

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Definisi, Klasifikasi dan Prevalensi Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) kronik disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein akibat defek sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. DM dapat terjadi dengan gejala khasnya poliuria, polidipsi, penglihatan kabur, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Pada keadaan paling berat, ketoasidosis atau keadaan hiperosmolar non-ketotik dapat muncul dan mengakibatkan stupor, koma, hingga kematian jika terapi yang efektif tidak dilakukan (WHO, 1999).

DM dibagi menjadi dua kategori utama berdasar pada sekresi insulin endogen yaitu *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) atau diabetes mellitus tipe 1 dan *non insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM) atau diabetes mellitus tipe 2. DM tipe 2 merupakan tipe diabetes yang paling sering terjadi, yaitu 90-95% dari penderita DM. DM tipe 2 terjadi akibat penurunan sensitivitas reseptor insulin dan gangguan pada proses sinyal insulin. Penurunan sensitivitas dan gangguan proses sinyal insulin ini menyebabkan glukosa tidak dapat di hantarkan ke dalam sel sehingga terjadi hiperglikemia yang dapat menyebabkan berbagai komplikasi (WHO, 1999; King *et al*, 2003).

Estimasi data prevalensi diabetes mellitus di dunia menunjukkan sebanyak 6,4% atau 285 juta orang pada tahun 2010 dan akan meningkat

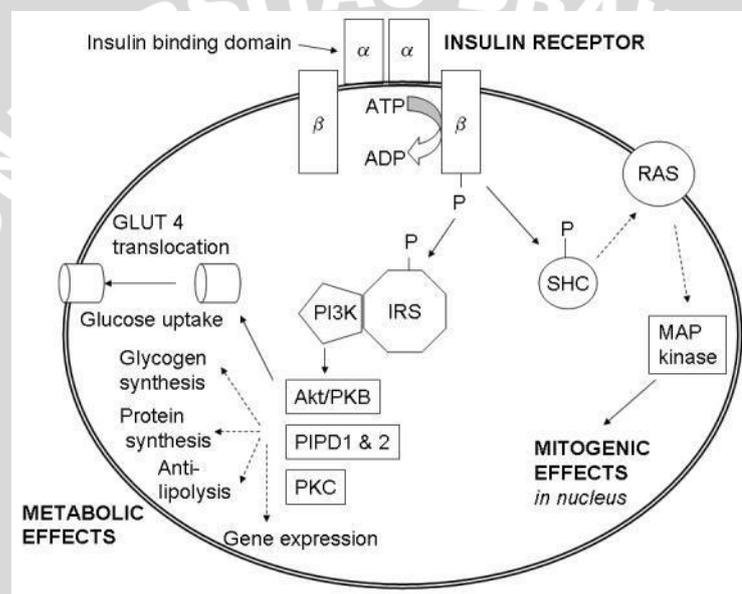
menjadi 7,7% atau 439 juta orang pada 2030. Indonesia menempati urutan ke-9 dalam estimasi epidemiologi DM dunia pada tahun 2010 dengan 7 juta kasus dan diperkirakan akan terus naik menjadi peringkat ke-5 pada tahun 2030 dengan 20 juta kasus (Shaw *et al*, 2010).

2.1.2 Patogenesis dan Mekanisme Terjadinya Komplikasi pada Diabetes Melitus Tipe 2

Gejala diabetes melitus tipe 2 (DM tipe 2) diawali karena terjadinya resistensi insulin yang terjadi di sel terutama hepar dan otot. Pada penderita obesitas yang disertai resistensi insulin ditemukan adanya akumulasi trigliserid dan asam lemak dalam otot (intramyoselular) dan diduga menghambat kerja insulin pada tingkat seluler dengan menghambat translokasi *glucose transporter 4* intraseluler ke membran sel (Bhattacharya, 2007; Choi, 2010). Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya gangguan transportasi glukosa ke dalam sel dan peningkatan kadar glukosa dalam darah atau hiperglikemia. Hiperglikemia mengakibatkan terjadinya peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) seperti anion superoksid. Peningkatan anion superoksid oleh mitokondria dipercaya sebagai penyebab meningkatnya produksi *advanced glycation end product* (AGE) dan menyebabkan NO menjadi inaktif sehingga tak mampu membentuk peroksinitrit (Beckman, 2001). Selain itu juga terjadi aktivasi faktor transkripsi seperti *nuclear factor kappaB* (NF- κ B) dan AP-1 serta peningkatan sintesa faktor protrombotik seperti *tissue factor* (TF) dan *plasma activating factor-1* (PAI-1). Hal tersebut memicu timbulnya konstiksi pembuluh darah yang diikuti dengan peningkatan tekanan darah. Keadaan ini juga menyebabkan peningkatan proliferasi otot polos pembuluh darah yang menyebabkan terjadinya penyempitan lumen pembuluh darah. Sedangkan peningkatan NF- κ B dan AP-1

