

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

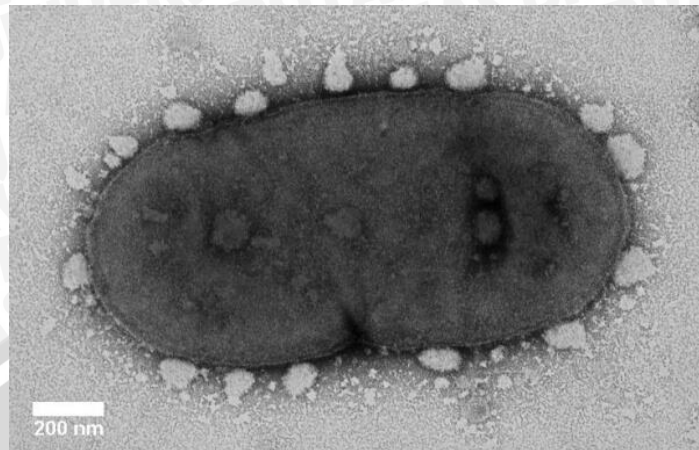
2.1 *Phorphyromonas gingivalis*2.1.1 Taksonomi *Phorphyromonas gingivalis*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Bacteroidetes
Class	: Bacteroidia
Orde	: Bacteroidales
Family	: Porphyromonadaceae
Genus	: Porphyromonas
Species	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

Sumber: (Yamaguchi *et al.*, 2010; Dumitrescu, 2010).

2.1.2 Karakteristik *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram negatif anaerob yang tidak berspora (*non-spore forming*) dan tidak mempunyai alat gerak (*non-motile*). Bakteri ini berbentuk *coccobacilli* dengan panjang 0,5 – 2 µm. Koloni bakteri ini bila ditumbuhkan pada agar darah tampak lembut, berkilauan, dan terlihat cembung. Terkadang warna koloni berubah menjadi hitam akibat produksi yang berlebih dari protohaem. Koloni yang tak berpigmen kadang juga dapat terjadi. Pertumbuhannya dipengaruhi oleh adanya protein *hydrolysates*, seperti: *trypticase*, *protease peptone* dan ekstrak *yeast*. Pertumbuhannya dapat ditingkatkan dengan adanya 0,5 – 0,8 % NaCl dalam darah (Yoshimura *at al.*, 2009).



Gambar 2.1 *Porphyromonas gingivalis*



Gambar 2.2 *Porphyromonas gingivalis* pada Agar Darah

2.1.3 Outer Membrane Protein (OMP) *P. gingivalis*

Dinding sel bakteri Gram negatif anaerob termasuk *P. gingivalis* terdiri dari dua membran, yaitu membran bagian dalam atau sitoplasmik dan *Outer Membrane Protein (OMP)*. *Outer Membrane Protein (OMP)* memegang peranan penting dalam pertumbuhan koloni, pembentukan biofilm, dan perkembangan penyakit (Yoshimura *et al*, 2009). *Outer Membrane Protein* sangat penting untuk kelangsungan hidup bakteri Gram negatif anaerob ketika berada di dalam makrofag dan untuk menginvasi sel eukariotik (Miller, 1991). *Outer Membrane*

Protein (OMP) memiliki berbagai macam protease. Salah satunya adalah gingipain.

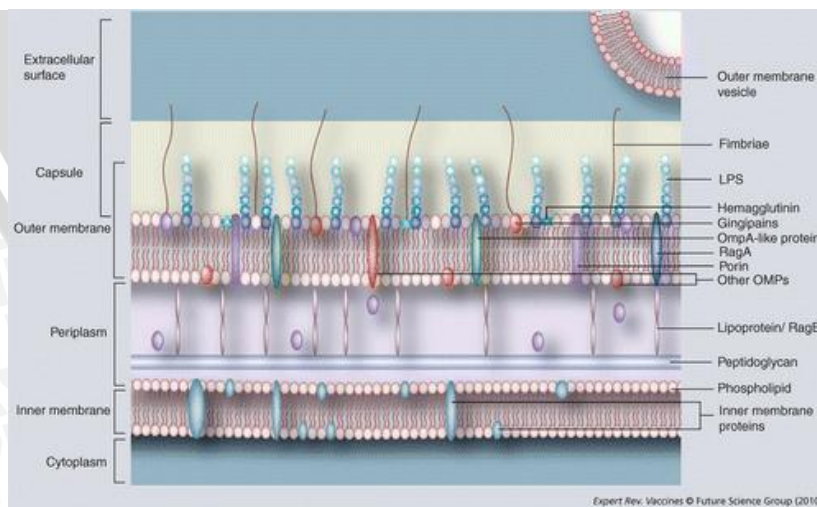
Gingipain terdiri dari protease spesifik arginin, RgpA dan RgpB, serta protease spesifik lisin, Kgp. Rgp dikodekan oleh dua gen, *rgpA* dan *rgpB*, sementara Kgp dikodekan oleh Kgp. RgpA dan Kgp mengandung domain katalitik dan adhesin/hemagglutinin dibandingkan dengan RgpB yang tidak mengandung domain adhesin/hemagglutinin (Sheets *et al.*, 2006). Gingipain pada *P. gingivalis* dapat dikenali oleh IgM alami dan berbagi molekul identitas dengan epitop pada MDA-LDL (Amir *et al.*, 2012).

