

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi

Aterosklerosis adalah kondisi gangguan metabolisme lemak yang menyebabkan terjadinya deposisi lipoprotein pada dinding arteri dengan melibatkan respon peradangan sehingga terjadi penebalan dinding pembuluh darah. Adanya luka pada endotel akan menyebabkan perubahan pada dinding pembuluh arteri dan akan mengakibatkan pembentukan lesi aterosklerosis (Bajestani and Moharban, 2013). Lesi aterosklerosis berkembang akibat adanya rangsangan peradangan yang menghasilkan faktor pertumbuhan dan sitokin, yang selanjutnya menstimulasi migrasi sel otot polos vaskuler dari tunika media ke dalam tunika intima yang akan menyebabkan kekakuan dinding pembuluh darah sehingga dapat mempersempit lumen pembuluh darah. Lesi atau plak aterosklerosis berkembang menjadi semakin progresif akan menyebabkan terjadinya penyempitan lumen pembuluh darah yang dapat menimbulkan manifestasi berupa penyakit kardiovaskuler (Badimon and Vilahur, 2014; Guyton and Hall, 2008).

Disfungsi endotel berkaitan dengan meningkatnya adesi leukosit dan permeabilitas endotel terhadap lipoprotein serta komponen plasma lainnya. Hal tersebut akan diikuti dengan akumulasi jumlah leukosit yang teraktivasi ke dalam ruang subendotel yang akhirnya akan dikenal sebagai lesi aterosklerosis berupa lapisan jaringan lemak atau *fatty streak*. Komponen dari sistem imun adaptif dan innate seperti sel dendritik, limfosit B dan T, makrofag, reseptor *Toll-like*,

immunoglobulin, sitokin inflamasi dan komplemen merupakan komponen penting dari lesi aterosklerosis (Bajestani and Moharban, 2013; Chyu and Shah, 2014). Lesi aterosklerosis terdiri dari tiga komponen utama. Komponen pertama adalah komponen seluler yang terdiri dari sel otot polos dan makrofag. Komponen kedua adalah jaringan ikat dan lemak di ekstraseluler. Sedangkan komponen ketiga adalah lemak intraseluler yang terakumulasi pada makrofag atau yang disebut dengan sel busa (Crowther, 2005).

2.1.2 Etiologi dan Epidemiologi

Aterosklerosis termasuk penyebab penyakit kardiovaskuler yang merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia. Data di Indonesia, penyakit kardiovaskuler masih menjadi penyebab kematian nomor satu dan jumlah kejadiannya terus meningkat dari tahun ke tahun. Indonesia memiliki angka kematian sebanyak 50% yang mengarah pada penyakit kardiovaskuler akibat aterosklerosis (Depkes RI, 2010). Pada tahun 2015, dalam *Public Library of Science Medicine* (PLoS Medicine), penyakit yang menjadi pembunuh nomor satu di dunia adalah penyakit yang disebabkan oleh rokok dan berperan atas 10% kematian di seluruh dunia, dan merokok merupakan salah satu faktor risiko terjadinya aterosklerosis (Mathers and Loncar, 2006).

Diperkirakan sekitar 17,3 juta orang (30% dari jumlah seluruh kematian di dunia) meninggal karena aterosklerosis, di mana tercatat sebanyak 7,3 juta meninggal akibat penyakit jantung koroner dan 6,2 juta meninggal akibat stroke. Pada tahun 2030 hampir sekitar 23,3 juta orang akan meninggal karena aterosklerosis dengan peningkatan jumlah kematian yang paling besar terjadi di Asia Tenggara dan diestimasikan akan tetap menjadi penyakit utama penyebab kematian di dunia (WHO, 2013). Menurut Depkes Indonesia tahun 2010,

Indonesia memiliki angka prevalensi aterosklerosis hampir sebanyak 50%. Prevalensi penyakit aterosklerosis yang meningkat juga berhubungan dengan meningkatnya faktor risiko kegemukan selain merokok. Obesitas merupakan kejadian epidemik yang berkembang dan dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler (Saldana *et al.*, 2014).

Mengutip data Riset Kesehatan Dasar Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada 2013, secara nasional masalah kegemukan pada anak usia 5-12 tahun masih tinggi, yakni 18,8 persen. Sedangkan prevalensi gemuk pada remaja usia 13-15 tahun sebesar 10,8 persen. Menurut data WHO, lebih dari 1,4 miliar orang dewasa memiliki berat badan berlebih pada tahun 2008, sekitar 42 juta anak berusia di bawah 5 tahun memiliki berat badan berlebih pada tahun 2013 dan 2,8 juta orang dewasa meninggal tiap tahun karena obesitas dan berat berlebih yang menyebabkan munculnya berbagai penyakit kronis seperti diabetes dan penyakit jantung (WHO, 2014). Menurut studi yang dilakukan Bridger (2009), menyatakan peningkatan penderita aterosklerosis pada anak disebabkan oleh kebiasaan mengonsumsi makanan berlemak dan berisiko menderita serangan jantung di usia 35 tahun (Bridger, 2009).

2.1.3 Faktor Risiko

Beberapa faktor yang berperan dalam terjadinya aterosklerosis adalah usia, jenis kelamin, rokok, diabetes melitus, hipertensi, dislipidemia, obesitas dan faktor genetik.

1. Usia dan jenis kelamin

Risiko penyakit aterosklerosis meliputi penyakit jantung koroner dan stroke adalah lebih rendah terjadi pada wanita yang lebih muda dibandingkan pria dengan usia yang sama, namun terjadi peningkatan

risiko pada wanita setelah menopause (Akishita, 2004). Transisi menopause berkaitan dengan buruknya profil risiko penyakit kardiovaskuler. Risiko terkena penyakit kardiovaskuler secara klinis lebih umum terjadi pada wanita yang berusia lebih dari 50 tahun terutama pada wanita *post-menopause* dibandingkan pada pria serta wanita memiliki ekspresi lebih besar terhadap faktor risiko kardiovaskuler. Estrogen dinyatakan dapat menstimulasi aktivitas reseptor LDL hepatic dan meningkatkan *uptake* LDL oleh hati sehingga terjadi penurunan kadar LDL plasma. Selain itu, estrogen menghambat konversi *intermediate density lipoprotein* (IDL) menjadi *high density lipoprotein* (HDL) dan *uptake* HDL oleh hati sehingga terjadi penurunan kadar LDL plasma dan peningkatan kadar HDL plasma. Estrogen juga dinyatakan dapat menghambat oksidasi LDL. Pada wanita *post-menopause*, tidak terjadi produksi estrogen sehingga terjadi peningkatan kadar LDL dan penurunan HDL yang menjadi risiko terjadinya aterosklerosis (Maas and Appelman, 2010).

