

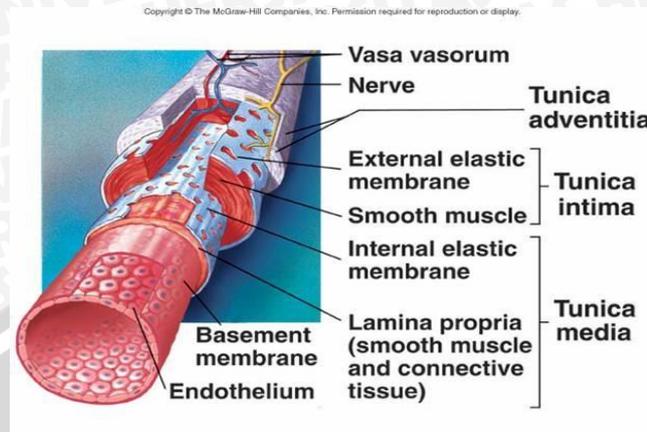
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Mengetahui adanya pengaruh pemberian darapladip terhadap penurunan IMT pembuluh darah dengan hewan coba tikus *Sprague Dawley* dengan diabetes mellitus tipe 2, memerlukan adanya studi yang lebih lanjut terkait komponen tersebut.

2.1 Struktur dan Fungsi Pembuluh Darah

Struktur sirkulasi dalam tubuh manusia ada dua sistem, yaitu system pembuluh limfe dan sistem kardiovaskular. Sistem pembuluh limfe terdiri atas saluran-saluran yang mengalirkan cairan ekstraseluler jaringan yang terdiri dari kapiler dan pembuluh limfe. Fungsinya adalah mengumpulkan cairan interstisium (limfe) yang berlebihan di jaringan untuk dikembalikan ke darah vena melalui pembuluh limfe besar. Sistem kardiovaskular terdiri atas jantung, arteri besar yang mencakup aorta dan trunkus pulmonalis serta cabang-cabangnya, arteriol yang merupakan cabang terkecil sistem arteri, vena yang mengalirkan darah ke jantung, dan vena yang biasanya menyertai arteriol. Sistem kardiovaskular memiliki dua sirkuit utama yaitu sirkulasi sistemik yang mengangkut darah ke semua sistem dan kembali ke jantung, sirkulasi paru mengangkut darah ke paru untuk pertukaran gas dan kembali ke jantung. Kedua sistem diatas akan membentuk sistem pembuluh darah (Eroschenko,Victor P, 2015).



Gambar 2.1 Lapisan Pembuluh darah

Pembuluh darah yang lebih besar umumnya memiliki struktur tiga lapis atau tunika. Lapisan-lapisan tersebut adalah tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia. Lapisan-lapisan tersebut tersusun dari arah dalam keluar dan mengelilingi lumen. Di lumen inilah darah akan mengalir dan bersikulasi di dalam tubuh (Aaronson et al., 2008).

2.1.1 Tunika Intima

Tunika Intima adalah lapisan yang tipis yang terdiri dari selapis (monolayer) sel endotel (endothelium) yang disokong oleh jaringan ikat. Tunika Intima merupakan lapisan paling dalam yang menghadap ke lumen. Lapisan ini terdiri dari epitel skuamosa selapis yang disebut endotel di sistem vaskuler (Eroschenko, Victor P, 2015). Sel-sel endotel yang melapisi lumen vaskular dirapatkan oleh suatu *tight junction* yang membatasi difusi molekul besar melewati endotelium. Sel-sel endotel memiliki peran krusial dalam mengendalikan permeabilitas vaskular, vasokonstriksi, angiogenesis (pertumbuhan pembuluh darah baru), dan regulasi hemostasis. Intima relatif lebih tebal pada arteri yang lebih besar, dan mengandung beberapa sel otot polos dalam arteri dan vena yang berukuran besar dan sedang (Aaronson et al., 2008).

2.1.2 Tunika Media

Tunika media merupakan lapisan tengah yang tebal yang dipisahkan dari tunika intima oleh suatu selubung berfenestrasi (berperforasi), lamina elastika interna, yang sebagian besar tersusun atas elastin. Lapisan media ini mengandung sel otot polos yang terbenam dalam matriks ekstraseluler yang terutama tersusun oleh kolagen, elastin, dan proteoglikan. Sel-sel tersebut berbentuk seperti gelondong atau silinder yang memanjang dan irregular dengan ujung tumpul, dan memiliki panjang 15-100 μm . Dalam sistem arterial, sel-sel ini tersusun secara sirkular atau dalam spiral bersusunan rendah, sehingga lumen vaskular menyempit saat sel-sel berkontraksi. Masing-masing sel cukup panjang untuk melapisi sekeliling arteriol kecil beberapa kali (Aaronson et al., 2008). Vasokonstriksi dan vasodilatasi merupakan fungsi tunika media dalam mempertahankan aliran darah dan tekanan darah dalam pembuluh darah (Junquera & Carnaero, 2007).

2.1.3. Tunika Adventisia

Tunika adventisia pada arteri dan vena besar mengandung vasa vasorum, yaitu pembuluh darah kecil yang juga menembus kedalam bagian luar media dan menyuplai dinding vaskular dengan oksigen dan nutrient (Aaronson et al., 2008).

Ketiga lapisan diatas juga terdapat dalam system vena, namun sedikit berbeda. Dibandingkan dengan arteri, vena memiliki tunika media yang lebih tipis dan mengandung jumlah sel otot polos lebih sedikit (Aaronson et al., 2008).

Tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia yang menyusun dinding

pembuluh darah masing-masing memiliki rataan ketebalan tertentu. Pada tikus normal diketahui bahwa ketebalan tunika intima sebesar 2,65 μm , tunika media sebesar 71.6 μm , dan tebal tunika adventisia sebesar 30,0 μm (Mello et al., 2004).

Ketebalan intima media menjadi tanda subklinis untuk aterosklerosis dan dapat menjadi identifikasi awal bagi seseorang dengan resiko penyakit kardiovaskular. Merokok, hipertensi, dan diabetes mellitus merupakan faktor resiko terjadinya ketebalan intima media sehingga dapat menyebabkan aterosklerosis. Hal ini dikarenakan adanya stress oksidatif yang terjadi selama aterosklerosis. Stress tersebut mengakibatkan inflamasi yang akan memicu proliferasi sel otot polos pembuluh darah. Proliferasi tersebut akan mengakibatkan penebalan dari tunika media dinding pembuluh darah dan meningkatkan angka kejadian kardiovaskular (Ohira et al., 2012). Peningkatan ketebalan intima media tersebut memiliki hubungan yang kuat dengan terjadinya aterosklerosis (Kaunang et al., 2015)

2.2 Aterosklerosis

2.2.1 Definisi

Aterosklerosis merupakan suatu penyakit akibat respon peradangan. Aterosklerosis terjadi akibat penumpukan plak pada arteri, yaitu pembuluh darah yang membawa darah kaya oksigen ke jantung dan organ lainnya. Plak terdiri dari lemak, kolesterol, kalsium, dan zat lain yang ditemukan dalam darah. Seiring dengan berjalannya waktu plak akan mengeras dan mengakibatkan penyempitan arteri sehingga jumlah aliran darah akan berkurang. Aterosklerosis dapat menyebabkan serangan jantung, stroke, bahkan kematian (U.S. Department of Health & Human Services, 2014).

Penyebab kematian dan kesakitan utama pada pasien DM (baik DM tipe 1 maupun DM tipe 2) adalah Penyakit Jantung Koroner, yang merupakan salah satu penyulit makrovaskular pada diabetes mellitus yang bermanifestasi sebagai aterosklerosis (Shahab A, 2012).

2.2.2 Epidemiologi

Sebanyak 17.5 juta jiwa meninggal akibat *cardiovascular disease* dan diperkirakan mencapai 31% dari kematian diseluruh dunia. Lebih dari 75% kematian akibat *cardiovascular disease* terjadi di Negara dengan pendapatan rendah dan menengah (*World Health Organization*, 2016). Penyakit arteri koroner akibat aterosklerosis meningkat pada pasien dengan diabetes mellitus sebesar 20% (Creager & Libby, 2002).

Prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia tahun 2013 sebesar 0,5% atau diperkirakan sekitar 883.447 orang, sedangkan berdasarkan diagnosis dokter/gejala sebesar 1,5% atau diperkirakan sekitar 2.650.340 orang. Estimasi jumlah penderita penyakit jantung koroner terbanyak terdapat di Provinsi Jawa Barat sebanyak 160.812 orang (0,5%), sedangkan Provinsi Maluku Utara memiliki jumlah penderita paling sedikit, yaitu sebanyak 1.436 orang (0,2%). Di Indonesia penyakit jantung dan pembuluh darah ini terus meningkat dan akan memberikan beban kesakitan, kecacatan dan beban sosial ekonomi bagi keluarga penderita, masyarakat, dan negara. Prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia tahun 2013 berdasarkan diagnosis dokter sebesar 0,5% (Kemenkes RI, 2014).

2.2.3 Etiologi

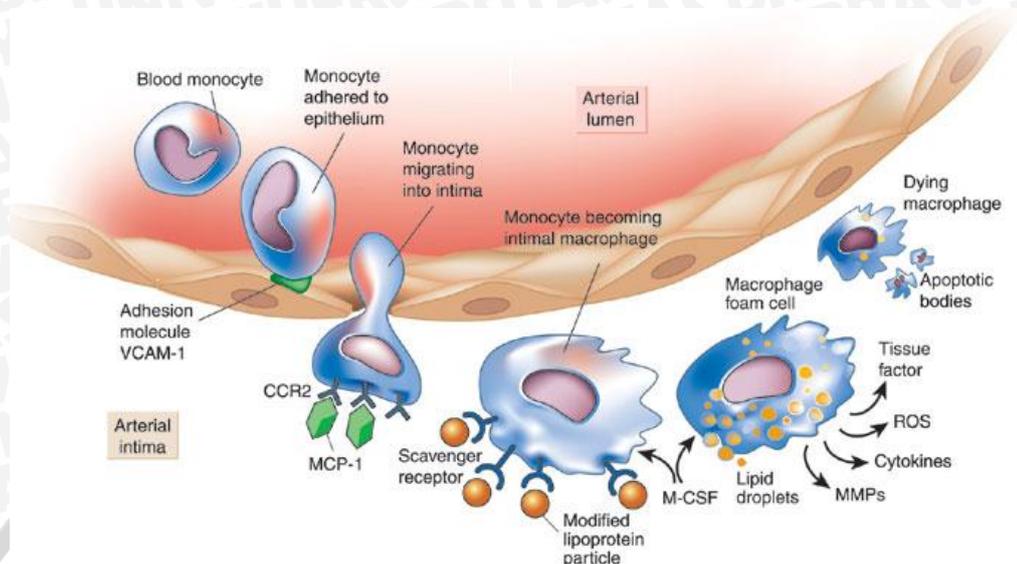
Penyebab Aterosklerosis saat ini masih belum diketahui, namun ada beberapa faktor resiko yang dapat mengakibatkan atau memicu terjadinya aterosklerosis. Faktor resiko yang mampu menstimuli terjadinya disfungsi endotel adalah hipertensi, hiperlipidemia, diabetes dan *lifestyle* (Hahn & Schwartz, 2009). Selain *lifestyle*, merokok, obesitas, defisiensi estrogen paska menopause, reaksi imun, genetik, laki-laki, dan pertambahan usia juga dapat mengakibatkan disfungsi endotel (Kumar, 2012). Faktor resiko pada aterosklerosis juga dapat dibedakan menjadi 2 bagian yaitu resiko mayor dan resiko minor (Kumar *et al.*, 2012).