Secara umum antigen protein yang diinjeksikan sebagai vaksin akan menginisiasi respon imun dengan cara menarik sel dendritik, monosit, dan neutrofil. Jika antigen/ajuvan yang diinjeksikan mampu menimbulkan sinyal berbahaya maka akan mengaktifasi monosit dan sel dendritik dan mengubah reseptor sel sel tersebut dan menginduksi migrasi ke limfa nodus di mana akan terjadi aktivasi sel B dan T (Barton dan Medzhitov, 2002; Iwasaki dan Medzhitov, 2004; Bacchetta *et al.*, 2005; Pashine *et al.*, 2005). Proses pembentukan antibodi terjadi melalui dua mekanisme yaitu reaksi ektrafolikular dan reaksi *germinal center*.

Pada reaksi ektrafolikular sel B menggunakan reseptor permukaan imunoglobulin khusus untuk mengikat antigen yang mencapai zona marginal limpa/nodus. Dengan tidak adanya bantuan sel T *helper*, sel B teraktivasi, berproliferasi, dan berdiferensiasi menjadi sel plasma tanpa menjalani pematangan afinitas di *germinal center*. Sel plasma ini bermigrasi menuju pulpa merah limpa di mana mereka bertahan hidup selama beberapa minggu/bulan,

mensekresi kadar rendah antibodi IgM, IgG, atau IgA afinitas rendah (MacLennan *et al.*, 2008).

Sementara itu pada reaksi *germinal center* sel B teraktivasi di limfanodus oleh antigen vaksin menyebabkan sel B berdiferensiasi dan berproliferasi menjadi sel plasma dan sel memori. Sel memori B dihasilkan dalam respon antigen yang bergantung sel T. Proses ini terjadi di *germinal center*. Saat sel B keluar dari *germinal center*, sel B ini tidak berdiferensiasi menjadi sel plasma, tetapi menjadi sel memori yang secara sementara bermigrasi melalui darah menuju daerah ektrafolikular limpa dan nodus. Sel B bertahan di sana sebagai sel yang beristirahat sampai terpapar kembali dengan antigen spesifik. Setelah paparan antigen sekunder, sel memori B berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mensekresi sejumlah besar antibodi afinitas tinggi yang dapat dideteksi dalam serum dalam beberapa hari setelah *booster* (McHyezer, 2000). Antibodi yang terbentuk oleh pemberian gingipain dapat berikatan dengan epitop MDA-LDL sehingga mencegah *uptake* MDA-LDL oleh makrofag melalui reseptor CD36 dan proses inflamasi tidak terjadi (Kametsu *et al.*, 2005).



Gambar 2.3 Outer Membrane Protein (OMP) *P. gingivalis* (Holts *et al.*, 1999)



2.2 Hipertensi

2.2.1 Definisi dan Klasifikasi Hipertensi

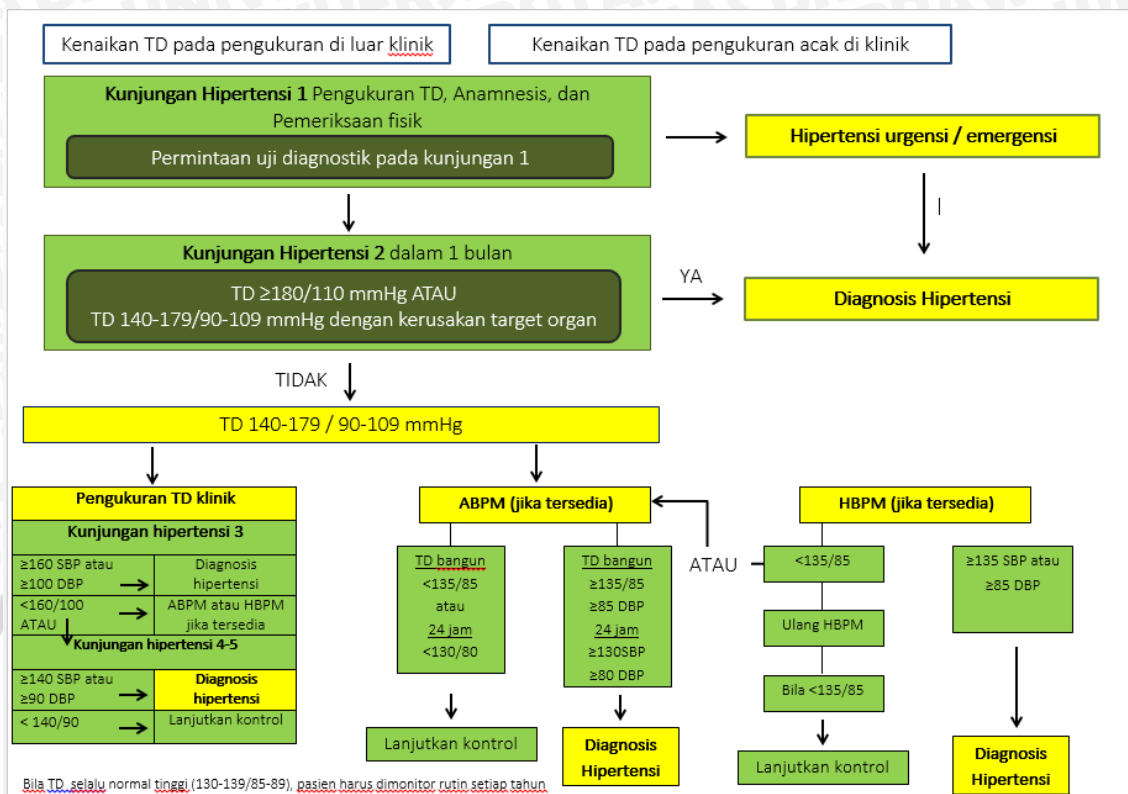
Menurut *The Seventh Report of the Joint National Committee on detection, education, and treatment of high blood pressure* (JNC VII), hipertensi merupakan kondisi dimana tekanan darah sistolik lebih dari atau sama dengan 140 mmHg dan tekanan diastolik lebih dari atau sama dengan 90 mmHg, pada pemeriksaan berulang. Tekanan darah sistolik merupakan pengukuran utama yang menjadi dasar penentuan diagnosis hipertensi. Adapun pembagian derajat keparahan hipertensi pada seseorang merupakan salah satu dasar penentuan tatalaksana hipertensi (PERKI, 2015).