akan mendorong timbulnya reaksi inflamasi akibat pelepasan berbagai kemokin (mis: MCP-1), sitokin (mis: IL-1) dan *cell adhesion molecules* (mis: ICAM-1) (Creager, 2003). Hal inilah yang menyebabkan awal pembentukan lesi aterosklerosis dan berakibat pada berbagai macam komplikasi vaskuler penyebab kematian pada diabetes (Esper *et al* 2008).

2.1.3. Mekanisme Kerja Insulin



Gambar 1. Skema jalur sinyal insulin (Wilcox, 2005)

Insulin memiliki peran dalam mengontrol *uptake* glukosa ke dalam sel. Mekanisme kontrol tersebut merupakan suatu reaksi berantai yang kompleks dengan melibatkan berbagai sinyal protein (Sesti, 2006). Reaksi diawali saat insulin berikatan dengan reseptor insulin sehingga menyebabkan autofosforilasi dan aktivasi reseptor tersebut (Kweiet *al*, 2008). Reseptor insulin memiliki struktur heterotetramer yang terdiri dari subunit glikoprotein 2 α dan 2 β , yang dihubungkan dengan ikatan disulfide dan berlokasi di membrane sel. Gen yang mengkode reseptor insulin terletak pada lengan pendek dari kromosom 19.

Insulin berikatan dengan subunit α ekstraseluler, yang mengakibatkan perubahan bentuk sehingga mengakibatkan ikatan ATP pada komponen intraseluler dari subunit β . Ikatan ATP akan memicu fosforilasi dari subunit β melalui enzim tirosin kinase (Wilcox, 2005). Reseptor insulin yang teraktivasi kemudian memicu fosforilasi *insulin receptor substrate* (IRS), yang selanjutnya membentuk sebuah kompleks dengan *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3-Kinase) yang memulai kaskade reaksi terhadap sinyal dari reseptor insulin (Kwei *et al*, 2008).

2.2 *Insulin receptor substrate* (IRS)

Terdapat 4 jenis protein IRS pada seluruh sel dalam tubuh. IRS-1 merupakan IRS paling banyak terdapat dalam tubuh dan terutama diekspresikan di otot rangka dan jaringan adiposit. IRS-2 merupakan IRS penting di liver, yang berfungsi dalam aktivitas perifer dari insulin dan pertumbuhan dari sel β pankreas. IRS-3 ditemukan hanya pada jaringan adiposit, sel β , dan liver. Sedangkan IRS-4 ditemukan di timus, otak dan ginjal (Wilcox, 2005). IRS yang telah terfosforilasi akan secara spesifik mengikat *src-homology-2 domain protein* (SH2), yang meliputi enzim penting PI 3-kinase dan *phosphotyrosine phosphatase* SHPTP2 (atau Syp). PI 3-kinase akan mengakibatkan translokasi dari protein glukosa transporter, glikogen, lipid dan sintesis protein, anti-lipolisis, serta mengatur glukoneogenesis di liver. PI 3-kinase bekerja melalui *serine* dan *threonine kinase* seperti Akt/protein kinase B (PKB), protein kinase C (PKC) dan *PI dependent protein kinases 1&2* (PIPD 1&2) (Boura-Halfon, 2009).

Kompleks IRS-1-PI3-Kinase mengkatalis produksi *phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate* (PIP3) yang kemudian berinteraksi dengan *phosphoinositide-dependent kinase 1* (PDK1). Interaksi kompleks PIP3-PDK1 menyebabkan terjadinya fosforilasi *protein kinase B* (PKB)/Akt dan *protein kinase C* (PKC).

PKB/Akt dan PKC yang teraktivasi memicu translokasi *glucose transporter* (GLUT4) dari kompartemen internal menuju membran sel. Dengan adanya GLUT4 pada membran sel, maka sebuah sel dapat melakukan uptake glukosa dari lingkungannya (Kwei *et al*, 2008; Boura-Halfon, 2009).