2. Rokok

Merokok berperan pada perkembangan semua fase aterosklerosis mulai dari disfungsi endotel hingga akhirnya terbentuk trombus. Paparan asap rokok dari perokok aktif maupun perokok pasif dapat menyebabkan terjadinya penurunan fungsi vasodilator. Paparan asap rokok akan merusak *endothelium-dependent vasodilation* (EDV) di dalam makrovaskuler dan arteri brankialis di dalam mikrovaskuler. Komponen yang terdapat dalam rokok seperti nikotin diketahui dapat menurunkan availabilitas *nitric oxide* (NO) di mana NO bertanggungjawab sebagai

fungsi vasodilator pada endotel. Asap rokok juga menyebabkan aktivasi molekul pro-aterogenik sehingga terjadi perubahan dalam interaksi sel-sel. Perokok memiliki kadar serum kolesterol, trigliserida dan *low-density lipoprotein* (LDL) yang lebih tinggi secara signifikan, sedangkan kadar *high-density lipoprotein* (HDL) lebih rendah pada perokok dibandingkan dengan yang bukan perokok. Merokok sangat berperan dalam meningkatkan radikal bebas maupun stres oksidatif yang merupakan langkah penting untuk perkembangan aterosklerosis dan mengawali terjadinya disfungsi kardiovaskuler (Ambrose and Barua, 2004; Yatsuya and Folsom, 2010).

3. Diabetes melitus

Aterosklerosis dapat diperburuk oleh adanya kondisi DM tipe 1 maupun DM tipe 2. Diabetes ditandai dengan adanya hiperglikemia. Sindrom metabolik juga terjadi pada orang dengan diabetes tipe 1 maupun tipe 2 di mana kehadiran diabetes dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler (Chait and Bornfeldt, 2009). Pada DM tipe 1 terjadi peningkatan mediator aktivasi sel endotel seperti *tumor necrosis factor* α (TNF α), interleukin-1 β (IL-1 β), toksin bakteri (lipopolisakarida) dan endogen (oxLDL), vasokonstriktor (angiotensin II, endothelin-1) dan protein matriks ekstraseluler (fibronektin, fibrinogen). Perkembangan plak aterosklerosis membutuhkan aktivasi sel endotel yang melibatkan peningkatan ekspresi molekul adhesi proinflamasi dan kemokin (Funk *et al.*, 2012). Sedangkan pada DM tipe 2, terjadi pelepasan asam lemak jenuh yang dihasilkan oleh adiposit, seperti palmitat, menstimulasi pelepasan sitokin dari makrofag sehingga terjadi peradangan.

Peningkatan glukosa dan lipid, seperti asam lemak jenuh atau lipoprotein yang termodifikasi dapat meningkatkan peradangan, aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler (Mazzone *et al.*, 2008).

4. Dislipidemia dan Obesitas

Obesitas dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler termasuk perubahan struktur vaskuler seperti arteri koroner dan aorta. Obesitas juga memiliki hubungan yang kuat dengan dislipidemia aterogenik. Berbagai macam mediator proinflamasi yang berasosiasi dengan disfungsi kardiometabolik juga dipengaruhi oleh tingkat obesitas, sehingga dapat menginduksi pelepasan beberapa sitokin dan marker peradangan yang berperan dalam patogenesis penyakit aterosklerosis (Raj, 2012).

Dislipidemia merupakan faktor risiko utama aterosklerosis. Dislipidemia aterogenik dapat ditandai dengan adanya 3 abnormalitas lipoprotein meliputi peningkatan LDL dan partikel LDL kecil serta penurunan HDL. Tingginya jumlah asam lemak dan hiperglikemia menunjukkan adanya peningkatan jumlah oksidasi fosfolipid juga protein. Stres oksidatif akan menyebabkan penurunan NO hingga terjadinya disfungsi endotel (Unachukwu and Ofori, 2012).

5. Hipertensi

Hipertensi merupakan faktor risiko pada perkembangan aterosklerosis dan dapat meningkatkan insiden penyakit vaskuler perifer, penyakit serebrovaskuler, penyakit ginjal kronik dan penyakit jantung koroner. Salah satu faktor utama dalam perkembangan aterosklerosis pada pasien hipertensi yaitu stres mekanik meliputi stres *shear*, tekanan

transmural, dan stress dinding. Hal tersebut dapat menginduksi inflamasi vaskuler dan stress oksidatif sehingga menyebabkan hiperviskositas dan disfungsi endotel (Picariello *et al.*, 2011).

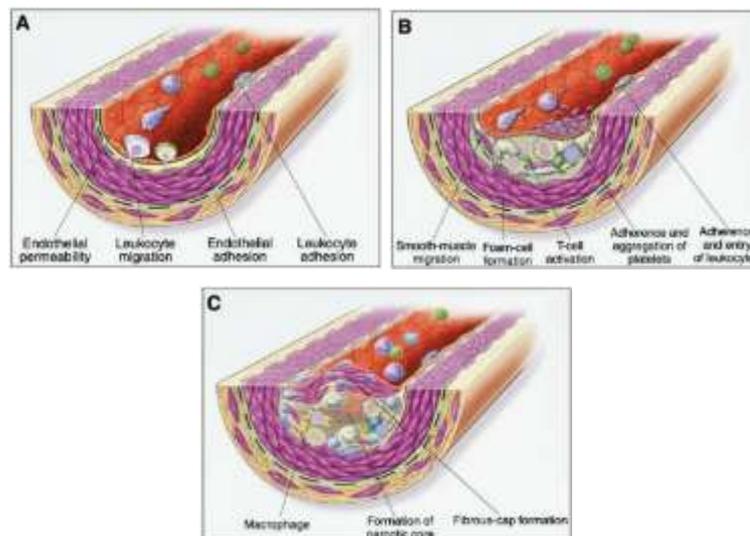
6. Faktor genetik

Faktor genetik diperkirakan memiliki faktor risiko untuk penyakit kardiovaskuler sebesar 50%. Aterosklerosis telah banyak dievaluasi dalam tikus dengan apolipoprotein E *knockout* dan hasilnya menunjukkan adanya indikasi genetik yang kuat untuk aterosklerosis. Dengan menggunakan pendekatan gen kandidat, banyak penelitian telah menggunakan gen yang terlibat dalam faktor risiko untuk aterosklerosis, misalnya dislipidemia. Gen yang terlibat dalam metabolisme lipid dan juga sering dipelajari adalah reseptor LDL, *cholesterol ester transport protein* (CETP), apolipoprotein (A-5, B, C-III atau E), lipase hepatic, lipoprotein lipase [17], reseptor α peroksisom proliferasi, ABCA1, NF κ B, sitokrom P450 (CYP) dan lain-lain (Kolovou and Kolovou, 2014).