Tabel 2.1 Klasifikasi Hipertensi

Klasifikasi	Sistolik		Diastolik
Optimal	< 120	dan	< 80
Normal	120 – 129	dan/ atau	80 – 84
Normal tinggi	130 – 139	dan/ atau	84 – 89
Hipertensi derajat 1	140 – 159	dan/ atau	90 – 99
Hipertensi derajat 2	160 – 179	dan/ atau	100 - 109
Hipertensi derajat 3	≥ 180	dan/ atau	≥ 110
Hipertensi terisolasi	sistolik ≥ 140	dan	< 90

2.2.2 Diagnosis Hipertensi

Dalam menegakan diagnosis hipertensi, diperlukan beberapa tahapan pemeriksaan yang harus dijalani sebelum menentukan terapi atau tatalaksana yang akan diambil. Algoritme diagnosis ini diadaptasi dari *Canadian Hypertension Education Program the Canadian Recommendation for the Management of Hypertension 2014*.



Gambar 2.4 Diagnosis Hipertensi

2.2.3 Tatalaksana Hipertensi

2.2.3.1 Terapi Non Farmakologi

Berdasarkan *guideline* PERKI 2015, menjalani pola hidup sehat telah banyak terbukti dapat menurunkan tekanan darah, dan secara umum sangat menguntungkan dalam menurunkan risiko permasalahan kardiovaskular. Pada pasien yang menderit hipertensi derajat 1, tanpa faktor risiko kardiovaskular lain, maka strategi pola hidup sehat merupakan tatalaksana tahap awal, yang harus dijalani setidaknya selama 4 – 6 bulan. Bila setelah jangka waktu tersebut, tidak didapatkan penurunan tekanan darah yang diharapkan atau didapatkan faktor risiko kardiovaskular yang lain, maka sangat dianjurkan untuk memulai terapi farmakologi.

Beberapa pola hidup sehat yang dianjurkan oleh banyak *guidelines* adalah:

- Penurunan berat badan. Mengganti makanan tidak sehat dengan memperbanyak asupan sayuran dan buah-buahan dapat memberikan manfaat yang lebih selain penurunan tekanan darah, seperti menghindari diabetes dan dislipidemia.
- Mengurangi asupan garam. Di negara kita, makanan tinggi garam dan lemak merupakan makanan tradisional pada kebanyakan daerah. Tidak jarang pula pasien tidak menyadari kandungan garam pada makanan cepat saji, makanan kaleng, daging olahan dan sebagainya. Tidak jarang, diet rendah garam ini juga bermanfaat untuk mengurangi dosis obat antihipertensi pada pasien hipertensi derajat ≥ 2 . Dianjurkan untuk asupan garam tidak melebihi 2 gr/ hari
- Olahraga. Olahraga yang dilakukan secara teratur sebanyak 30 – 60 menit/ hari, minimal 3 hari/ minggu, dapat menolong penurunan tekanan darah. Terhadap pasien yang tidak memiliki waktu untuk berolahraga secara khusus, sebaiknya harus tetap dianjurkan untuk berjalan kaki, mengendarai sepeda atau menaiki tangga dalam aktifitas rutin mereka di tempat kerjanya.
- Mengurangi konsumsi alkohol. Walaupun konsumsi alkohol belum menjadi pola hidup yang umum di negara kita, namun konsumsi alkohol semakin hari semakin meningkat seiring dengan perkembangan pergaulan dan gaya hidup, terutama di kota besar. Konsumsi alkohol lebih dari 2 gelas per hari pada pria atau 1 gelas per hari pada wanita, dapat meningkatkan

tekanan darah. Dengan demikian membatasi atau menghentikan konsumsi alkohol sangat membantu dalam penurunan tekanan darah.

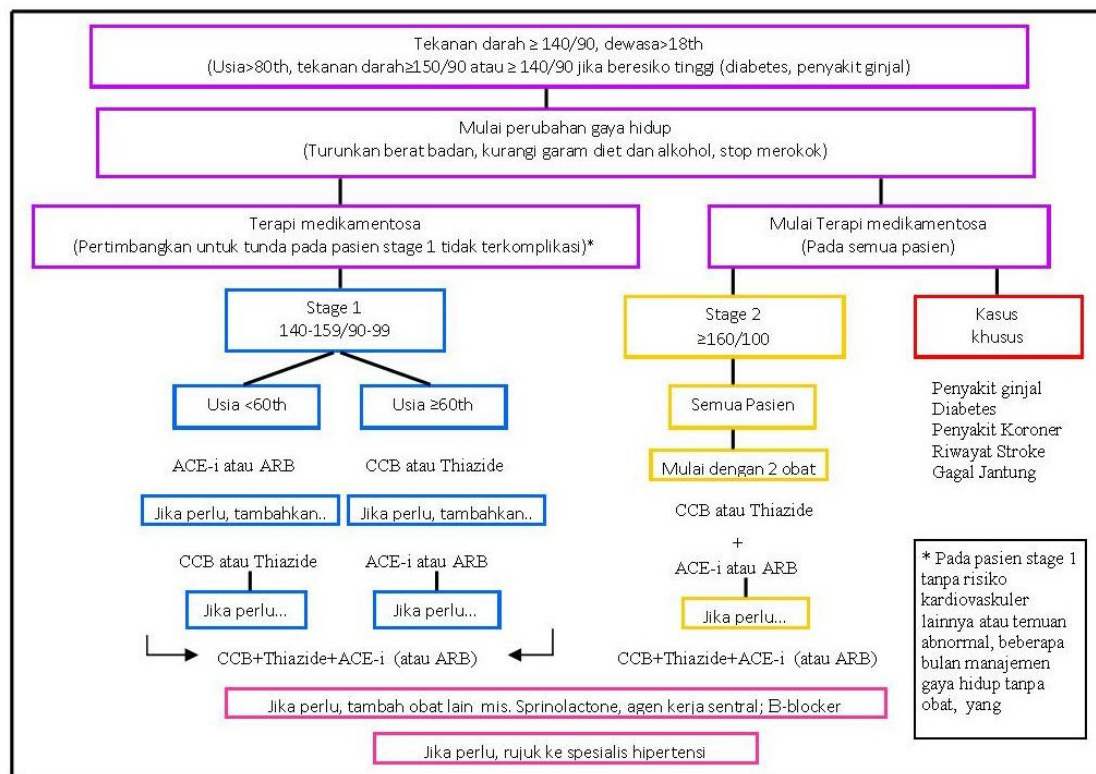
- Berhenti merokok. Walaupun hal ini sampai saat ini belum terbukti berefek langsung dapat menurunkan tekanan darah, tetapi merokok merupakan salah satu faktor risiko utama penyakit kardiovaskular, dan pasien sebaiknya dianjurkan untuk berhenti merokok.