Tabel 2.1 Faktor Resiko Atterosklerosis (Kumar *et al.*, 2012)

Resiko Mayor	Resiko Minor, Tidak Pasti, atau Tidak terukur
<p>Tidak Dapat dimodifikasi</p> <p>Usia</p> <p>Lelaki</p> <p>Riwayat Keluarga</p> <p>Kelainan Genetik</p> <p>Dapat dikendalikan</p> <p>Hiperlipidemia</p> <p>Hipertensi</p> <p>Merokok</p> <p>Diabetes</p>	<p>Kegemukan</p> <p>Kurang gerak</p> <p>Stress</p> <p>Defisiensi estrogen pasca menopause</p> <p>Asupan karbohidrat tinggi</p> <p>Lipoprotein(a)</p> <p>Asupan lemak tak jenuh yang diperkeras</p> <p><i>Chlamydia pneumoniae</i></p>

Proses inflamasi merupakan predisposisi terbentuknya plak aterosklerosis. Pada kondisi normal, sel endotel pada dinding arteri memiliki kemampuan untuk menahan adhesi dan agregasi leukosit dan cenderung bersifat fibrinolisis. Setelah terjadi inflamasi, sel endotel akan mengekspresikan

molekul adhesi yang akan merekrut leukosit. Leukosit terutama monosit merupakan sel inflamasi terbanyak yang mengisi plak. Yang mampu melekat pada dinding pembuluh darah melalui mediator sitokn proinflamasi, angiotensin II, dan lipoprotein teroksidasi. Apabila monosit telah menempel pada endotel maka protein proinflamasi yaitu chemokine akan mengaktifkan stimulus kemotaktik sehingga dapat masuk ke dalam intima. Di dalam intima, monosit matang akan menjadi makrofag yang mengekspresikan *scavenger receptors* yang memungkinkan mereka untuk menelan partikel lipoprotein yang akan menghasilkan gambaran sel busa pada lesi aterosklerosis. Makrofag akan terus berproliferasi dan melepaskan beberapa *growth factors* dan sitokin, termasuk enzim yang dapat merusak matrix ekstraseluler arteri yaitu metalloproteinases (MMPs) dan prokoagulan *tissue factor* (TS). Selain makrofag, limfosit T juga memegang peranan penting dalam proses inflamasi . T limfosit masuk kedalam intima dengan berikatan dengan VCAM-1. Akibat limfosit T menghasilkan sitokin proinflamasi seperti CD40 *ligand* dan CD154 yang juga melepas MMPs dan prokogaulan TS. CD40 *ligand* memiliki peranan dalam degradasi kolagen yang terkandung dalam *matrix ekstraseluller* arteri. Inflamasi juga berpengaruh dalam menghambat metabolisme kolagen. Limfosit T menghambat produksi kolagen oleh sel otot polos melalui sitokin interferon- γ . Kekurangan kolagen pada *matrix ekstraseluller* arteri akan menciptakan fibrous cap aterosklerosis yang mudah ruptur (Libby, 2010).



Gambar 2.2 Inflamasi berkontribusi dalam terbentuknya plak aterosklerosis (Libby,2010)

2.2.4 Patogenesis

Dahulu aterosklerosis dianggap hanya sebagai masalah pada pasien dewasa dan tidak pada usia anak-anak. Hal ini disebabkan karena manifestasi klinis dari aterosklerosis tidak muncul sampai usia pertengahan, namun didapatkan banyak bukti baru bahwa aterosklerosis terjadi mulai dari saat kanak-kanak dan bertambah berat dengan berjalannya waktu (Rahayuningsih, 2011). Proses aterosklerosis dimulai sejak anak-anak, dan sejak itu perkembangan fatty streak tetap berlangsung. Pernah ditemukan lesi aterosklerotik di aorta bayi, dan dikatakan lesi berkembang setelah umur 8-18 tahun, menjadi lesi bentuk lanjut pada umur 25 tahun, dan biasanya manifestasi klinik penyakit akan muncul pada umur 50-60 tahun, yang disebabkan karena terjadinya disrupsi plak (Co-investigator, 2013).

Aterosklerosis terutama mengenai arteri elastik (misal aorta, arteri karotis, dan arteri illiaka) sertavarteri muskular besar dan sedang (misal arteria koroneria

dan poplitea). Penyakit aterosklerosis paling sering mengenai arteri yang mendarahi otak jantung, ginjal, dan ekstremitas bawah. Konsekuensi utama pada aterosklerosis adalah infark miokardium, infark serebri, aneurisma aorta, dan penyakit vaskular perifer (gangren tungkai). Di arteri besar plak bersifat destruktif, menyerang tunika media di dekatnya dan memperlemah dinding pembuluh yang terkena, menyebabkan aneurisma yang dapat pecah. Selain itu, ateroma luas bersifat rapuh dan sering menghasilkan emboli ke sirkulasi distal (Kumar *et al.*, 2012).

