

BAB 2

Tinjauan Pustaka

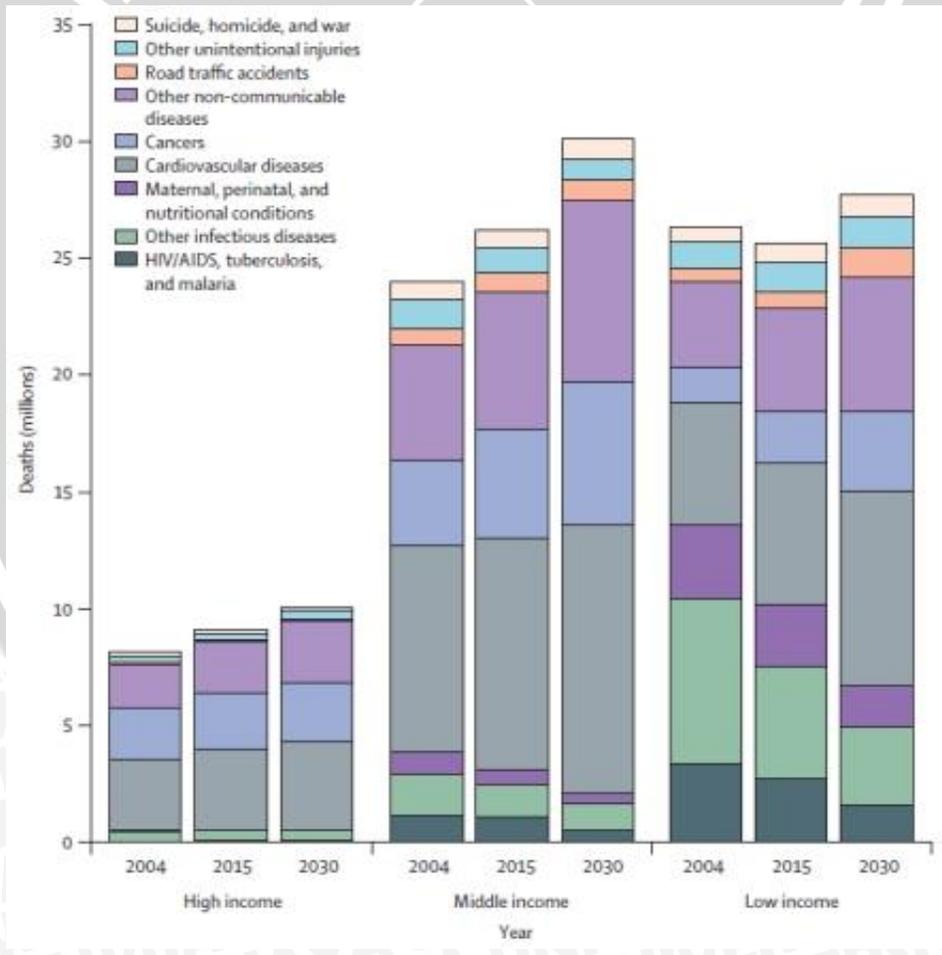
2.1 Definisi Aterosklerosis

Aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani *athera* yang berarti bubur dan *sclerosis* yang berarti pengerasan, yang dimaksud disini adalah terbentuknya bercak seperti bubur yang terdiri dari penumpukan lemak kolesterol pada lapisan intima lumen pembuluh darah. Aterosklerosis adalah sebuah proses kompleks progresif yang merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri. Aterosklerosis melibatkan berbagai macam sel dan produk molekuler yang nantinya akan berujung pada pembentukan lesi di arteri yang disebut dengan plak atheroma. Plak ini terdiri dari kolesterol, lemak-lemak lain, dan sel-sel inflamasi yang berasal dari dinding arteri. Progresifitas dari plak ini dapat menyebabkan penyempitan dinding arteri sehingga dapat muncul gejala-gejala akibat penurunan aliran darah seperti contohnya angina dan rasa sakit di kaki (klaudikasio). Selain itu, plak atherosclerosis juga terkadang bisa menjadi tidak stabil dan mengalami rupture, menyebabkan terjadinya serangan jantung dan stroke hingga kematian (Lumongga, 2007).