2.1.4 Patofisiologi

Proses pembentukan plak aterosklerosis mulai terjadi pada masa awal kehidupan. Lesi atau plak aterosklerosis dapat berkembang ketika terjadi akumulasi lipid, sel, dan komponen matriks seperti mineral, disertai dengan kerusakan struktur, perbaikan dan penebalan intima yang disebut sebagai deformitas dinding arteri (McGill, 2000).

Secara umum, proses terjadinya aterosklerosis dapat dilihat pada **Gambar 2.1**. Patofisiologi aterosklerosis merupakan suatu proses interaksi yang kompleks (Stocker *et al.*, 2004).

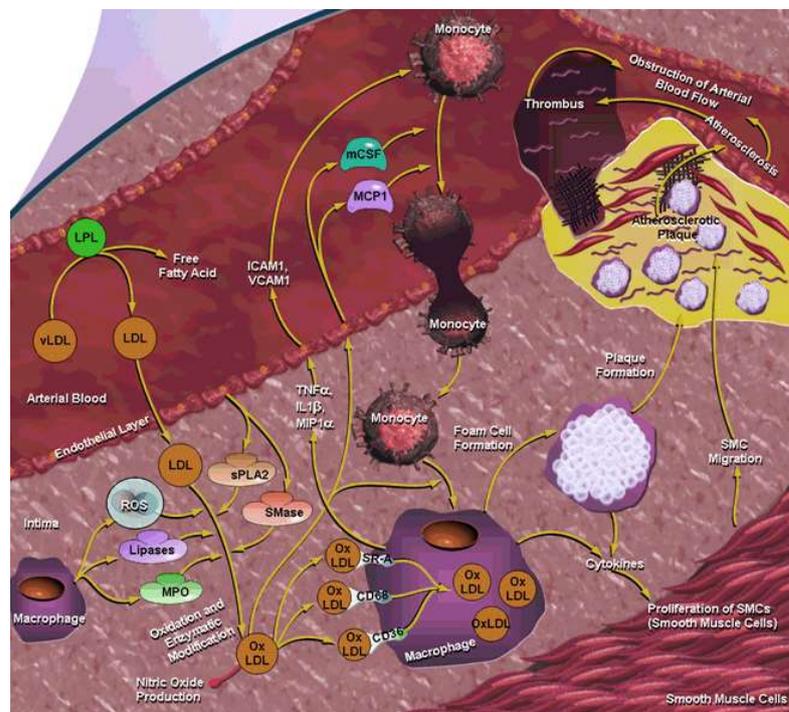


Gambar 2.1. Tahapan Perkembangan Aterosklerosis (Stocker *et al.*, 2004)

Keterangan: Tahap awal aterosklerosis dimulai dengan disfungsi atau kerusakan endotel (**A**) yang ditandai dengan peningkatan permeabilitas endotel dan deposisi *low-density lipoprotein* (LDL) ke dalam lapisan subendotel. Kemudian diikuti dengan transmigrasi dan adhesi leukosit melalui endotel, (**B**) Aterosklerosis tingkat *intermediate* ditandai dengan pembentukan sel busa dan respon peradangan termasuk aktivasi sel T, agregasi platelet dan leukosit ke dalam dinding arteri sepanjang dengan migrasi sel otot polos ke dalam intima. Akhirnya aterosklerosis (**C**) ditandai dengan akumulasi makrofag, pembentukan *fibrous cap*, dan nekrosis di dalam inti lesi.

Aterosklerosis diawali dengan oksidasi LDL. Mekanisme oksidasi LDL secara umum dapat dilihat pada **Gambar 2.2**. Proses oksidasi LDL terjadi di dalam subendotel arteri, di mana terdapat proteoglikan dan matriks intraseluler yang berfungsi meretensi LDL dan melindungi LDL dari plasma antioksidan (Collins *et al.*, 2009). Oksidasi LDL tidak terjadi di dalam sirkulasi karena adanya konsentrasi antioksidan yang tinggi dan akan dengan cepat dibersihkan oleh *reticuloendotelial* (RE) (Sinha, 2005). Mekanisme LDL teroksidasi (OxLDL) diperantarai oleh enzim-enzim *NADPH oxidase*, *peroxynitrite*, *xanthine oxidase*, *ceruloplasmin*, *lipoxygenase*, *myeloperoxidase*, *cytochrome P450*, dan *mitochondrial electron transport chain*, serta diperantarai juga oleh sumber utama radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh makrofag, sel otot polos, dan sel endotel di dalam lesi aterosklerosis (Sumual *et al.*, 2000). Proses peroksidasi lipid diawali dengan modifikasi *polyunsaturated*

fatty acid (PUFA) yang terdapat pada fosfolipid LDL yang selanjutnya menjadi *lipid hydroperoxide*. *Lipid hydroperoxide* selanjutnya akan mengalami degradasi menjadi fragmen-fragmen seperti *malondialdehyde* (MDA). MDA ini akan berinteraksi dengan derivat lysine dari proses degradasi Apolipoprotein B (ApoB) dan merupakan komponen protein dari LDL. Karena, interaksi inilah OxLDL dapat dikenali makrofag melalui *scavenger receptor* (SR) (Su, 2009).