Jejas endotel kronik mengakibatkan disfungsi endotel yang diduga karena hiperlipidemia, hipertensi, merokok, virus dan reaksi imun mengawali terjadinya aterosklerosis. Disfungsi endotel akan menyebabkan peningkatan permeabilitas endotel, peningkatan perlekatan leukosit, dan perubahan ekspresi produk gen sel endotel. Dua determinan terpenting dalam perubahan gangguan hemodinamik yang menyertai fungsi sirkulasi normal dan hiperkolesterolemia.

Efek gangguan hemodinamik disokong oleh kecenderungan untuk pembentukan plak di ostium pembuluh cabang, titik percabangan, dan disepanjang dinding posterior aorta abdomen, tempat terjadinya gangguan pola aliran. Selain itu, penelitian *in vitro* menyebutkan bahwa aliran laminar normal yang biasanya ditemukan di daerah bebas plak pada pembuluh arteri memicu gen endotel yang produknya (misal antioksidan superoksida dismutase) melindungi pembuluh dari terbentuknya lesi. Gen "ateroprotektif" ini dapat menjelaskan mengapa lokasi lesi aterosklerotik dini tidak bersifat acak.

Hiperlipidemia berperan pada aterosklerosis dengan cara mengganggu fungsi sel endotel melalui peningkatan pentukan radikal bebas oksigen yang mendeaktivasi nitrat oksida, faktor pelepas endotel utama. Terjadi penimbunan

lipoprotein di dalam intima di tempat yang permeabilitas endotelnya meningkat. Perubahan kimiawi lemak yang dipicu oleh radikal bebas yang dihasilkan makrofag atau sel endotel di dinding arteri akan menghasilkan LDL teroksidasi (termomodifikasi). LDL yang teroksidasi akibat hiperlipidemia akan ditelan oleh makrofag melalui *scavenger receptor* (reseptor penyapu). Makrofag juga menghasilkan interleukin 1 dan faktor nekrosis tumor yang meningkatkan perlekatan leukosit. Beberapa kemokin yang dihasilkan oleh makrofag (misal monocyte chemoattractant protein 1) dapat semakin merekrut leukosit ke dalam plak. Makrofag menghasilkan spesies oksigen toksik yang juga menyebabkan oksidasi LDL di lesi, dan sel ini mengeluarkan faktor pertumbuhan yang mungkin berperan terhadap proliferasi sel otot polos.

Proliferasi sel otot polos dan pengendapan matriks ekstrasel oleh sel otot polos di intima mengubah bercak perlemakan menjadi ateroma fibrofatty matang dan berperan menyebabkan pertumbuhan progresif lesi aterosklerotik. Beberapa faktor pertumbuhan diperkirakan berperan dalam proliferasi sel otot polos, termasuk *platelet derived growth factor* (dikeluarkan oleh trombosit yang melekat pada jejas endotel dan makrofag), faktor pertumbuhan fibroblas, dan *transforming growth factor α* . (Kumar *et al.*, 2012).

2.2.5 Intima Media Thickness Pembuluh Darah sebagai Petanda Aterosklerosis

American Heart Association merekomendasikan pengukuran kompleks ketebalan intima media sebagai metode paling baik untuk mengidentifikasi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskular. Keadaan dinding arteri karotis mencerminkan keadaan dinding arteri koroner (Muis & Murtala, 2011). Terdapat study yang menunjukkan bahwa hiperlipidemia merupakan faktor resiko terkuat untuk aterosklerosis, tetapi banyak faktor lain juga yang dapat memicu

aterosklerosis. Salah satu pemicu aterosklerosis adalah hiperglikemia yang merupakan kenaikan kadar glukosa darah yang salah satunya diakibatkan oleh stres hiperglikemia atau Diabetes mellitus tipe 2. Penelitian menemukan bahwa peningkatan ketebalan intima media dan kejadian plak dihubungkan dengan kejadian stroke iskemik pada penderita Diabetes mellitus tipe 2.

Tabel 2.2 Hubungan antara Risk Marker Kardiovaskular dengan Ketebalan Intima Media (Simon A & Levenson J, 2002)

RISK MARKER	POPULATION (STUDY)	ASSOCIATION
<u>Lipids</u>		
Lp(a)	Healthy adults (ARIC)/type II diabetics	Yes/Yes
LDL particle size	Healthy adult (ARIC)	Yes
ApoE polymorphism	Subjects with and without CAD	Yes
Post prandial triglyceride	Mild hypercholesterolemic	Yes
Oxidized LDL antibodies	Healthy adults	Yes
<u>Insulin</u>		
Insulin resistance	Vasospastic angina	Yes
Insulin sensitivity	Healthy subjects (IRAS)	Yes
Plasma Insulin	Healthy subjects (IRAS)	No
Proinsulin	Healthy subjects (IRAS)	Yes
<u>Gene polymorphism</u>		
Lipoprotein lipase	Dyslipidemic (ARIC)/healthy adults (STANISLAS)	Yes/No
Apo E4	Healthy adults (STANISLAS)	No
Angiotensin converting enzyme	Healthy adults/low risk subjects/diabetics	Yes/No/Yes
MTHFR	Healthy adults (CUDAS)	No
<u>Homocystein</u>		
Mild hyperhomocysteinemia	Healthy subjects (CUDAS/ARIC/Rotterdam)	Yes
Severe homocystinemia	Homocystinuria	Yes
<u>Infection</u>		
Chlamidia pneumoniae	Healthy adults	No
Cytomegalo virus	Healthy adults (ARIC)	Yes
Herpes virus	Healthy adults (ARIC)	No
<u>Other factors</u>		
Hostility	Healthy post menopause women	Yes
Social inequality	Healthy adults (ARIC)	Yes
Alcohol consumption	Healthy adults (ARIC)	No
Birth weight	Healthy adults	Yes
Physical activity	Healthy men	No
Family history of CAD	Blood and plasma viscosity	Healthy adults/Healthy subjects
Serum sialic acid	(AXA/Edinburgh)	Healthy adults
Cell adhesion molecules	(ARIC)	Outpatients
Von willebrand factor	Cerebrovascular disease patients	Older adults
Serum elastase activity		Yes/Yes/Yes/Yes/Yes/No