2.3 Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI 3-kinase)

PI 3-kinase merupakan golongan enzim yang memfosforilasi *phosphatidylinositol* (PI) *lipids* pada 3' *position*. Enzim ini dibagi menjadi 3 kelas berdasarkan kemiripan rangkaian dan properti biokimiawinya yaitu kelas 1 (1A dan 1B), kelas 2 dan kelas 3. Diantara PI-3 kinase tersebut, kelas 1A merupakan golongan enzim yang berperan penting dalam meregulasi berbagai respon sel, termasuk pembelahan sel, survival, dan sinyal terhadap respon pada *tyrosine kinase receptor* seperti pada sinyal insulin (Munugalavada, 2005; Jimenez, 2002; Wilcox, 2005).

PI3-kinase kelas 1A merupakan heterodimer yang terdiri dari *catalytic subunit* p110 dan *regulatory subunit* p85 α . Kedua enzim ini banyak ditemukan di bagian sitoplasma sel pada sel yang normal. Pada saat teraktivasi, enzim tersebut akan bergerak menuju membran plasma yang kemudian akan berikatan dengan substratnya yaitu *phosphatidylinositol-4, 5-biphosphate* (PI-4,5-P2) dan mengaktivasi *phospholipid second messengers* (PIP3). PIP3 tersebut kemudian akan berikatan dengan *pleckstrin homology* (PH) domain dari *protein kinase B/Akt* (PKB/Akt) yang akan menginduksi reaksi berantai yang berperan penting dalam translokasi *glucose transporter* (GLUT-4) menuju permukaan sel pada sel otot dan adiposa dan mengawali transportasi glukosa ke dalam sel (Foster, 2003; Luo, 2005; Wilcox, 2005).

2.4 Regulatory Subunit p85 α

2.4.1 Mekanisme Peningkatan Ekspresi Regulatory Subunit p85 α dalam Menginduksi Terjadinya Resistensi Insulin

Pada orang dengan DM tipe 2 terjadi ketidakseimbangan komposisi antara 2 subunit enzim PI 3-kinase kelas 1A yaitu *catalytic subunit* p110 dan *regulatory subunit* p85 α (Mauvais-Jarvis, 2002). Normalnya, setiap enzim regulator memiliki satu enzim katalitik sehingga monomer p85 α yang bebas tidak dapat berikatan dengan subunit katalitik p110. Monomer p85 α memiliki tempat perlekatan yang sama dengan p85 α -p110 heterodimer pada *tyrosine-phosphorylated IRS proteins*. Hal inilah yang dapat mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan dan penurunan aktifitas PI3-kinase. (Saini V, 2010).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi *regulatory subunit* p85 α bertanggung jawab terhadap terjadinya resistensi insulin pada penderita DM tipe 2. *Regulatory subunit* p85 α menyebabkan inhibisi pada ikatan p110-p85 α heterodimer dengan *tyrosine-phosphorylated IRS protein* dan mengaktifasi *lipid phosphatase* (PTEN) yang mengakibatkan terjadinya hambatan pada aktivasi reseptor insulin. Protein regulator p85 α berikatan secara langsung dengan PTEN dan meningkatkan aktivitas PTEN. *N-terminal SH3-BH region* hanya terdapat pada *regulatory subunit* p85 α , tidak pada isoform p55 α dan p50 α , dimana regio tersebut memfasilitasi pengikatan dan regulasi PTEN. Kemampuan *regulatory subunit* p85 α untuk berikatan secara langsung serta melakukan regulasi terhadap p110-PI3-Kinase dan PTEN-PI3-phosphatase menjelaskan fenotip sinyal insulin yang paradoks pada tikus dengan penurunan ekspresi PI3K atau PTEN (Draznin, 2006; Kahn, 2006; Chagpar, 2010). Penelitian oleh Taniguchi *et al* (2007) juga

menunjukkan bahwa *regulatory subunit p85 α* mampu mengaktivasi kompleks *Jun N-terminal kinase* (JNK) yang berperan dalam proses degradasi IRSdi sitoplasma sel. Ketiga mekanisme tersebut menunjukkan bahwa *p85 α* berperan penting dalam proses resistensi insulin yang mengawali terjadinya diabetes melitus tipe 2 (Taniguchi, 2007).