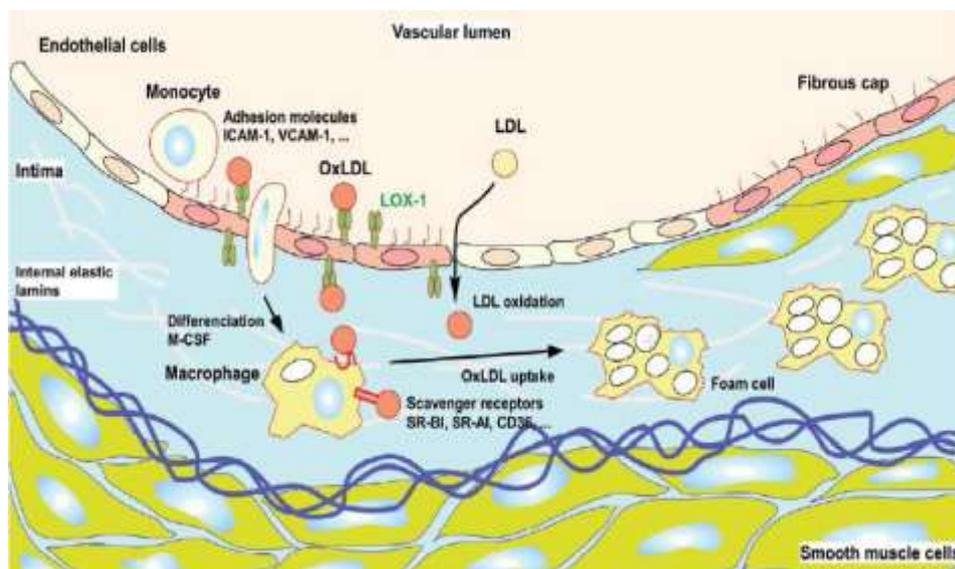
Gambar 2.2. Oksidasi LDL di Dalam Aterogenesis (Perrin *et al.*, 2001)

Keterangan: Salah satu langkah awal dalam pengembangan aterosklerosis adalah masuknya komponen LDL dari lumen arteri ke dinding arteri. LDL plasma diantar melintasi endotel dan akan terperangkap ke dalam ECM (Matriks ekstraseluler) dari ruang subendothelial sehingga mengalami modifikasi oksidatif untuk menghasilkan LDL yang teroksidasi dan agregat, disebut sebagai OxLDL (LDL teroksidasi). OxLDL diyakini termasuk bentuk LDL yang paling aterogenik. Adapun berbagai mediator seluler dan biokimia: ROS (*Reactive Oxygen Species*), enzim SMase (*Sphingomyelinase*), sPLA2 (*Secretory Phospholipase-2*), Lipase lainnya, dan MPO (*Myeloperoxidase*), telah menunjukkan perannya dalam pembentukan oksidasi LDL dan agregasi. Berbagai komponen dalam OxLDL mencakup Lipid hidroperoksida, Oksisterol, *Lysophosphatidylcholine*, dan Aldehida.

Selanjutnya, OxLDL kemudian berinteraksi dengan LOX-1 pada permukaan sel endotel yang menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel menyebabkan peningkatan ekspresi reseptor kemokin, penurunan produksi *nitric*

oxide (NO) dan disregulasi sitoskeletal sehingga terbentuklah mikrovaskuler sebagai jalur masuk monosit ke dalam jaringan (Wang *et al.*, 2012). Disfungsi endotel akan memudahkan adhesi monosit menuju sel endotel hingga migrasi ke subendotel. Monosit akan berubah menjadi makrofag apabila berada pada subendotel. Makrofag akan meng-*uptake* OxLDL melalui *scavenger reseptor*. Reseptor ini akan mengenali LDL yang sudah teroksidasi. Uptake OxLDL melalui *scavenger reseptor* akan memicu akumulasi lemak intraseluler di intima pembuluh darah yang akhirnya menjadi sel busa. Sel busa secara makroskopik dapat terlihat sebagai bercak lemak (*fatty streak*) yang merupakan lesi aterosklerotik paling awal. Sel busa mensekresi berbagai macam sitokin dan mediator inflamasi (Crowther, 2005; Price, 2005).

Sel busa yang teraktivasi akan melibatkan sel-sel peradangan sehingga memperparah disfungsi endotel serta proliferasi sel otot polos (Crowther, 2005). Proliferasi otot polos dapat menyebabkan bertambahnya ketebalan pembuluh darah dan terbentuk plak aterosklerosis (Tate, 2007). Perkembangan plak aterosklerosis ditandai dengan pembesaran plak yang bertahap karena akumulasi dari sel busa, proliferasi sel otot polos serta perluasan jaringan ikat dan matriks protein interseluler yang membentuk *fibrous cap*. Perkembangan *fibrous cap* dapat dilihat pada **Gambar 2.3** Pembesaran plak ini dapat mengganggu aliran darah karena lumen yang semakin menyempit sehingga dapat memicu penyakit kardiovaskuler (Crowther, 2005).



Gambar 2.3 Perkembangan *Fibrous Cap* (Tate, 2007)

Keterangan : Perkembangan fase awal *fibrous* dimulai dengan masuknya OxLDL pada pembuluh darah ke dalam intima melalui interaksi dengan LOX-1 pada permukaan sel endotel sehingga menyebabkan disfungsi endotel (berwarna merah). Hal ini diikuti migrasi makrofag ke dalam intima dan pelepasan sitokin proinflamasi sehingga OxLDL akan difagosit oleh makrofag dan terbentuklah sel busa. Adanya migrasi dan proliferasi otot polos dapat menambah ketebalan pembuluh darah dan terbentuklah plak aterosklerosis.

2.1.5 Terapi Aterosklerosis

Ada beberapa terapi yang digunakan untuk aterosklerosis yaitu dengan terapi farmakologi dan terapi non farmakologi. Terapi farmakologi dan terapi non farmakologi untuk aterosklerosis adalah:

2.1.5.1 Terapi Farmakologi yang diberikan adalah:

1. Statin

Statin (*3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors*) merupakan terapi lini pertama untuk menurunkan jumlah kolesterol LDL dan kolesterol total dan terbukti dapat menurunkan risiko penyakit jantung koroner. Statin adalah obat yang berperan sebagai kompetitif inhibitor terhadap enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase* yang berperan untuk biosintesis kolesterol. Penurunan kadar kolesterol menginduksi sel hati untuk meningkatkan

reseptor LDL sehingga meningkatkan jumlah LDL yang dimetabolisme dalam hati dan dengan demikian terjadi penurunan kolesterol (Rosenson, 2004). Statin yang digunakan sebagai terapi aterosklerosis mempunyai mekanisme kerja antitrombosis, antikeradangan dengan menghambat sitokin-sitokin seperti TNF- α , IL-1, IL-8, menghambat abnormalitas fungsi endotel dan proliferasi sel otot polos. Golongan statin yang digunakan untuk aterosklerosis adalah simvastatin, pravastatin, atorvastatin (Vaughan *et al.*, 2000; Tawakol *et al.*, 2011).