Data studi dari PDAY (*Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth*) mengatakan bahwa individu berusia 15-34 tahun menunjukkan kecenderungan untuk mengembangkan lesi aterosklerotik dalam segmen arteri tertentu. Pada aorta adominal lesi yang paling mungkin berkembang berada pada pembuluh darah dorsolateral hanya di proksimal dari bifocartio. Beberapa faktor resiko terkait didalamnya (Dawson, 2009). Banyak studi sebelumnya juga

menunjukkan bahwa ketebalan intima media adalah prediktor kuar komplikasi koroner apapu metode dan situs pengukurannya (Simon A & Levenson J, 2002).

2.3 Diabetes Mellitus

2.3.1 Definisi

Diabetes Mellitus adalah gangguan kronis metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Diabetes Mellitus juga merupakan kondisi dimana tubuh tidak dapat memproses makanan menjadi energi. Sebagian besar makanan akan dirubah menjadi glukosa untuk menghasilkan energi. Organ pankreas memproduksi hormon yang disebut insulin untuk mengubahnya menjadi energi. Namun pada pasien Diabetes Mellitus organ pankreas tubuh tidak memproduksi cukup hormon insulin atau hormon insulin yang ada tidak dapat digunakan sebagaimana mestinya. Sehingga akan menyebabkan glukosa menumpuk di dalam darah. Penyakit Diabetes juga disebut dengan penyakit gula (Kelly, 2011). Kronik hiperglikemia pada Diabetes berhubungan kerusakan jangka panjang dan kegagalan fungsi organ terutama mata, ginjal, syaraf, jantung, dan pembuluh darah. Hal ini merupakan penyebab utama morbiditas dan kematian akibat diabetes (*American Diabetes Association, 2013*)

2.3.2 Epidemiologi

Pada tahun 2012 diperkirakan terdapat 1.5 juta jiwa meninggal akibat penyakit diabetes dan tahun 2014 diperkirakan 9% orang dewasa (lebih dari 18 tahun) memiliki penyakit diabetes. Lebih dari 80% kematian akibat diabetes terjadi pada negara dengan pendapatan rendah dan menengah (WHO, 2015). Menurut PERKENI 2011, laporan dari WHO menyatakan bahwa Indonesia menempati peringkat keempat setelah India, China, dan Amerika Serikat. WHO

juga memprediksi jumlah pasien Diabetes Mellitus di Indonesia akan meningkat dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030.

Proporsi Diabetes Mellitus di Indonesia menurut RISKESDAS 2013 mencapai 6.9% atau sekitar 12 juta jiwa pada penduduk Indonesia usia 15 tahun keatas (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Diabetes Mellitus lebih sering pada wanita daripada laki-laki, dan diagnosis serta gejalanya akan meningkat seiring dengan bertambahnya umur (Penelitian & Pengembangan, 2013).

2.3.3 Klasifikasi

Menurut *American Diabetes Association* tahun 2015, Diabetes Mellitus dapat diklasifikasikan kedalam beberapa kategori yaitu.

1. Diabetes Mellitus tipe 1 yang diakibatkan karena kerusakan sel beta yang menyebabkan defisiensi insulin yang absolut.
2. Diabetes Mellitus Tipe 2 yang disebabkan oleh defek pada sekresi insulin.
3. Diabetes Mellitus Gestasional yang menyerang ibu hamil terutama pada trimester kedua atau ketiga.
4. Diabetes tipe khusus seperti diabetes neonatal, penyakit eksokrin, dan narkoba atau bahan kimia yang menginduksi diabetes.

2.4 Diabetes Mellitus tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 adalah salah satu faktor resiko terkait aterosklerosis. Untuk mengetahui bagaimana peranan Diabetes mellitus tipe 2 dapat menjadi pemicu terjadinya aterosklerosis diperlukan studi lebih lanjut taerkait hal tersebut.

2.4.1 Fisiologi Insulin Normal

Gen insulin diekspresikan oleh sel beta islet pankreas, tempat insulin disintesis dan disimpan dalam granula sebelum dikeluarkan. Pengeluaran dari

sel beta berlangsung dalam proses bifasik yang melibatkan dua simpanan insulin. Peningkatan kadar glukosa darah mendorong pelepasan segera insulin. Rangsangan terpenting yang memicu pengeluaran glukosa adalah insulin, yang juga memacu sintesis insulin. Perubahan metabolisme intrasel yang dipicu oleh glukosa ini, disertai input kolinergik yang normal dari sistem syaraf otonom, meningkatkan sekresi insulin oleh sel beta. Insulin adalah hormon anabolik utama. Insulin diperlukan untuk pengangkutan glukosa dan asam amino melewati membran, pembentukan glikogen dalam hati dan otot rangka, perubahan glukosa menjadi trigliserida, sintesis asam nukleat, dan sintesis protein. Fungsi metabolik utamanya adalah meningkatkan laju pemasukan glukosa ke dalam sel tertentu di tubuh seperti sel otot serat lintang termasuk sel miokardium, fibroblas, dan sel lemak (Kumar *et al.*, 2012)