2.2 Epidemiologi

Di Amerika Serikat dan banyak negara barat, aterosklerosis menjadi penyebab kematian paling banyak. Hal ini diduga dikarenakan perubahan pola makan dan kurangnya aktifitas fisik. Pada tahun 2005, total kematian akibat penyakit kardiovaskuler (terutama penyakit jantung koroner, stroke, dan penyakit jantung rematik) meningkat secara global dari menjadi 17,5 juta dari awalnya 14,4 juta pada tahun 1990. Dari angka tersebut, 7,6 juta terjadi akibat penyakit jantung koroner dan 5,7 juta akibat stroke. Lebih dari 80% dari angka kematian tersebut terjadi di negara dengan pendapatan rendah dan menengah. WHO memperkirakan pada tahun 2015 akan terjadi sekitar 20 juta kematian pertahun akibat penyakit kardiovaskuler, itu berarti 30% dari total kematian di seluruh dunia, sedangkan pada tahun 2030 angka tersebut akan meningkat menjadi 23,3 juta orang pertahun. Perkiraan perubahan

angka kematian dan pergeseran dari penyakit infeksi ke penyakit kronis beberapa dekade kedepan dijelaskan melalui gambar 1. Pada tahun 2030, peneliti memperkirakan angka kematian akibat *non-communicable disease* akan mencapai lebih dari tiga perempat dari total kematian diseluruh dunia. Penyakit kardiovaskuler sendiri akan lebih bertanggung jawab sebagai penyebab kematian di negara-negara dengan pendapatan rendah jika dibandingkan dengan angka kematian akibat penyakit-penyakit infeksi (termasuk HIV/AIDS, tuberculosis, dan malaria), kondisi-kondisi maternal dan perinatal, maupun gangguan nutrisi bila dijumlahkan. Hal ini menjadikan penyakit kardiovaskuler sebagai penyebab terbesar kematian di dunia saat ini dan mungkin untuk beberapa waktu kedepan (Fuster and Kelly, 2010)



Grafik 2.1. Perkiraan Angka Kematian Global Berdasarkan Penyebab. (Beaglehole and Bonita, 2008)

2.3 Faktor Resiko

Aterosklerosis merupakan suatu proses multifaktorial yang melibatkan banyak sekali faktor-faktor yang berperan. Penyebab pasti dari aterosklerosis sampai saat ini masih belum diketahui, namun diketahui terdapat sejumlah factor resiko yang dapat menimbulkan aterosklerosis. Diantaranya yaitu faktor resiko mayor yang terdiri dari hiperkolesterolemia, *diabetes mellitus*, hipertensi, dan kebiasaan merokok. Selain itu terdapat pula faktor resiko minor yaitu kurangnya gerak fisik / olahraga yang teratur, pemakaian kontrasepsi oral, hiperuricemia, obesitas, dan diet tinggi karbohidrat. (Lumongga, 2007). Resiko terjadinya aterosklerosis pada seseorang dapat dihitung menggunakan skor Framingham seperti pada gambar 2, namun berdasarkan *International Symposium on Atherosclerosis* pada tahun 2009, didapatkan cara scoring yang lebih lengkap dan representatif menggunakan skor Reynolds yang dapat dilihat di gambar 3 (International Atherosclerosis Society, 2009).