2. Antiplatelet

Antiplatelet yang dapat digunakan sebagai terapi aterosklerosis misalnya aspirin dosis rendah. Aspirin dosis rendah secara selektif menghambat COX-1 karena platelet matang hanya diekspresikan oleh COX-1, sedangkan aspirin dosis tinggi menghambat COX-1 maupun COX-2 (Patrono, 2005). Aspirin juga mempunyai mekanisme kerja menghambat *thromboxan-A2* (TxA2) dari asam arakidonat yang dilepaskan dari senyawa esternya dengan fosfolipida (dalam membran sel) oleh enzim fosfolipase. Aspirin dapat menginaktivasi enzim *cyclo-oxygenase 1* (COX-1) yang mengubah asam arakhidonat menjadi endoperoksida. TxA2 berperan dalam agregasi trombosit (Tjay, 2002). Aspirin dosis rendah dapat menekan inflamasi vaskuler aterosklerosis dan meningkatkan stabilitas plak aterosklerosis sehingga berkontribusi sebagai antiaterogenik (Cyrus *et al.*, 2002). Antiplatelet dapat menurunkan risiko kejadian vaskuler yang serius (infark miokard non-fatal, stroke non-fatal atau penyakit vaskuler lainnya) sekitar sebesar

25%. Efek antiplatelet pada aspirin dapat dicapai dengan dosis rendah 30 mg setiap hari (Patrono, 2005).

2.1.5.2 Terapi Non farmakologi yang diberikan adalah:

1. Modifikasi diet

Modifikasi diet yang dapat dikonsumsi adalah (IAS, 2011):

- a. Mengurangi lemak jenuh hingga < 7% energi total
- b. Mengurangi diet kolesterol hingga <200 mg/hari
- c. Mengurangi asam lemak trans
- d. Mengonsumsi minimal lima buah dan sayur dalam sehari
- e. Meningkatkan konsumsi asam folat 400-1000 mcg/hari
- f. Meningkatkan konsumsi serat hingga 10 g/hari
- g. Menghindari konsumsi alkohol.

2. Aktivitas fisik dan latihan secara rutin

Aktivitas fisik didefinisikan sebagai pergerakan jasmani oleh otot rangka. Sedangkan latihan merupakan bagian dari aktivitas fisik yang direncanakan, terstruktur, berulang, dan bertujuan untuk meningkatkan atau memelihara kesehatan jasmani yang meliputi kesehatan pernapasan dan jantung, kekuatan otot, komposisi tubuh dan kelenturan. Aktivitas fisik dan latihan seperti berjalan, berlari atau berenang yang dilakukan secara rutin dapat mencegah dan membantu mengurangi faktor risiko aterosklerosis seperti peningkatan tekanan darah, resistensi insulin dan intoleransi glukosa, peningkatan konsentrasi trigliserida (TG) dan LDL, dan obesitas. Kebiasaan beraktivitas secara rutin juga dapat mencegah perkembangan penyakit jantung koroner dan mengurangi gejala pada pasien dengan penyakit kardiovaskuler (Thompson *et al.*, 2003).

2.2 Lectin Like Oxidized LDL Receptor 1 (LOX-1)

2.2.1 Definisi

Di dalam perkembangan aterosklerosis, pembentukan sel busa melibatkan beberapa reseptor OxLDL. Sawamura *et al* (1997) menemukan tipe baru reseptor OxLDL pada sel endotel pembuluh darah yang disebut dengan nama *Lectin Like Oxidized LDL Receptor 1* (LOX-1). LOX-1 merupakan reseptor OxLDL kelas tunggal pada sel endotel arteri koroner manusia (Tate, 2007).

Scavenger reseptor (SR) OxLDL yang lainnya selain LOX-1 meliputi SR-A, SR-BI, dan CD36, dimana jumlahnya sangatlah kecil dan bahkan tidak ditemukan pada permukaan sel endotel. LOX-1 merupakan glikoprotein transmembran tipe II dengan berat molekul 50 kDa yang terdiri dari 273 asam amino yang terdiri dari 4 domain seperti yang terdapat pada **Gambar 2.4**: sitoplasma, transmembran, NECK dan *C-type lectin-like domain* (CTLD). LOX-1 dikode oleh gen *OxLDL receptor 1* (OLR1) yang berada pada kromosom 12p13. LOX-1 telah diidentifikasi lebih awal di dalam sel endotel sebagai reseptor utama OxLDL, makrofag dan sel otot polos juga mengekspresikan LOX-1 bersama dengan SR lainnya (Pirillo *et al*, 2013).



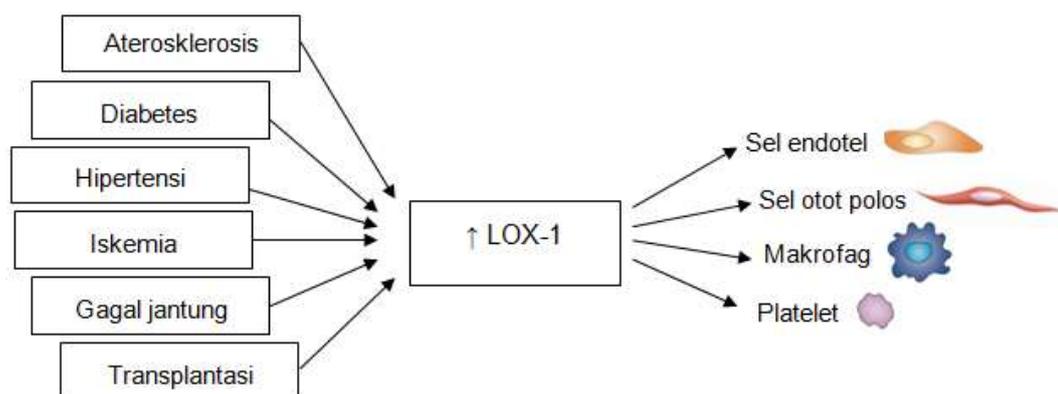
Gambar 2.4 Domain Penyusun Protein LOX-1 Manusia (Pirillo *et al*, 2013)

Keterangan: Protein LOX-1 manusia terdiri dari empat domain, antara lain domain sitoplasma, domain transmembran, domain NECK dan *C-type lectin-like domain* (CTLD).

2.2.2 Peran LOX-1 dalam Aterosklerosis

LOX-1 dikenal sebagai reseptor kunci yang berperan penting pada fase awal hingga akhir dalam perkembangan aterosklerosis. LOX-1 terekspresi di sel endotel, makrofag, sel otot polos (SMC), dan platelet. LOX-1 juga terekspresi sangat tinggi (*overexpressed*) di sel ateroma dan lesi aterosklerosis hewan coba dan manusia secara *in vivo* (Mango *et al.*, 2011).