Mula-mula insulin akan berikatan dengan reseptor insulin dimana jumlah dan fungsinya sangat penting untuk mengendalikan kerja insulin. Reseptor insulin berupa tirosin kinase yang memicu sejumlah respon intrasel yang mempengaruhi jalur metabolisme. Salah satu respon yang penting terhadap insulin adalah translokasi *glucose transport unit* (GLUTs, yang memiliki banyak tipe spesifik jaringan) dari apparatus golgi ke membran plasma yang mempermudah penyerapan glukosa oleh sel. Oleh karena itu, hasil akhir utama insulin adalah dibersihkannya glukosa dari sirkulasi (Kumar *et al.*, 2012).

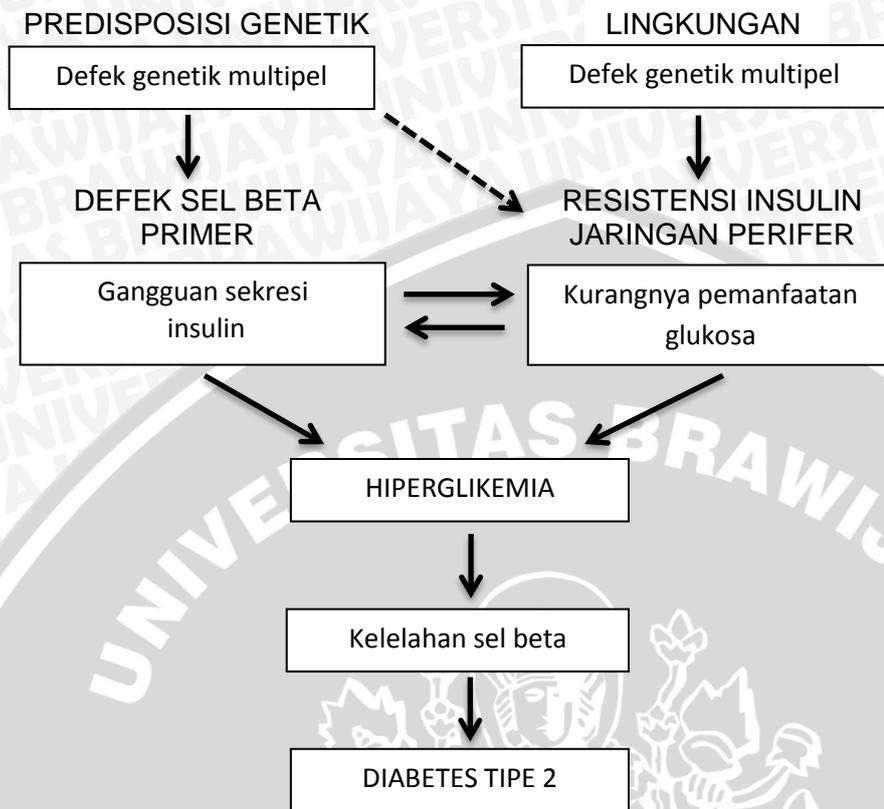
Gambaran terpenting pada Diabetes Mellitus adalah gangguan toleransi glukosa. Hal ini dapat terlihat dari uji toleransi glukosa oral yang memeriksa kadar glukosa darah setelah puasa semalam dan kemudian beberapa jam setelah pemberian glukosa per oral. Pada orang normal, glukosa darah hanya akan sedikit meningkat dan respon insulin berlangsung cepat yang memastikan

kadar glukosa ke tingkat normoglikemik dalam satu jam. Penderita Diabetes Mellitus glukosa meningkat ke kadar yang terlalu tinggi secara berkepanjangan. Hal ini terjadi akibat kekurangan insulin yang dikeluarkan oleh pankreas atau akibat gangguan respon jaringan sasaran terhadap insulin atau keduanya. Kriteria laboratorium yang digunakan untuk diagnosis Diabetes Mellitus yaitu:

1. Konsentrasi glukosa plasma vena puasa (semalam) 126 mg/dL atau lebih pada lebih dari satu kali pemeriksaan.
2. Gejala klinis diabetes dan kadar glukosa sewaktu 200 mg/dL atau lebih
3. Setelah ingesti 75 g glukosa, konsentrasi glukosa plasma vena 2 jam 200 mg/dL atau lebih (ADA, 2016)

2.4.2 Patogenesis Diabetes Mellitus tipe 2

Diabetes Mellitus tipe 2 bersifat multifaktorial, namun sebagian besar terjadi akibat obesitas atau dengan kumpulan komponen lemak visceral yang menonjol (Dimas P. et al., 2014). Kebanyakan pasien diabetes mengalami obesitas yang akan menyebabkan resistensi insulin. Selain itu, faktor genetik juga berperan penting pada Diabetes tipe ini. Seseorang dengan riwayat keluarga diabetes memiliki resiko menderita Diabetes lima hingga sepuluh kali lebih besar daripada yang tidak memiliki keluarga dengan riwayat diabetes. Dua defek metabolik yang menandai Diabetes Mellitus tipe 2 adalah gangguan sekresi insulin pada sel beta dan resistensi insulin (ketidakmampuan jaringan perifer berespon pada insulin). Diabetes Mellitus tipe 2 sering tidak terdiagnosis untuk bertahun-tahun karena hiperglikemia berkembang secara bertahap dan pada tahap-tahap awal manifestasinya tidak cukup berat (*American Diabetes Association, 2013*).