2.2.3.2 Terapi Farmakologi

Secara umum, terapi farmakologi pada hipertensi dimulai bila pada pasien hipertensi derajat 1 yang tidak mengalami penurunan tekanan darah setelah > 6 bulan menjalani pola hidup sehat dan pada pasien dengan hipertensi derajat ≥ 2 . Beberapa prinsip dasar terapi farmakologi yang perlu diperhatikan untuk menjaga kepatuhan dan meminimalisasi efek samping, yaitu:

- Bila memungkinkan, berikan obat dosis tunggal
- Berikan obat generik (non-paten) bila sesuai dan dapat mengurangi biaya
- Berikan obat pada pasien usia lanjut (diatas usia 80 tahun) seperti pada usia 55 – 80 tahun, dengan memperhatikan faktor komorbid dengan mengkombinasikan *angiotensin converting enzyme inhibitor* (ACEi) dengan *angiotensin II receptor blockers* (ARBs)
- Berikan edukasi yang menyeluruh kepada pasien mengenai terapi farmakologi
- Lakukan pemantauan efek samping obat secara teratur.

Algoritme tatalaksana hipertensi yang direkomendasikan berbagai *guidelines* memiliki persamaan prinsip, dan dibawah ini adalah algoritme tatalaksana hipertensi secara umum, yang disadur dari *A Statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension 2013*.

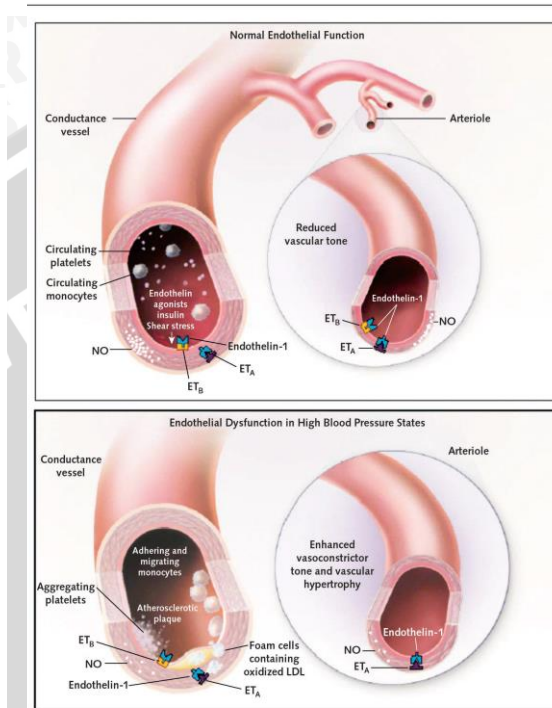


Gambar 2.5 Terapi Hipertensi

2.2.4 Patogenesis Hipertensi

Tekanan darah dikontrol oleh sistem neuronal dan hormonal yang akan memodulasi volume darah, *cardiac output*, dan tahanan pembuluh darah perifer. Organ yang berperan dalam mengontrol tekanan darah adalah 1) saraf simpatis yang mensekresi vasokonstriktor norepinefrin, 2) ginjal yang meregulasi volume darah, 3) jantung yang meningkatkan *cardiac output*, 4) arteriol yang menentukan tahanan pembuluh darah, 5) sel endotel yang meregulasi faktor endogen tekanan darah seperti *Nitric Oxide* (NO) dan angiotensin II, dan 6) sistem saraf pusat yang meregulasi berbagai sistem yang berperan pada tekanan darah (Page, et al., 2006).

Hipertensi berkaitan dengan disfungsi endotel. Disfungsi endotel akan menyebabkan perubahan struktur dan kelenturan pembuluh darah. Proses tersebut akan dijelaskan pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Patogenesis Hipertensi

Pada arteri dengan konduktansi normal (atas), trombosit dan monosit beredar secara bebas, dan oksidasi LDL dicegah oleh pembentukan NO yang lebih dominan. Pada tingkat arteriol kecil, penurunan tonus pembuluh darah dijaga oleh pelepasan konstan NO. Endotelin-1 biasanya tidak menyebabkan vasokonstriksi atau hanya vasokonstriksi minimal melalui stimulasi dari reseptor endotelin tipe A (ET_A) yang terletak di sel otot polos dan memberikan kontribusi dalam pelepasan NO dengan merangsang reseptor endotelin tipe B (ET_B) pada sel endotel.