Secara *in vitro*, ekspresi LOX-1 diinduksi oleh banyak stimulus yang berhubungan terhadap atherosclerosis, meliputi sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor alpha* (TNF α), *interleukin-1* (IL-1), dan *interferon-gamma* (IFN γ); angiotensin II, endotelin-1, OxLDL dan lipoprotein termodifikasi; radikal bebas dan *fluid shear stress*. Sedangkan ekspresi LOX-1 secara *in vivo* ditunjukkan dengan adanya *upregulation* LOX-1 di dalam kondisi patologik termasuk aterosklerosis, hipertensi dan diabetes seperti terdapat pada **Gambar 2.5**, di mana LOX-1 sangat tinggi terekspresi di dalam pembentukan neovaskuler sel endotel (Pirillo, *et al.*, 2013).

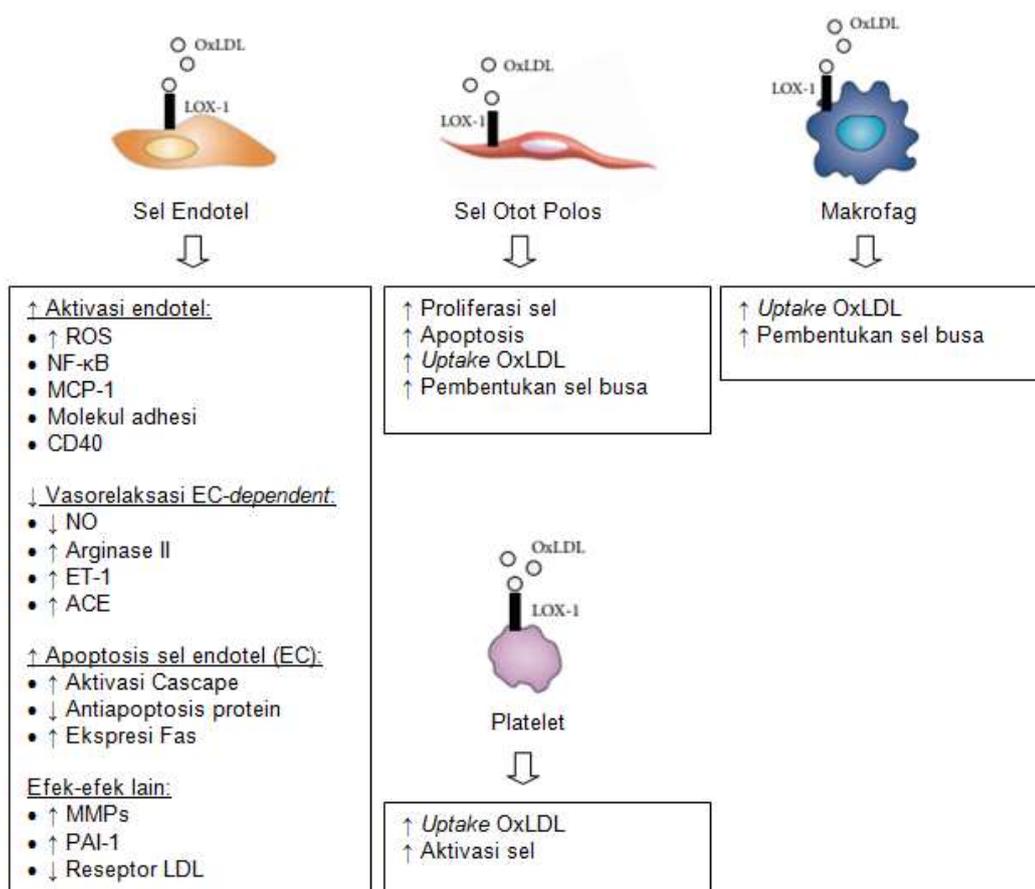


Gambar 2.5 Stimuli LOX-1 *in vivo* (Pirillo *et al.*, 2013)

Keterangan: Beberapa kondisi patologik dapat me-*upregulation* ekspresi LOX-1 sehingga menyebabkan aktivasi sel dinding vaskuler.

OxLDL dan reseptor utama dari OxLDL yaitu LOX-1 berperan penting dalam perkembangan aterosklerosis seperti yang terlihat pada **gambar 2.6**.

Interaksi antara LOX-1 dengan OxLDL akan memicu terjadinya *upregulation* dari LOX-1. *Upregulation* LOX-1 dalam aterosklerosis akan mempengaruhi aktivasi endotel, SMC, mengaktivasi makrofag dan platelet. LOX-1 tidak terdeteksi pada jaringan pembuluh darah yang normal dan akan terdeteksi pada tahap awal aterosklerosis ketika lesi mulai terbentuk (Elio *et al.*, 2013).



Gambar 2.6 Peran LOX-1 dalam Aterosklerosis (Pirillo *et al.*, 2013)

Keterangan: Interaksi OxLDL dan LOX-1 akan menginduksi aktivasi dan disfungsi endotel, melibatkan pembentukan leukosit, memicu pembentukan sel busa, dan meneruskan migrasi serta proliferasi sel otot polos (SMC). Selanjutnya, interaksi OxLDL dan LOX-1 juga akan berkontribusi terhadap ketidakstabilisasi plak melalui pengaruh apoptosis SMC sehingga berkontribusi terhadap perkembangan plak atherosclerosis.

Interaksi LOX-1 dan OxLDL memicu *upregulation* LOX-1 yang menyebabkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). LOX-1 yang dapat memperantarai *uptake* OxLDL akan mengarah pada disfungsi endotel dan merupakan peristiwa aterogenik fase awal. Disfungsi endotel akan

mengaktivasi makrofag yang dapat meng-*uptake* OxLDL melalui *scavenger reseptor* yang menyebabkan terbentuknya sel busa (Pirillo *et al.*, 2013). Sel busa akan terakumulasi dalam pembuluh darah dan menyebabkan peningkatan penebalan pembuluh darah yang diperantarai oleh migrasi sel otot polos sehingga akhirnya membentuk plak aterosklerosis (Tate, 2007).

2.3 Vaksinasi

2.3.1 Definisi

Kata vaksin berasal dari bahasa Latin sapi yaitu *vacca* yang ditemukan oleh Edward Jenner pada tahun 1798 untuk mencegah penyakit cacar air. Vaksin telah digunakan dalam semua preparasi biologis, dihasilkan dari organisma hidup, meningkatkan imunitas untuk melawan penyakit, mencegah penyakit serta dalam beberapa kasus dapat menyembuhkan penyakit. Pemberian vaksin dilakukan dalam sediaan cair melalui rute injeksi, oral, ataupun intranasal (Plotkin, 2012).