Gambar 2.3 Predisposisi Genetik dan Pengaruh Lingkungan Berpadu untuk Menimbulkan Hiperglikemia dan Diabetes Klinis (Kumar et al., 2012)

2.4.3 Faktor Resiko

1. *Body Mass Index* (BMI), banyak penelitian mengatakan bahwa BMI yang meningkat merupakan factor resiko tinggi Diabetes Mellitus tipe 2. Obesitas yang terjadi dapat meningkatkan resistensi insulin. Hal ini dikarenakan Jaringan adipose melepaskan *fatty acid*, gliserol, sitokin proinflamasi dan factor lainnya yang dapat meningkatkan resistensi insulin. Resistensi insulin diikuti oleh rusaknya sel beta akan menyebabkan terjadi gagal sekresi insulin untuk mengontrol gula darah (Joseph, 2010).

2. Dislipidemia, merupakan keadaan yang ditandai dengan kenaikan kadar lemak darah (Trigliserida >250 mg/dl). Terdapat hubungan antara kenaikan plasma insulin dengan rendahnya HDL (<35 mg/dl) sering didapat pada pasien Diabetes Mellitus (Fatimah, 2015).

3. Hipertensi, pada hipertensi terjadi Disfungsi endotel yang merupakan salah satu faktor yang dapat menjelaskan hubungan tekanan darah dan diabetes Mellitus tipe 2 (Joseph, 2010). Selain itu, hipertensi berhubungan erat dengan tidak tepatnya penyimpanan garam dan air atau meningkatnya tekanan dari dalam tubuh pada sirkulasi pembuluh darah perifer (Fatimah, 2015).
4. Merokok, pada perokok berat dengan ≥ 20 batang/hari mengakibatkan resiko tinggi Diabetes Mellitus tipe 2. Hal ini menyebabkan resistensi insulin dan respon sekresi insulin yang tidak adekuat. Nikotin dan zat lainnya yang terkandung didalam rokok juga mempengaruhi sel beta didalam pankreas untuk bekerja. (Joseph, 2010)
5. Keturunan, sekitar 50% pasien diabetes mellitus tipe 2 mempunyai orang tua yang menderita diabetes, dan lebih dari sepertiga pasien diabetes mempunyai saudara yang mengidap diabetes. Diduga bahwa bakat diabetes mellitus merupakan gen resesif. Hanya orang yang bersifat homozigot dengan gen resesif yang menderita diabetes mellitus.
6. Kurang gerak badan, semakin badan kurang bergerak maka makin mudah seseorang terkena diabetes. Olahraga atau aktivitas lainnya membantu untuk mengontrol berat badan. Glukosa darah dibakar menjadi energi. Sel-sel tubuh menjadi lebih sensitif terhadap insulin. Peredaran darah menjadi lebih baik dan resiko terjadinya diabetes mellitus tipe 2 akan turun sampai 50%.
7. Umur, berdasarkan penelitian usia >45 tahun adalah usia yang terbanyak terkena diabetes mellitus tipe 2 (Fatimah, 2015).

2.4.4 Tanda dan Gejala

Gejala diabetes diabetes mellitus yaitu sering minum (polidipsi), sering kencing (poliuri) terutama malam hari, sering makan (poliphagi), berat badan

yang turun dengan cepat, keluhan lemah, kesemutan pada tangan dan kaki, gatal-gatal, penglihatan jadi kabur, impotensi, luka sulit sembuh, keputihan, penyakit kulit akibat jamur di bawah lipatan kulit, dan pada ibu-ibu sering melahirkan bayi besar dengan berat badan >4 kg. Didefinisikan sebagai DM jika pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter atau belum pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter tetapi dalam 1 bulan terakhir mengalami gejala: sering lapar dan sering haus dan sering buang air kecil & jumlah banyak dan berat badan turun (Penelitian & Pengembangan, 2013).

2.4.5 Komplikasi

Temuan patologis di pankreas bervariasi dan tidak selalu mencolok. Perubahan morfologi berkaitan dengan komplikasi pada tahap selanjutnya. Onset keparahan dan komplikasi pada tiap pasien dengan diabetes berbeda-beda. Hal ini sesuai dengan keadaan pasien. Jika pasien dapat mengendalikan diabetesnya, maka onset mungkin tertunda. Namun pada sebagian besar pasien kemungkinan terjadi perubahan morfologik di arteri (aterosklerosis), membrane basal pembuluh darah (mikroangiopati), ginjal (nefropati diabetes), retina (retinopati), saraf (neuropati) dan jaringan lain setelah 10 hingga 15 tahun. (Kumar, 2012).