CHD Risk Assessment-- Framingham Points

- Gender, Age, Smoking, Systolic Blood Pressure, Total Cholesterol, HDL Cholesterol – Risk Prediction for CHD and Stroke - Point System, Also Continuous Analysis
 - If fasting can calculate:
LDL cholesterol= TC-(TG/5 + HDL Cholesterol)
 - Diabetes is automatically high risk
 - 10 Year CHD Risk and LDL C Goals:

<10%:	< 160 mg/dl
10-20%:	< 130 mg/dl
>20% (or CVD, PVD, or Diabetes):	< 100mg/dl
Optional	< 70 mg/dl
- NCEP, ATP III, IV, AHA, NIH
Europeans and Canadians also recommend :
TC/HDL < 4.0 in high risk or CHD patients

Gambar 2.1. Framingham Risk Assesment (*International Atherosclerosis Society, 2009*)

Framingham Risk Score	Best Fitting Model A	Simplified Model B Reynolds Risk Score
Age	Age	Age
Blood Pressure	Blood Pressure	Blood Pressure
Diabetes	HbA1c% if Diabetic	HbA1c% if Diabetic
Smoking	Smoking	Smoking
Total cholesterol	Apo-B	Total cholesterol
HDL cholesterol	Apo-A	HDL cholesterol
	hsCRP	hsCRP
	Parental history MI	Parental history MI
	Lp(a) if apo-B>100	

Gambar 2.2. Reynolds risk score (International Atherosclerosis Society, 2009)

2.4 Patogenesis

Aterosklerosis merupakan penyakit imun, inflamasi, dan fibroproliferatif dari arteri besar dan sedang. Sel endotel, leukosit, dan otot polos intima memegang peranan penting dalam proses pathogenesis dari penyakit ini. Lesi aterosklerosis mulai berkembang dari endotel yang masih intak, namun sudah mulai teraktivasi dan mengalami disfungsi. Molekul plasma dan partikel lipoprotein kemudian akan masuk melalui daerah endotel yang mengalami disfungsi tadi menuju ke subendotel, dimana lipoprotein atherogenik nantinya akan disimpan dan dimodifikasi (contohnya dioksidasi) dan menjadi sitotoksik, proinflamasi, kemotaksis dan proatherogenik. Mekanisme yang bertanggung jawab dalam modifikasi LDL hingga menjadi atherogenik masih belum diketahui, namun bisa melibatkan oksidasi dari LDL oleh myeloperoksidase, lipoksigenase, dan/atau *nitric oxide synthase (NOS)*. Sel endotel kemudian akan teraktivasi oleh stimulan proinflamasi dan atherogenik menyebabkan ekspresi dari molekul-molekul adesi, seperti utamanya *vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM)* menjadi meningkat. Hal ini menyebabkan *recruitment* dari sel-sel monosit dan sel T. Selain VCAM-1, molekul-molekul adesi lain seperti *intercellular adhesion molecules-1*, E-selektin, dan P-selektin diperkirakan juga berkontribusi dalam proses *recruitment* sel-sel di aliran darah ke dalam lesi aterosklerosis.

Kemoatraktan (kemotaksis sitokin) juga berperan dalam progresifitas lesi. Molekul-moleku adhesi saja tidak akan cukup untuk membawa sel-sel dalam aliran

darah untuk sampai ke dalam lesi, oleh karena itu dibutuhkan juga migrasi transendotelial yang diperantarai kemokin seperti ox-LDL dan MCP-1. MCP-1 ini mengalami overekspresi akibat akumulasi makrofag, disfungsi endotel dan otot polos. MCP-1 memiliki kemampuan untuk menarik monosit dan sel T secara poten. Sitokin (contohnya IL-8) juga berpengaruh dalam proses ini. Di dalam intima, monosit kemudian akan berdiferensiasi menjadi makrofag dan menginternalisasi lipoprotein atherogenik via reseptor *scavenger*. Karena suplai dari lipoprotein atherogenik yang terus menerus menyebabkan makrofag akan terus memakan lipoprotein hingga mati. Hal ini dikarenakan reseptor *scavenger* tidak memiliki mekanisme *down-regulation* seperti yang dimiliki reseptor LDL. Kematian makrofag akibat apoptosis dan nekrosis inilah yang berkontribusi terhadap terbentuknya inti yang kaya lemak di dalam plak atherosklerotik. Aktivitas sel-sel imun juga turut berperan dalam memodulasi progresifitas dari aterosklerosis. Terdapat beberapa antigen yang dipercaya turut berperan dalam aktivasi sistem imun pada aterosklerosis. Antigen-antigen tersebut antara lain oxLDL, *heat-shock proteins*, *beta-2-glycoprotein 1*, dan antigen mikroba. Antigen-antigen ini nantinya akan dikenali oleh sel T dan menyebabkan respon imun.