Vaksin adalah antigen berupa mikroorganisme yang sudah mati, masih hidup tapi dilemahkan, masih utuh atau bagiannya, yang telah diolah, berupa toksin mikroorganisme yang telah diolah menjadi toksoid, protein rekombinan yang bila diberikan kepada seseorang akan menimbulkan kekebalan spesifik secara aktif terhadap penyakit infeksi tertentu (Permenkes, 2013).

2.3.2 Prinsip

Vaksin yang umumnya mengandung antigen spesifik dapat meningkatkan respon imun tubuh karena vaksin dapat menginduksi sel memori untuk bekerja lebih cepat dalam mengenali dan melindungi tubuh dari serangan antigen yang sama di kemudian hari. Sel-sel leukosit memegang peranan penting dalam

melindungi tubuh dari serangan mikroorganisme ataupun terhadap keberadaan sel yang abnormal. Salah satu jenis sel leukosit yang berperan penting dalam imun spesifik adalah sel limfosit. Sekelompok sel limfosit yang berperan dalam respon imun spesifik ini adalah sel B dan sel T sitotoksik. Sel B memproduksi antibodi, yang dapat mengenali dan mencegah terjadinya infeksi. Sel T sitotoksik yang juga dikenal dengan sel pembunuh (*killer T cells*), akan memusnahkan sel yang terinfeksi atau sel-sel abnormal dengan cara melepaskan zat yang bersifat toksik atau memicu sel agar melakukan distruksi sel (apoptosis) (Radji, 2009).

Vaksinasi berperan penting dalam menginduksi sistem imun. Presentasi MHC dan proses pengenalan peptida antigen adalah jalur penting dalam menstimulasi respon imun. Proses induksi sistem imun dimulai dengan pengolahan dan pengenalan antigen oleh sistem imun. Jalur respon imun terjadi ketika antigen ditangkap oleh APC yang selanjutnya dipresentasikan oleh protein *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II untuk pengenalan antigen spesifik kepada sel T CD4+. Sel T CD4+ yang teraktivasi akan berdiferensiasi ke dalam sel T *helper-1* (Th1) yang menghasilkan sitokin proinflamasi, sel T *helper-2* (Th2) yang mempromosikan produksi antibodi, sel T *regulatory-1* (Tr1) yang akan menekan aktivasi induksi antigen dari sel T CD4+ yang lain, atau sel T *helper-3* (Th3) yang memproduksi *transforming growth factor beta* (TGF- β). Pengenalan antigen oleh makrofag *class 1-like molecule* (CD1) menyebabkan aktivasi pada sel NK1 1+ CD4+ sehingga mempromosikan respon Th1 dan Th2. Th1 dan Th2 masing-masing melepaskan sitokin. Sitokin yang dihasilkan sel Th1 antara lain IFN- γ dan IL-2 yang berfungsi pada proliferasi sel T. Th2 memproduksi IL-10, IL-4 dan IL-6 untuk merangsang proliferasi sel B dan pembentukan antibodi. Dalam imunitas spesifik, IL-6 merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi

sel plasma yang memproduksi antibodi. Saat sel B menangkap antigen yang cocok dengan antibodi yang terikat di membran, ikatan antigen-antibodi ini menyebabkan sel membelah dengan cepat, menjadi sel B memori dan sel B memori memiliki masa hidup yang panjang daripada sel naïf (Venkatesan and Prabhakar, 2008). Kebanyakan respons limfosit B membutuhkan bantuan limfosit Th CD4+. Sedangkan limfosit T akan menginduksi antibodi dalam jumlah banyak, dimulai dari IgM secara primer sampai IgG yang persisten dalam waktu lama dan menginduksi memori (Rajput, 2007).

Prinsip dari vaksinasi atau imunisasi aktif adalah menstimulasi sistem imun terhadap suatu antigen untuk menghasilkan imunitas seluler dan imunitas humoral dengan pembentukan antibodi. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi munculnya respons imun terhadap vaksinasi, seperti adanya antibodi maternal, dosis antigen, rute pemberian, dan penggunaan adjuvan. Aktivitas antibodi yang dihasilkan dari vaksinasi terus dikembangkan pemanfaatannya sehingga pada saat ini tidak hanya terbatas pada pencegahan pada infeksi namun juga pada beberapa penyakit yang melibatkan reaksi imunologis tertentu (Kliegman *et al.*, 2007). Ada beberapa tipe vaksin, antara lain vaksin dari mikroorganisme yang dilemahkan, vaksin dari mikroorganisme mati, vaksin peptida (sub unit), dan vaksin DNA, yang mempresentasikan bahan bersifat antigenik (Groves, 2006).

Vaksin limfosit T dependen yang merupakan turunan protein dapat menginduksi respons imun secara baik mulai pada bayi yang baru lahir. Vaksin terkonjugasi dengan karier protein dapat menginduksi antibodi lebih banyak dikarenakan terjadi pembentukan kompleks yang meningkatkan berat molekul protein, respons imun spesifik menimbulkan memori imunologis pada pemberian

vaksin ulang (*booster*), dan imunitas jangka panjang. Ajuvan digunakan dalam berbagai vaksin untuk menambah respons imun (Kliegman *et al.*, 2007). Vaksin dengan penambahan ajuvan dapat meningkatkan potensi sistem imun serta menambah lamanya perlindungan terhadap suatu infeksi penyakit pada hewan dan manusia (Rajput, 2007).

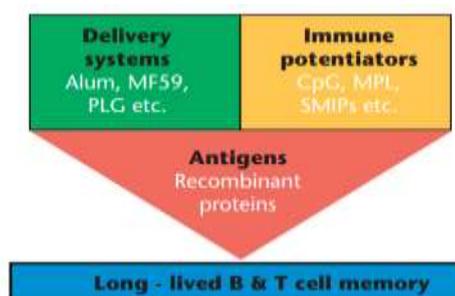
2.3.3 Ajuvan

2.3.3.1 Deskripsi

Ajuvan adalah suatu senyawa, komponen atau strategi yang menghasilkan peningkatan respon imun adaptif ketika dihantarkan bersamaan dengan suatu antigen (Bergmann and Leitner, 2014). Ajuvan dapat meningkatkan efek imun dari antigen vaksin, tetapi ajuvan tidak bekerja sebagai antigen. Garam aluminium merupakan ajuvan yang paling sering digunakan untuk vaksin (Plotkin, 2012).