Dalam mikrovaskuler hipertensi (bawah), penurunan aktivitas dari NO dan peningkatan aktivitas vasokonstriktor ET_A yang dimediasi endotelin-1 menyebabkan peningkatan tonus pembuluh darah dan hipertrofi medial, akibatnya

terjadi peningkatan dalam resistensi vaskuler sistemik. Pada tingkat arteri konduktansi, ketidakseimbangan serupa dalam aktivitas faktor endotel menyebabkan sebuah lingkungan proaterosklerotik yang kondusif untuk oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL) (Panza *et al.*, 2001). Oksidasi LDL menyebabkan LDL mengalami proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid ini berawal dari modifikasi *polyunsaturated fatty acids* (PUFA), bagian dari fosfolipid LDL menjadi *lipid hydroperoxide*. *Lipid hydroperoxide* ini mengalami degradasi menjadi fragmen-fragmen seperti *malondialdehyde* (MDA).

Selanjutnya, MDA akan berinteraksi dengan derivat lysine dari degradasi Apolipoprotein B (ApoB) yang merupakan komponen protein utama dari LDL. Interaksi inilah yang membentuk *epitope* pada ApoB yang dapat dikenali oleh *scavenger receptors* (SR) makrofag dan sel-sel imun lainnya (Tsimikas *et al.*, 2005). *Uptake* oxLDL oleh makrofag dapat melalui beberapa cara yaitu, melalui *scavenger receptor* (SR), makropinocytosis, kompleks oxLDL-Ig dan reseptor Fc (FcR), serta *aggregated* LDL dan LDLR. Sekitar 75% - 90% uptake oxLDL oleh makrofag melalui SR (CD-36). Proses ini akan mengarah pada terbentuknya sel busa menyebabkan upregulasi dari SR, ekspresi faktor jaringan, sekresi ROS, sekresi sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1, IL-6), kematian sel, sekresi molekul adhesi, sekresi kemokin, inhibisi NO, sekresi *growth factor*, dan penurunan hidrolisis *Cholesteryl Ester* (CE) (Su, 2009; Kearney, 2000). Kegiatan ini akhirnya mengarah pada pengembangan plak aterosklerotik yang apabila pecah akan terjadi peningkatan agregasi trombosit dan gangguan fibrinolisis, menyebabkan trombotik intravaskular akut. Hal ini menjelaskan bagaimana peningkatan risiko kejadian kardiovaskular pada pasien dengan hipertensi (Panza *et al.*, 2001)

2.2.4.1 Peran *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam Hipertensi

Stres oksidatif terjadi ketika ada ketidakseimbangan relatif antara oksidan dan antioksidan molekul dalam tubuh, yang menyebabkan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) (Puddu *et al.*, 2008; Sugamura dan Keaney, 2011). *Reactive oxygen species* (ROS) secara kimiawi merupakan molekul aktif yang mengandung oksigen dan secara alami terbentuk pada metabolisme oksigen yang terjadi dalam fisiologi normal (Forman *et al.*, 2008). Contoh ROS yaitu: radikal bebas yang tidak stabil (superoksida $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} radikal hidroksil) dan radikal non-bebas (hidrogen peroksida H_2O_2 , peroksinitrit $ONOO^{\cdot-}$; asam hipoklorit $HOCl$). Kadar ROS meningkat secara dramatis dan melampaui mekanisme pertahanan antioksidan endogen tubuh dapat menyebabkan kerusakan yang signifikan pada sel dan jaringan (Montezano dan Touyz, 2012). Selain itu, ROS mengurangi bioavailabilitas dari vasodilator *nitric oxide* (NO) dan dapat memodulasi fungsi endotel, tonus pembuluh darah dan fungsi jantung (Rybalkin *et al.*, 2002). ROS juga terlibat dalam proses patologis seperti peradangan, hipertrofi, apoptosis, fibrosis, dan penghalusan pembuluh darah (Touyz, 2005; Forstermann, 2008). Proses ini, pada gilirannya, terlibat dalam pengembangan disfungsi endotel dan *remodelling* kardiovaskular yang merupakan ciri khas dari hipertensi (Touyz, 2005; Forstermann, 2008).

2.2.4.2 Inflamasi pada Hipertensi

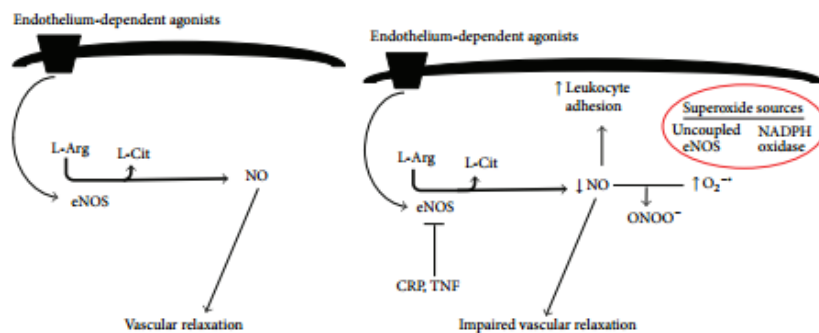
Inflamasi adalah respon protektif terhadap cedera atau infeksi. Inflamasi merupakan proses yang kompleks yang melibatkan sel-sel inflamasi melalui beberapa fase antara lain pertama mengidentifikasi jaringan yang terkena jejas, perekrutan leukosit ke jaringan, eliminasi agen penyebab, dan perbaikan tempat yang mengalami cedera. Inflamasi membutuhkan interaksi antara permukaan sel,