Proses fibroproliferatif merupakan proses yang terjadi dalam aterosklerosis fase lanjut. Terjadi migrasi dari sel otot polos dan kolagen yang merupakan respon untuk reparasi dari kerusakan pada lesi. Jika aterosklerosis berlangsung selama beberapa tahun, respon perbaikan ini menjadi terlalu berlebihan dan menyebabkan lumen pembuluh darah menjadi menyempit, menurunkan aliran darah, dan dapat menyebabkan iskemia. Namun, adanya proses perbaikan ini sebenarnya juga memberikan keuntungan, karena dengan adanya kolagen dan otot polos menyebabkan plak menjadi stabil. Pada beberapa plak dimana terjadi kekurangan otot polos akibat apoptosis, dapat terjadi komplikasi yang lebih berbahaya yaitu rupture dan thrombosis (Falk, 2006)

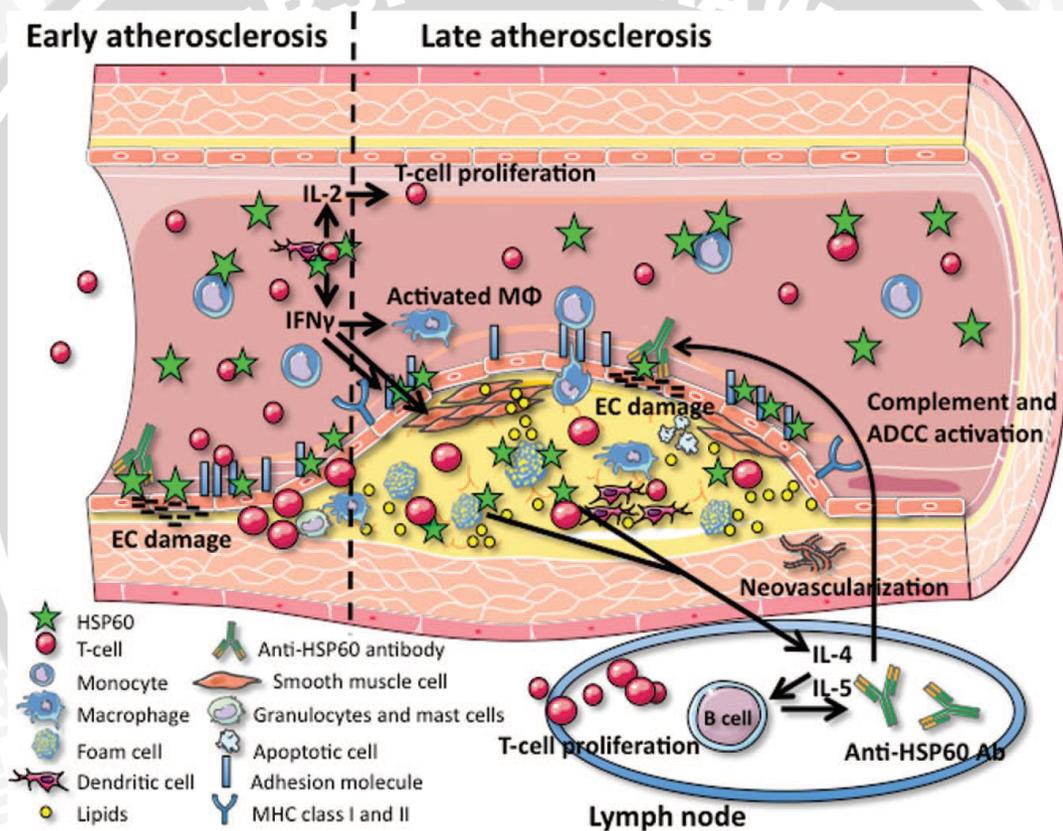
2.5 Heat Shock Protein60 (hsp60)