2.3.3.2 Klasifikasi Ajuvan

Ajuvan vaksin bisa dibagi dalam 2 golongan berdasarkan prinsip mekanisme kerjanya, yaitu digolongkan sebagai sistem penghantaran antigen dan potenstiator imun (O'Hagan, 2007).



Gambar 2.7 Susunan Optimal dari Vaksin Generasi Baru (O'Hagan, 2007)

Keterangan: Meningkatnya vaksin generasi baru terdiri dari antigen protein rekombinan; potenstiator imun sintetik, yang didesain hanya untuk menstimulasi respon imun tertentu sebagai sistem penghantaran imunitas protektif; dan sistem penghantaran, yang secara fisik akan berikatan dengan antigen terhadap potenstiator imun dan hanya akan berefek pada sel imun yang sesuai.

1. Sistem Penghantaran Antigen

Sistem penghantaran antigen adalah sebuah pembawa partikulat yang antigennya bisa berikatan, menstabilkan antigen dan akan memperpanjang lamanya antigen di dalam sirkulasi. Sistem penghantaran merupakan partikulat-partikulat dengan ukuran yang mirip patogen seperti *human immunodeficiency virus* (HIV), *hepatitis C virus* (HCV) dan *respiratory syncytial virus* (RSV) dimana akan ditangkap melalui fagositosis ke dalam APC. Sistem penghantaran juga berkontribusi sebagai ko-stimulasi sel imun dan bisa mengaktifkan APC secara tidak langsung. Contoh ajuvan sebagai sistem penghantaran antigen, antara lain alum, MF59, PLG, Kalsium fosfat, liposom, virosom, nanopartikel, emulsi dan tirosin (O'Hagan, 2007).

2. Potensiator Imun

Potensiator imun merupakan golongan ajuvan yang memberikan efek stimulasi langsung pada sel imun dan juga menginisiasi respon imun melalui aktivasi imunitas bawaan (*innate immunity*). Potensiator imun yang khas merupakan komponen sel bakteri atau virus yang dimurnikan, atau molekul sintesis yang memiliki kemiripan secara struktural. Akibatnya, komponen tersebut akan dikenali sebagai '*danger signals*' oleh reseptor pada sel-sel imun tubuh, terutama APC, yang muncul ketika organisme terinfeksi. Setelah reseptor ini berikatan, sel-sel tertentu akan merespon melalui aktivasi respon imun bawaan, yang menyediakan garis pertahanan pertama terhadap patogen. Yang paling terkenal dari reseptor ini adalah reseptor *Toll-like* (TLR). Contoh ajuvan potensiator imun, antara lain *monophosphoryl lipid* (MPL), *muramyl dipeptide* (MDP), saponin, dsRNA dan lipopeptida (O'Hagan, 2007).

2.3.3.3 Penggunaan Alumunium Hidroksida sebagai Ajuvan

Gel alumunium hidroksida adalah suspensi dari aluminium hidroksida bentuk amorf, sebagian hidroksida disubstitusi dengan karbonat. Mengandung aluminium hidroksida setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% $\text{Al}(\text{OH})_3$, dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung minyak permen, gliserol, sorbitol, sukrosa, sakarin atau penambah rasa lain dan dapat mengandung bahan antimikroba yang sesuai (Kemenkes, 2013).

Alumunium hidroksida (alum; $\text{Al}(\text{OH})_3$) mempunyai efek anti-aterogenik, dapat digunakan sebagai ajuvan pada vaksin aterosklerosis. Alum mampu menstimulasi reaksi imun terhadap antigen *self* dengan memfasilitasi *uptake* antigen oleh APC pada daerah injeksi. Penggunaan alum sebagai ajuvan di dalam imunisasi dengan AGE-LDL telah digunakan untuk menginduksi peningkatan titer antibodi IgM dan IgG dalam melawan AGE-LDL terhadap mencit yang diinduksi diabetes. Imunisasi apoB menggunakan alum sebagai ajuvan menyebabkan penurunan lesi sel CD3^+ T tertentu, di mana sel-sel T dalam lesi umumnya bersifat pro-aterogenik. Hal ini didukung oleh penelitian terhadap imunisasi tentang sel T yang dikaitkan dengan pengembangan lesi aterosklerosis (Kolbus, 2011). Alum akan menangkap antigen apoB yang dilepas oleh OxLDL, selanjutnya mengirimkan antigen ini kepada APC menuju jaringan limfatik sehingga dapat mengaktifasi Treg spesifik antigen untuk melawan autoimunitas terhadap OxLDL. Treg spesifik OxLDL yang bertemu dengan OxLDL pada dinding arteri akan menyebabkan terjadinya peradangan lokal dan menghambat perkembangan aterosklerosis (Wigren *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2014).

2.4.3 Pengembangan Vaksin Aterosklerosis

Penelitian yang dilakukan oleh Zhu *et al* tahun 2014 bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian vaksin AGE-LDL dengan alum sebagai adjuvan dapat menghasilkan penurunan yang signifikan lesi aterosklerosis dibandingkan pada kelompok tikus kontrol positif ($p < 0,01$) maupun kelompok alum saja ($p < 0,05$). Pemberian vaksin AGE-LDL tidak hanya dapat menghambat terhadap progresivitas aterosklerosis namun juga mampu meningkatkan kadar HDL dan menurunkan nilai HbA1c meskipun kadar glukosa darah tidak berubah secara signifikan pada mencit yang menerima vaksin AGE-LDL (Zhu *et al.*, 2014).

Vaksinasi aterosklerosis dengan target yang berbeda juga telah dilakukan yaitu dengan menggunakan apolipoprotein B-100 dan aluminium hidroksida (Alum) sebagai adjuvan. Dari penelitian yang dilakukan oleh Fredrikson *et al* tahun 2008 tersebut didapatkan hasil bahwa imunisasi dengan apo B-100 dapat mengurangi perkembangan aterosklerosis dengan salah satu mekanisme vaksin ini adalah dengan mengaktivasi sel Treg. Beberapa strategi untuk melawan aterosklerosis telah dikembangkan menggunakan beberapa antigen seperti apolipoprotein B100 (apoB100, CVX-210-H) dan *cholesterolester transferase protein* (CETP) menunjukkan adanya toleransi yang baik terhadap pasien. Penggunaan alum sebagai adjuvan dapat meningkatkan efek imunologis karena adjuvan telah digunakan kepada manusia selama bertahun-tahun dan terbukti memiliki manfaat melawan aterosklerosis dengan cara menangkap LDL teroksidasi dan mengaktivasi Treg (Fredrikson *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2014).