matriks ekstraselular, dan mediator proinflamasi. Protein fase akut, *C-Reactive Protein* (CRP), terlibat dalam respon imun bawaan dan memiliki peran dalam mengaktifkan sistem komplemen dan meningkatkan fagositosis (Kranzhofer *et al.*, 1999). CRP dapat merangsang monosit untuk melepaskan sitokin proinflamasi seperti interleukin-6 (IL-6), interleukin 1 beta (IL-1 β), dan *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), dan juga sel endotel untuk mengekspresikan *intracellular adhesion molecular* (ICAM) -1 dan *vascular adhesion molecular* (VCAM) -1 (Ciuceis *et al.*, 2005; Savoia *et al.*, 2007). Sitokin-sitokin proinflamasi inilah yang selanjutnya akan memicu peradangan.

Salah satu mekanisme potensial dimana inflamasi dapat memicu terjadinya hipertensi adalah dengan menyebabkan disfungsi endotel. Endotel adalah lapisan sel tunggal yang melapisi permukaan luminal pembuluh darah dan terlibat dalam regulasi tonus dan struktur vaskular. *Nitric oxide* (NO), yang berasal dari *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS), adalah molekul sinyal penting dalam mengatur tonus vaskular. Apabila NO dilepaskan dari sel-sel endotel maka akan menyebabkan relaksasi otot polos sehingga terjadi vasodilatasi (Imanishi *et al.*, 2004). Disfungsi endotel dapat menyebabkan peningkatan resistensi vaskular sistemik yang nantinya akan mengarah pada pengembangan hipertensi dan umumnya bermanifestasi sebagai gangguan vasodilatasi yang bergantung pada endotelium karena ketidakseimbangan antara vasokonstriktor dan vasodilator (Kahler *et al.*, 2001).

Peradangan telah terbukti menurunkan aktivitas NO sintase. CRP dan TNF keduanya telah ditunjukkan untuk melemahkan produksi NO dengan cara mendestabilisasi mRNA eNOS sehingga menurunkan ekspresi protein NOS vasodilatasi yang bergantung pada endotelin pada manusia (Gambar 2.7) (Verma

et al., 2002; Maki-Petaja *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2008). Penghambatan aktivitas eNOS meningkatkan ekspresi molekul adhesi leukosit dan kemokin seperti *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) (Zeiber, 1995 dan Tomita, 1998). Selain itu, peradangan yang berlangsung terus menerus dapat menyebabkan kelebihan produksi ROS. Stres oksidatif (didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara produksi dan pemecahan ROS) adalah utama penyebab disfungsi endotel, terutama melalui penurunan bioavailabilitas NO melalui reaksi kimia langsung dari superoksida dengan NO, sehingga pembentukan peroksinitrit (Touyz, 2004). Reaksi antara superoksida dan NO lebih cepat dari pemecahan superoksida melalui superoksida dismutase (Cudd dan Fridovich, 1982; Huie dan Padmaja, 1993). Selanjutnya, pembentukan peroksinitrit dapat mengakibatkan penurunan lebih lanjut dari kadar NO dan meningkatkan oksidatif stres dengan menghambat aktivitas eNOS melalui oksidasi 4-tetrahydrobiopterin (BH4), kofaktor dari eNOS. Hal ini menyebabkan eNOS *uncoupling*, di mana eNOS menghasilkan superoksida bukan NO (Vasquez-Vivar *et al.*, 1998). Peningkatan ROS yang berlebihan juga dapat menyebabkan seluler kerusakan dengan berinteraksi dengan DNA, lipid, dan protein, yang selanjutnya dapat mengganggu struktur pembuluh darah dan fungsi. Sel imun seperti sel T, makrofag, dan neutrofil mengekspresikan subunit NADPH oksidase dan menghasilkan ROS (Hassoun *et al.*, 2001 dan Guzik *et al.*, 2007).



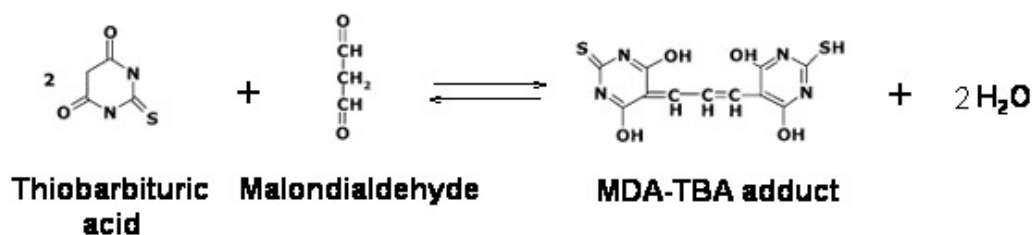
Gambar 2.7 Relaksasi vaskuler yang bergantung endotelin

2.3 Malondialdehid (MDA) dan Metode Pengukuran MDA

Pembentukan malondialdehid (MDA) diawali dengan peningkatan ROS. Peningkatan ROS menimbulkan terjadinya reaksi rantai yang disebut peroksidasi lipid yang mengakibatkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, antara lain malondialdehid (MDA) (Siswonoto, 2008; Prahalathan *et al.*, 2012; Hemalatha *et al.*, 2013). MDA pada tahap selanjutnya akan berinteraksi dengan derivat lisin dari degradasi Apolipoprotein B (ApoB), yang merupakan komponen protein utama dari LDL. Interaksi inilah yang membentuk *epitope* pada ApoB yang dapat dikenali oleh *scavenger receptors* (SR) makrofag dan sel-sel imun lainnya (Tsimikas *et al.*, 2005). Peroksidasi lipid adalah mekanisme jejas seluler pada tumbuhan dan hewan dan digunakan sebagai indikator stres oksidatif dalam sel dan jaringan. Pengukuran MDA, yang merupakan yang paling berlimpah dari produk peroksidasi lipid, adalah metode yang nyaman dan sensitif untuk estimasi kuantitatif konsentrasi lipid peroksida dalam berbagai jenis sampel termasuk obat, produk makanan, dan jaringan biologis dari manusia dan hewan.