Heat shock protein adalah grup protein yang diinduksi oleh adanya shock temperatur. Dalam kondisi fisiologis, hsp memiliki peranan penting dalam transportasi dan *fold*ing protein. Dalam kondisi stress, hsp bisa bertindak sebagai *chaperones* yang

mencegah denaturasi dan hilangnya fungsi protein. Sesuai dengan namanya, ekspresi hsp pertama kali diketahui sebagai respon terhadap kenaikan temperatur (Grundtman, 2012). Ekspresi hsp di sel endotel dan makrofag dipengaruhi oleh adanya lipoprotein teroksidasi, sitokin dan *fluid shear stress*. Dalam kondisi-kondisi tersebut, hsp memperbaiki atau mencegah degradasi dan denaturasi protein serta meningkatkan kemampuan sel untuk bertahan dari stimulan yang membahayakan. Beberapa hsp seperti contohnya hsp60 juga terlibat dalam penyakit inflamasi, termasuk aterosklerosis. Hal ini kemungkinan dikarenakan ekspresi hsp yang meningkat pada sel yang terpapar oleh mediator-mediator proinflamasi. (Puijvilde, 2007).

Patogenesis aterosklerosis umumnya diawali oleh oksidasi lipoprotein jenis LDL (*Low Density Lipoprotein*). Namun dalam studi Khauzik Mandal, 2005, hsp60 berperan penting dalam pembentukan plak pada atherosclerosis. hsp60 mempengaruhi pengeluaran mediator proinflamatori pada adiposit tikus. Regulasi dari hsp60 pada adiposit tikus mengeluarkan sinyal-sinyal yang mengeluarkan sitokin-sitokin. Pada adiposit diperlihatkan hsp60 yang tinggi menghasilkan preadiposit dan sel otot lurik yang distimuli oleh sitokin dan aktivasi TRL-4. Stimulasi adiposit hsp60 mensekresikan factor- α nekrosis tumor, interleukin(IL)-6, dan IL-8 (Wellen KE, 2005). hsp60 diperoleh dalam kadar yang sangat meningkat pada orang yang obesitas. hsp60 telah terbukti memicu respon imun bawaan dan adaptif yang mengawali tahap inflamasi atherosclerosis yang reversible. Secara structural, hsp60 diekspresikan dengan sangat tinggi oleh sel prokariotik dan sel eukariotik pada kondisi stress yang tinggi. Pada percobaan *in vitro* dan *in vivo* yang menunjukkan bahwa pada aterosklerosis, faktor resiko klasik dapat bertindak sebagai *stress endothel* yang memprovokasi ekspresi simultan molekul adhesi dan hsp60 di mitokondria, di sitoplasma dan pada permukaan sel, dimana itu sebagai sinyal yang berbahaya untuk reaksi imun selular dan humoral (Grundmant, 2012). hsp60 bisa beraksi agonis ekstraseluler dan menginduksi TNF- α dan matriks metalloproteinase-9 yang diproduksi oleh makrofag. hsp60 mampu mengaktifkan sel endothel, sel otot polos dan monosit. hsp60 juga mampu menginduksi E-selectin, intracellular adhesion molecule-1, dan molekul vascular 1 yang diekspresikan pada sel endothel. hsp60 juga menginduksi IL-

6 oleh sel endothel, sel otot polos, dan makrofag yang kemudian akan menginduksi terjadinya inflamasi. hsp60 memberikan sinyal yang berbahaya pada munitas imun tubuh sehingga terjadilah respons proinflamasi meliputi produksi TNF α , IL12, dan IL 15. Pada kadar rendah, TNF bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut. Pada kadar sedang, TNF berperan dalam menginduksi inflamasi sistemik. IL-12 merangsang produksi IFN- γ oleh sel NK dan sel T, diferensiasi sel T CD4⁺ menjadi sel Th1 yang memproduksi IFN- γ . Oleh karena itu hsp60 mampu mengaktifkan fungsi sel imun hingga memicu atherogenesis.