2.4.2 Potensi *Regulatory Subunit p85 α* sebagai Target Vaksinasi

Peran penting *regulatory subunit p85 α* dalam proses resistensi insulin juga ditunjukkan dengan peningkatan sensitivitas insulin yang terjadi saat terdapat gangguan pada produksi dan aktivitas enzim tersebut (Terauchi, 1999). Penelitian oleh Ueki *et al* (2001) menunjukkan hambatan pada aktivitas enzim *p85 α* secara *in vitro* pada sel *L6 myotube* mampu meningkatkan sensitivitas insulin yang ditunjukkan dengan peningkatan transpor glukosa ke dalam sel. Penelitian lain oleh Barbour *et al* (2005) juga menunjukkan pada mencit dengan kerusakan genetik yang mengakibatkan gangguan pada produksi enzim *p85 α* , terjadi peningkatan sensitivitas insulin yang signifikan di banding kelompok kontrol yang produksi enzimnya normal saat diinduksi dengan *growth hormone* dosis tinggi (Ueki, 2001; Barbouret *al*, 2005). Hal ini menunjukkan bahwa inhibisi enzim *p85 α* merupakan target yang potensial dalam pengembangan terapi pencegahan DM tipe 2.

Beberapa studi imunologis dengan menggunakan antibodi terhadap *p85 α* dilakukan untuk mendeteksi enzim *p85 α* secara *in vitro* dan mempelajari fungsinya pada berbagai jenis sel. Penelitian oleh Backer (2010) menunjukkan bahwa penggunaan *p85 α* sebagai antigen mampu menginduksi pembentukan antibodi yang spesifik pada kelinci. Antibodi tersebut mampu berikatan secara spesifik dengan enzim *p85 α* yang diekspresikan pada sitoplasma sel secara *in*

vitro. Antibodi terhadap p85 α dan p110 secara keseluruhan mampu berikatan secara spesifik dan menghambat aktivitas enzim tersebut pada *GRC + LR73 cells* (McIlroy, 1997). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat respon imunologis tubuh terhadap protein p85 α tersebut yang menunjukkan bahwa *regulatory subunit* p85 α merupakan target vaksinasi yang menjanjikan.

Salah satu permasalahan dalam metode vaksinasi yang masih menjadi perdebatan hingga saat ini adalah efektivitas antibodi yang dihasilkan dari induksi vaksin dalam mengikat antigen intraselular seperti p85 α . Berbagai penelitian mengenai induksi antibodi dan vaksinasi yang telah berkembang lebih banyak terbatas pada antigen maupun patogen ekstraselular. Namun demikian penelitian terbaru menunjukkan bahwa antibodi terbukti juga berperan dalam mekanisme imunitas intraselular. Penelitian oleh Disis (2004) menunjukkan bahwa vaksinasi menggunakan *HER-2/neu intracellular domain protein* terbukti mampu meningkatkan kadar antibodi terhadap protein tersebut pada pasien dengan *HER-2/neu-overexpressing breast and ovariancancers*. Antibodi yang dihasilkan terbukti mampu berikatan secara spesifik pada protein *HER-2/neu* yang diekspresikan oleh *human breast cancer cell lineSKBR3* (Disis, 2004). Penelitian lain oleh Douglas (2013) menunjukkan bahwa protein *heterogenous nuclear ribonucleoprotein A1* (hnRNP A1) mampu menginduksi pembentukan autoantibodi yang diduga berperan pada patogenesis penyakit autoimun *multiple sclerosis* (MS). Antibodi IgG yang dihasilkan mampu melakukan penetrasi ke dalam sel saraf dan menyebabkan redistribusi dari protein hnRNP A1. Mekanisme ini dipercaya terjadi melalui endositosis yang di mediasi oleh *clathrin* yang terdapat pada permukaan sel (Douglas, 2013). Selain itu, beberapa penelitian juga membuktikan bahwa sel-sel tubuh mengekspresikan reseptor IgG

pada bagian sitoplasma, *tripartite motif containing 21* (TRIM21) yang mampu mengikat antibodi dengan afinitas yang lebih tinggi dibandingkan reseptor IgG lainnya dalam tubuh. Ikatan yang terjadi menyebabkan perekrutan antibodi IgG ke dalam sitosol dan menginduksi degradasi antigen target melalui ubiquitinasi (Rhodes, 2007; Mallery, 2010).