Metode yang paling umum untuk mengukur MDA adalah berdasarkan pada reaksi dengan asam thiobarbituric (TBA). *Thiobarbituric acid reactive*

substances (TBARS) assay adalah metode kolorimetrik banyak digunakan untuk deteksi peroksidasi lipid dalam bahan biologis. MDA terbentuk sebagai hasil dari peroksidasi lipid dan bereaksi dengan asam thiobarbituric pada suhu tinggi (90-100°C) dan kondisi asam. Reaksi menghasilkan merah muda campuran MDA - TBA, produk dari 2 mol TBA ditambah 1 mol MDA. Campuran yang berwarna dapat diekstraksi menjadi pelarut organik seperti butanol dan diukur dengan fluorometri atau spektrofotometri menggunakan panjang gelombang 532 nm dengan koefisien kepunahan $\epsilon_{532} = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Cline et al., 2004)



Gambar 2.8 Reaksi dalam Pengukuran MDA

2.3.1 Peran MDA pada Hipertensi

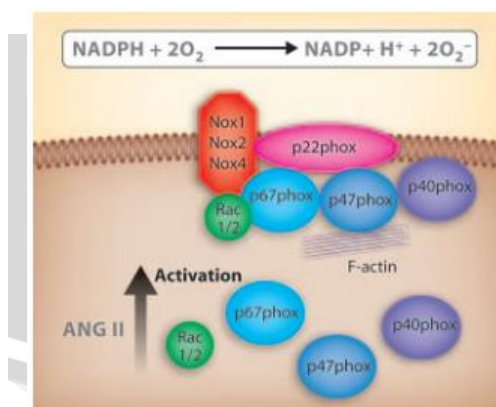
Hipertensi berhubungan erat dengan peningkatan stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif dapat mengganggu relaksasi endotel yang bergantung endotelium dan meningkatkan aktivitas kontraktilitas vaskuler (Grosman, 2008). Semua efek tersebut pada pembuluh darah dapat menjelaskan bagaimana peningkatan stres oksidatif dapat menyebabkan disfungsi endotel. *Russo et al.* (1998) menunjukkan bahwa peroksidasi lipid dan ketidakseimbangan dalam status antioksidan pada hipertensi esensial lebih besar dari normal sehingga stres oksidatif penting dalam patogenesis hipertensi esensial atau kerusakan arteri terkait dengan hipertensi esensial.

Penurunan superoksida dismutase dan aktivitas glutathion peroksidase telah diamati pada subjek hipertensi tidak diobati yang baru terdiagnosis dibandingkan dengan subyek kontrol dengan aktivitas superoksida dismutase menjadi berkorelasi terbalik dengan tekanan darah pada kelompok hipertensi, tetapi tidak pada subjek kontrol (Pedro, 2000). Produksi yang lebih tinggi dari hidrogen peroksida juga telah diamati pada subjek hipertensi yang tidak diobati dan subjek hipertensi yang diobati dibandingkan dengan subjek normotensif dengan korelasi yang signifikan antara kadar hidrogen peroksida dan tekanan darah sistolik (Lacy, 2000). Ada bukti yang berkembang bahwa peningkatan stres oksidatif dan kerusakan oksidatif merupakan mediator jejas vaskuler pada patologi kardiovaskuler, termasuk hipertensi, aterosklerosis, dan iskemia reperfusi (Touyz, 2008).

Peningkatan produksi anion superoksida dan hidrogen peroksida dibuktikan dalam percobaan dan hipertensi manusia. Perkembangan ini memiliki membangkitkan minat yang besar karena kemungkinan bahwa terapi target terhadap reaktif oksigen intermediet dengan menurunkan generasi spesies oksigen reaktif dan/atau dengan meningkatkan ketersediaan antioksidan, yang berguna dalam meminimalkan jejas vaskuler dan kerusakan organ akibat hipertensi (Touyz, 2008). Disfungsi endotel terkait dengan hipertensi dan diabetes mengarah ke peningkatan pembentukan radikal bebas dan meningkatkan oksidasi *Low Density Lipoprotein* [LDL] (Oranje, 2001 dan Quinones, 2002). Hidroperoksida lipid terurai untuk membentuk berbagai produk termasuk malondialdehid. Malondialdehid digunakan sebagai indikator kerusakan oksidatif sel dan jaringan.

2.4 Garam *Deoxycorticosterone Acetat* (DOCA)

Garam DOCA merupakan salah satu model hipertensi sekunder karena pengaruh endokrin (hormon). *Deoxycorticosterone* adalah hormon steroid yang dihasilkan oleh korteks adrenal yang memiliki aktifitas sebagai mineralokortikoid dan bertindak sebagai prekursor aldosteron (Blacker, 1992; Don and Lo, 2007). Peningkatan konsentrasi aldosteron menyebabkan peningkatan reabsorpsi ion natrium dan air dari sel-sel epitel di nefron distal ginjal sehingga mempengaruhi tekanan darah. Aldosteron berikatan dengan reseptor mineralokortikoid, anggota dari kelompok reseptor nuklear dari ligan yang tergantung faktor transkripsi, demikian juga mengatur transkripsi gen. Reseptor mineralokortikoid juga terdapat pada tempat lain, seperti sel-sel otot polos pembuluh darah, jantung, dan fibroblas otak sehingga memodifikasi tampilan klasik bahwa tindakan aldosteron eksklusif pada transportasi epitel. Peningkatan konsentrasi aldosteron dapat mengaktifkan stres oksidatif yang diregulasi NADPH oksidase pada tikus yang diinduksi garam DOCA (Iwashima *et al.*, 2008 dan Tomaschitz *et al.*, 2010).