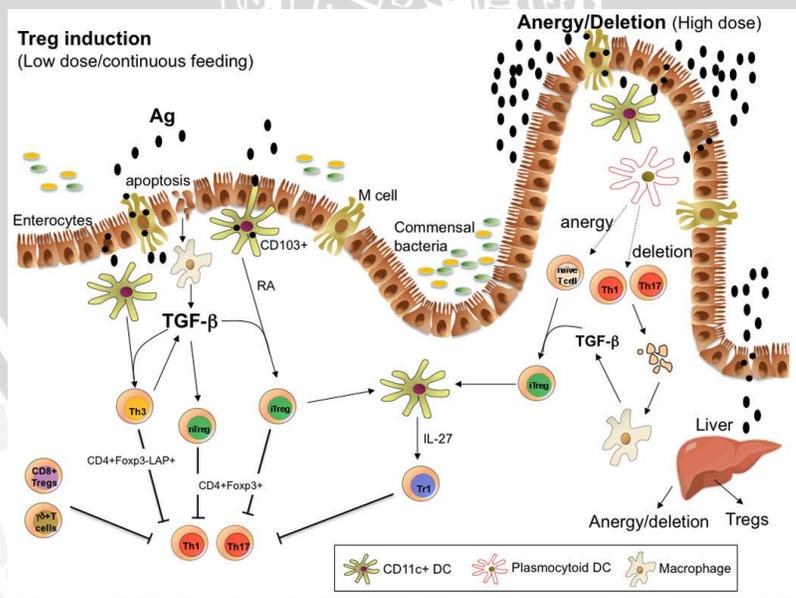
Gambar 2.3. Skema Overview Ekspresi dan Fungsi hsp-60 dalam Aterosklerosis. (Gruntzman C et al, 2012)

2.6 Heat Shock Protein65 *Mycobacterium tuberculosis*

Heat Shock Proteins (hsps) adalah kelompok dari protein yang bersifat homolog pada spesies yang berbeda, misalnya bakteri dan manusia. Hsp60 pada manusia memiliki kemiripan dengan hsp65 pada *Mycobacterium tuberculosis* sehingga bahkan antibodi spesifik hsp65 *Mycobacterium tuberculosis* dapat berikatan dengan hsp60

pada manusia (Harats *et al.*, 2002). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pada kelinci normokolesterolemia yang diimunisasi dengan menggunakan rekombinan dari hsp65 dapat menimbulkan antherosclerosis pada pemberian diet normal. Pada studi tersebut juga menunjukkan adanya peningkatan ekspresi hsp60 dari lesi atheroma. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian hsp65 *Mycobacterium tuberculosis* mampu menginduksi terjadinya respon imun terhadap hsp60 hingga berujung pada timbulnya manifestasi berupa atherosclerosis. Pada atherosclerosis, sel otot polos, makrofag, dan endothel menunjukkan hsp pada jumlah yang tinggi. hsp60 pada manusia menunjukkan kemampuan dalam menginduksi TNF- α dan MMP-9. Selain itu hsp60 mampu menginduksi E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, dan produksi IL-6 pada endothel yang menunjukkan bahwa hsp60 memiliki kemampuan menginduksi inflamasi. Pada pasien dengan atherosclerosis, antibody spesifik hsp60 dapat dideteksi di serum, selain itu koloni sel T yang spesifik hsp60 dapat ditemukan di plak. Hal-hal diatas menunjukkan bahwa hsp60 berperan dalam proses autoimun pada atherosclerosis dan berpotensi untuk dikendalikan melalui sel T regulator (Puijvelde *et al.*, 2007).

