LXR- $\alpha$  and LXR- $\beta$* , Genes Dev, 14:2819–2830.
78. Zhang Y, Zanotti I, Reilly MP, Glick JM, Rothblat GH, Rader DJ, 2003, *Overexpression of apolipoprotein A-I promotes reverse transport of cholesterol from macrophages to feces in vivo*, Circulation, 108:661-663.
79. Yvan-Charvet, L., Pagler, T.A., Seimon, T.A., Thorp, E., Welch, C.L., Witztum, J.L., Tabas, I., and Tall, A.R., 2010, *ABCA1 and ABCG1 protect against oxidative stress-induced macrophage apoptosis during efferocytosis*, Circ. Res, 106:1861–1869.
80. Groen AK, Bloks VW, Bandsma RH, Ottenhoff R, Chimini G, Kuipers F, 2001, *Hepatobiliary cholesterol transport is not impaired in Abca1-null mice lacking HDL*, J Clin Invest, 108:843– 850.
81. Christopher J. Fielding; and Phoebe E. Fieldins, 1995, *Molecular physiology of reverse cholesterol transport*, Journal of Lipid Research, Volume 36 pp 1-18.
82. Wang X, Collins HL, Ranalletta M, Fuki IV, Billheimer JT, Rothblat GH, Tall AR, Rader DJ, 2007, *Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo*, J Clin Invest, 117:2216-2224.
83. El Bouhassani M, Gilibert S, Moreau M, Saint-Charles F, Treguier M, Poti F, Chapman MJ, Le Goff W, Lesnik P, Huby T, 2011, *Cholesteryl ester transfer protein expression partially attenuates the adverse effects of SR-BI receptor deficiency on cholesterol metabolism and atherosclerosis*, J Biol Chem, 286:17227-17238.
84. Zhang Y, Da Silva JR, Reilly M, Billheimer JT, Rothblat GH, Rader DJ, 2005, *Hepatic expression of scavenger receptor class B type I (SR-BI) is a positive regulator of macrophage reverse cholesterol transport in vivo*, J Clin Invest, 115:2870-2874.
85. Chen LW, Egan L, Li ZW, Greten FR, Kagnoff MF, Karin M, 2003, *The two faces of IKK and NF- $\kappa$ B inhibition: Prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion*, Nat Med, 9:575–581.
86. Correa RG, Matsui T, Tergaonkar V, Rodriguez-Esteban C, Izpisua-Belmonte JC, Verma IM, 2005, *Zebrafish I $\kappa$ B kinase 1 negatively regulates NF- $\kappa$ B activity*, Curr Biol, 15:1291–1295.
87. Gadjeva M, Tomczak MF, Zhang M, Wang YY, Dull K, Rogers AB, Erdman SE, Fox JG, Carroll M, Horwitz BH,



- 2004, *A role for NF- $\kappa$ B subunits p50 and p65 in the inhibition of lipopolysaccharide-induced shock*, *J Immunol*, 173:5786–5793.
88. Mourad Z, Yasuhiro S, Amarjit S, Naura, Chetan P, Hans, Charles Nichols, and Hamid B, 2008, *Nuclear Translocation of p65 NF- $\kappa$ B is Sufficient for VCAM-1: Differential Requirement for PARP-1 Expression and Interaction*, *Cell Signal*, 20(1): 186-194.
89. Bonizzi G, Karin M, 2004, *The two NF- $\kappa$ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity*, *Trends Immunol*, 25:280–288.
90. Nicole Iverson<sup>1</sup>, Nicole M. Plourde<sup>2</sup>, Sarah M. Sparks<sup>3</sup> et al., 2011, *Dual Use of Amphiphilic Macromolecules As Cholesterol Efflux Triggers and Inhibitors of Macrophage Athero-inflammation*, *Biomaterials*, 32(32):8319–8327.
91. Liqun M, Jian Z, Zhigang Z et al., 2011, *Activation of TRPV1 reduces vascular lipid accumulation and attenuates atherosclerosis*, *Cardiovascular Research*, 92:504–513.
92. Martin T, Tsagogiorgas C, Wedel J, Hottenrott M, Schneider MO, Binzen U, et al., 2012, *N-octanoyl-Dopamine Is an Agonist at the Capsaicin Receptor TRPV1 and Mitigates Ischemia-Induced Acute Kidney Injury in Rat*, *PLoS ONE*, 7(8): e43525.
93. Lewington S, Whitlock G, Clarke R et al., 2007, *Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths*, *Lancet*, 370(9602):1829–39.
94. Shah PK, et al., 2007, *Apolipoprotein A-I/HDL infusion therapy for plaque stabilization-regression: a novel therapeutic approach*, *Current Pharmaceutical Design*, 13(10):1031–1038.
95. Rubenstrunk A, Hanf R, Hum DW, Fruchart JC, Staels B, 2007, *Safety issues and prospects for future generations of PPAR modulators*, *Biochim Biophys Acta*, 1771(8):1065-81.
96. Zinn A, Felson S, Fisher E, Schwartzbard A, 2008, *Reassessing the cardiovascular risks and benefits of thiazolidindiones*, *Clinical Cardiology*, 31(9):397-403.
97. Staels B, 2005, *Fluid retention mediated by renal PPAR- $\gamma$* , *Cell Metabolism*, 2(2):77-78.
98. Jacobsson LT, Turesson C, Gulfe A, Kapetanovic MC, Petersson IF, Saxne T, Geborek P, 2005, *Treatment with tumor necrosis factor blockers is associated with a lower incidence of first cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis*, *J Rheumatol*, 32:1213–1218.
99. Emsley HC, Smith CJ, Georgiou RF, Vail A, Hopkins SJ, Rothwell NJ, Tyrrell PJ, 2005, *A randomised phase II study of interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke patients*, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76:1366–1372.
100. Kim SY, Solomon DH, 2010, *Tumor necrosis factor blockade and the risk of viral infection*, *Nat Rev Rheumatol*, 6(3):165-74.
101. Prinz JC, 2011, *Autoimmune-like syndromes during TNF blockade: does*

- infection have a role?*, Nat Rev Rheumatol, 29;7(7):429-34.
102. Kamaly N, Xiao Z, Valencia PM, Radovic-Moreno AF, Farokhzad OC, 2012, *Targeted Polymeric Therapeutic Nanoparticles: Design, Development, and Clinical Translation*, Chem Soc Rev, 41(7):2971-3010.
103. Pinto-Alphandary H, Andremont A, Couvreur P, 2000, *Targeting delivery of antibiotics using liposomes and nanoparticles: research and applications*, Int J Antimicrob, 13:155-168.
104. Schuffhan et al., 2006, *The cost effectiveness of Fluvastatin in Hungary Following Successful PCI*, Cardiovasc drugs ther, 13(4):309-317.
105. Jeremy S, Paikin, and John W. Eikelboom, 2012, *Aspirin*, Circulation, 125:e439-e442.
106. Torchilin, Vladimir P, 2003, *Immunomicelles: Targeted Pharmaceutical Carriers for Poorly Soluble Drugs*, Proceeding of the National Academy of Science.
107. Peters, et al., 2009, *Targeting atherosclerosis by using modular, multifunctional micelles*, PNAS, 106(24):9815-9819.
108. Ravivarapu HB, Burton K, De Luca PP, 2000, *Polymer and microsphere blending to alter the release of a peptide from PLGA microsphere*, Eur J Pharm Biopharm, 50:263-70.