Gambar 2.10 Enzim NADPH Oksidase

NADPH oksidase (NOX) adalah sebuah kelompok enzim dengan 7 anggota yang berbeda distribusinya. Enzim ini terdiri dari subunit katalitik, sebuah

subunit p22phox, subunit regulasi, protein aktivator, dan protein G kecil. NOX 2, 4, dan 5 ditemukan di sel endotel. Sedangkan NOX 1 dan 4 di sel otot polos pembuluh darah. Sementara itu NOX 2 dan 4 di fibroblas adventisia (Selemids *et al.*, 2008). Aldosteron menginduksi superoksida melalui aktivasi NADPH oksidase dan Rac1 pada sel endotel yang diperantarai reseptor mineralokortikoid, sehingga berkontribusi dalam pengembangan jejas vaskular yang diinduksi aldosteron (Iwashima *et al.*, 2008). NADPH oksidase adalah kontributor utama produksi ROS di berbagai model penyakit kardiovaskuler dan efeknya secara langsung berkaitan dengan peningkatan konsentrasi protein. Ekspresi NADPH oksidase dan subunit protein yang seperti Rac1 dan p67phox meningkat selama perkembangan penyakit kardiovaskular dan gagal jantung.

Aktivasi NADPH oksidase menyebabkan pelepasan ROS yang berkontribusi terhadap disfungsi endotel vaskuler, apoptosis, dan inflamasi (Nediani *et al.*, 2007) Superoksida yang diinduksi NADPH oksidase di ganglia simpatis juga bertanggung jawab untuk meningkatkan vasokonstriksi neurogenik (Cao *et al.*, 2007). Ekspresi p47phox dan gp91phox yang berlebihan dan penurunan ekspresi superoksida dismutase intraseluler juga telah dilaporkan dengan peningkatan beban garam (Wilcox, 2005). Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan NADPH oksidase bertanggung jawab terhadap peningkatan produksi superoksida dan berkontribusi dalam peningkatan tekanan darah pada tikus yang diinduksi oleh garam DOCA (Beswick *et al.*, 2001). Dengan demikian, pemberian yang mineralokortikoid sintetik, DOCA, dalam kombinasi dengan asupan garam yang tinggi dan uninefektomi meniru respon dari hipertensi yang diinduksi hiperaldosteronisme.

2.6 Vaksinasi

Vaksinasi adalah prosedur untuk meningkatkan derajat imunitas protektif terhadap patogen tertentu/toksin dengan preparat nonvirulen/nontoksik melalui induksi respon imun melalui stimulasi antibodi, imunitas seluler, maupun keduanya. Respon imun yang diinduksi oleh kebanyakan vaksin disebabkan oleh mediasi primer limfosit B yang dapat menghasilkan antibodi untuk mengineksprei toksin, menetralkan virus dan mencegah penempelan ke reseptor seluler, memfasilitasi fagositosis dan pembunuhan bakteri, berinteraksi oleh komplemen untuk melisiskan bakteri, dan mencegah adhesi bakteri ke permukaan mukosa. Ajuvan seperti CFAIFA atau alum digunakan untuk menambah respon imun (Kliegman *et al.*, 2007; Baratawidjaja, 2010).

Incomplete Freud's Adjuvant (IFA) pada dasarnya merupakan parafin minyak yang mengandung mannide monooleat sebagai surfaktan. Jika dicampur dengan larutan cair atau suspensi antigen, membentuk emulsi kental minyak air, dengan antigen dalam fase air. Imunisasi dengan IFA bisa menyebabkan respon yang diperantarai sel berkurang. Ini awalnya diartikan sebagai toleransi tetapi sekarang dipandang sebagai respon Th₂ (T helper 2) dari respon imun karena IFA gagal untuk merangsang APC (*Antigen Presenting Cell*) untuk bahaya *signaling*, menyebabkan pengembangan respon Th₂ kuat.

Sementara itu, *Complete Freud's Adjuvant* (CFA) mengandung *heat killed mycobacteria* (*Mycobacterium tuberculosis* atau lainnya) yang lebih ampuh dan lebih memadai untuk tujuan tertentu. *Mycobacteria* dalam CFA diasumsikan sebagai reseptor PAMP (*Pathogen Associated Molecular Pattern*) pada berbagai sel-sel imunokompeten dan memberikan stimulus bagi sel-sel ini untuk melepaskan mediator dan mengekspresikan reseptor membran yang akan

menyebabkan respon Th_1 dari respon imun lanjutan. Selain itu, CFA dapat merangsang produksi kemokin dari sel dendritik dan sel monosit untuk menghasilkan TNF- α , IL-12, dan IL-6 (Freud, 1995; Yip *et al.*, 1999; Heeger *et al.*, 2000). Dosis vaksin pada percobaan eksperimental sebelumnya menggunakan *heat-killed Salmonella typhimurium* 100 μ L dengan ajuvan CFA/IFA 100 μ L dapat menurunkan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta secara signifikan (Nugraha, 2011). Sementara itu penelitian yang dilakukan oleh Takeda *et al.* (2010) pemberian 200 ng vitamin D3 (*calcitriol*) mengurangi pembentukan lesi aterosklerotik.