2.7 Induksi Toleransi Mukosa



Gambar 2.4. Mekanisme Induksi Toleransi Mukosa. (Weiner LH *et al* 2005)

Mekanisme toleransi mukosa ditunjukkan pada gambar 5, dimana antigen melewati mukosa *Nasal associated limphoid tissue* (NALT) dimana antigen dapat melewati sel M kemudian ditangkap oleh Dendritic Cells (DC). DC mampu menginduksi perubahan Foxp3 menjadi sel T regulator yang juga dipengaruhi oleh TGF- β dan IL-10. Makrofag juga mengalami stimulasi untuk memproduksi TGF- β setelah mengambil sel epitel dan sel T yang mengalami apoptosis. Antigen pada dosis rendah akan menginduksi toleransi melalui sel T regulator, sedangkan pada dosis tinggi akan menginduksi terjadinya *anergy* (Weiner LH *et al* 2005).

Sel T regulator adalah limfosit T yang berperan penting dalam memelihara toleransi tubuh dan mencegah terjadinya sistem autoimun tubuh. Selain itu sel T regulator juga berperan penting dalam menghambat aktivasi dan proliferasi sel T efektor pada limfoid serta menghambat migrasi sel T menuju ke tempat inflamasi sehingga proses atherosclerosis pun tidak terjadi, karena aterosklerosis sendiri adalah penyakit yang terjadi melalui peningkatan aktivitas respon imun. (A. Schiopu *et al* 2009)

Sel T regulator natural berkembang dalam timus dan berkembang menjadi sel T regulator adaptif di dalam perifer. Sel T diaktifkan oleh APC dan berdiferensiasi menjadi sel Th1 kemudian bermigrasi pada lesi atherosclerosis dan mensekresi IFN α yang berperan penting sebagai inisiasi plak dan progresi plak sehingga terjadiah atherosclerosis. Sel T regulator mensupresi respons proatherogenik dengan mengeblok sel T naïf atau aktivasi dari sel Th1. (Israel Gotsman *et al*, 2007) Supresi dari sel T regulator juga dengan mensekresi TGF- β yang merupakan sel Th3 berada di Peyer's Patches dan nodus lymph mesentrika serta memproduksi IL-10. (A. Schiopu *et al*, 2009) Selain itu sel T regulator juga memproduksi CD4⁺ dan CD25⁺ yang menghambat respons imun melalui kontak antar sel. (Ziad Mallat *et al* 2003) Dengan demikian, adanya disfungsi dari sel T regulator menyebabkan terbentuknya lesi atherosclerosis bertambah parah tanpa ada yang menghambatnya. (Adi Mor *et al* 2007)

Atheroprotektif dari sel T regulator dapat diinduksi dengan adanya administrasi oral dari hsp60 dan dihambat oleh adanya leptin yang diproduksi oleh sel adiposit sehingga sel T regulator pada jaringan limfoid akan meningkat dengan adanya hsp60

oral. (Israel Gotsman *et al*, 2007) Induksi toleransi mukosa dapat mengarahkan pada sel Th1 dan sel Th2 atau aktivasi sel T regulator tergantung pada dosis aministrasi dari antigen.

2.8 Akumulasi Sel Foam

Sel foam adalah suatu bentukan sel dengan inti kaya lemak yang berasal dari makrofag, sel-sel otot polos dan sel-sel vascular lain. Pembentukan sel foam diduga diinduksi oleh *Low Density Lipoprotein (LDL)*, termasuk oxLDL atau *minimally modified LDL (mmLDL)*. Banyak faktor yang berperan dalam pembentukan sel foam selain LDL, seperti adanya reseptor *scavenger*, *peroxisome proliferator-activated receptor*, eicosanoid, dll. (Shashkin *et al.*, 2005). Studi menunjukkan pemberian induksi aterosklerosis dengan menggunakan hsp65 dapat meningkatkan akumulasi sel foam pada kelinci yang telah diberi diet atherogenik. Pada studi tersebut, kelinci yang diberi induksi hsp65 menunjukkan tingkat progresifitas dan akumulasi sel foam yang lebih besar daripada kelinci yang hanya diberikan diet atherogenik saja. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian induksi hsp65 dapat mempengaruhi proses pembentukan sel foam sehingga akumulasi sel foam dapat dijadikan sebagai salah satu indikator untuk mengetahui terjadinya penurunan proses autoimun dan progresifitas penyakit pada aterosklerosis. (George *et al.*, 1999)