2.4.6 Terapi

1. Terapi Diet dan olahraga

Terapi ini bertujuan untuk memperbaiki kesehatan umum penderita, mengarahkan ke berat badan normal, dan mempertahankan glukosa darah sekitar normal. Menu makanan yang dikonsumsi penderita DM sesuai saran serta anjuran tenaga medis, sehingga konsumsi makanan pagi, siang, sore terkendali. Selain pengaturan pola makan, olahraga juga merupakan kegiatan

yang dapat mengontrol kesehatan para penderita DM. Olahraga mampu menstabilkan gula dalam darah, serta mampu menjaga kebugaran fisik para penderita DM. (Dimas S, 2013)

2. Terapi Farmakologis

Metformin dalam konsensus ADA-EASD (2008), dianjurkan sebagai terapi obat lini pertama untuk semua pasien Diabetes Melitus Tipe 2 kecuali pada mereka yang punya kontraindikasi terhadap metformin misalnya antara lain gangguan fungsi ginjal (kreatinin serum >133 mmol/L atau 1,5 mg/dL pada pria dan >124 mmol/L atau 1,4 mg/dL pada wanita), gangguan fungsi hati, gagal jantung kongestif, asidosis metabolik, dehidrasi, hipoksia dan pengguna alkohol. Namun metformin sama sekali tidak dianjurkan pada lansia >80 tahun. Metformin bermanfaat terhadap sistem kardiovaskular dan mempunyai risiko yang kecil terhadap kejadian hipoglikemia (Kurnawan, 2010)

Jika target HbA1c tidak tercapai dalam 3 bulan setelah penggunaan metformin maka dapat dipertimbangkan untuk menggunakan kombinasi obat. Kombinasi metformin dengan satu dari enam pilihan pengobatan yaitu sulfonilurea, thiazolidinedione, DPP-4 inhibitor, GLP-1 receptor agonist, atau basal insulin dapat menjadi pilihan (*American Diabetes Association, 2015*).

3. Istirahat yang cukup

Penderita DM rentan terhadap komplikasi dan penyakit luka yang bisa menyebabkan amputasi, hal utama bagi penderita DM adalah menjaga kesehatan serta aktivitas yang rutin namun tidak memberatkan, sehingga terjadi keseimbangan dengan aktivitas yang sudah dilakukan, Hal ini dilakukan agar penderita DM tidak kelelahan, sehingga aktivitas dan istirahat dapat seimbang,

dan dampaknya dapat dirasakan pada kualitas penderita DM tersebut. (Dimas S, 2013)

2.5 Diabetes Mellitus tipe 2 dan Aterosklerosis

Penyebab aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 bersifat multifaktorial, melibatkan interaksi kompleks dari berbagai keadaan seperti hiperglikemia, hiperlipidemia, stres oksidatif, penuaan dini, hiperinsulinemia dan/atau hiperproinsulinemia serta perubahan-perubahan dalam proses koagulasi dan fibrinolisis. Terjadinya peningkatan resiko aterosklerosis pada pasien diabetes mellitus belum diketahui secara pasti, namun dari hasil penelitian didapatkan bahwa angka kejadian aterosklerosis lebih tinggi pada pasien DM dibanding populasi non DM, Pasien DM mempunyai risiko tinggi untuk mengalami trombosis, penurunan fibrinolisis dan peningkatan respons inflamasi, dan ada pasien DM terjadi glikosilasi protein yang akan mempengaruhi integritas dinding pembuluh darah (Shahab A, 2014).

Haffner dan kawan-kawan, membuktikan bahwa aterosklerosis pada pasien DM mulai terjadi sebelum timbul onset klinis DM. Studi epidemiologi juga menunjukkan terjadinya peningkatan risiko payah jantung pada pasien DM dibandingkan populasi non DM, yang ternyata disebabkan karena kontrol glukosa darah yang buruk dalam waktu yang lama. Disamping itu berbagai faktor turut pula memperberat risiko terjadinya payah jantung dan stroke pada pasien DM, antara lain hipertensi, resistensi insulin, hiperinsulinemia, hiperamilinemia, dislipidemia, dan gangguan sistem koagulasi serta hiperhomosisteinemia (Shahab A, 2014).

Pembuluh darah normal memiliki lapisan dalam yang disebut endotelium. Lapisan pembuluh darah ini membuat sirkulasi darah mengalir lancar. Untuk

mencapai kelancaran ini, endotelium memproduksi Nitrous Oksida Lokal (NO). NO berfungsi untuk melemaskan otot polos dinding pembuluh darah dan mencegah sel darah menempel ke dinding. Insulin adalah golongan hormon yang merangsang produksi NO untuk sel-sel yang melapisi pembuluh darah. Namun pada penderita Diabetes Mellitus, mereka resisten terhadap insulin. Akibatnya efek stimulasi ini hilang dan mengakibatkan peningkatan kecenderungan terhadap pembentukan plak aterosklerosis.

Para peneliti telah menemukan bagaimana diabetes menyebabkan peradangan dan memperlambat aliran darah, secara dramatis mempercepat munculnya plak aterosklerosis. Aterosklerosis atau pengerasan arteri disebabkan oleh terlalu banyak kolesterol yang menyumbat arteri dengan simpanan lemak yang disebut plak. Ketika pembuluh darah menjadi tersumbat, serangan jantung dan stroke dapat terjadi (Salwa Rina, 2016).

Pada seseorang yang mengalami Diabetes Mellitus akan terjadi peningkatan kadar glukosa darah. Sebagian besar glukosa darah meningkatkan peradangan yang berhubungan dengan aterosklerosis. Pasien Diabetes dua kali lebih mungkin untuk mengalami pengerasan arteri. Hiperglikemia memiliki 2 efek pada sel-sel endotelium yang melapisi pembuluh darah sebagai bagian aterosklerosis.

1. Meningkatkan produksi radikal bebas, menyebabkan kematian sel dini (apoptosis)
2. Mengurangi ketersediaan nitrat oksida (NO) yang memungkinkan pembuluh darah tidak efektif untuk memperlancar aliran darah

Peradangan memainkan peran sentral dalam patofisiologi aterosklerosis, mulai dari inisiasi, melalui perkembangan, dan akhirnya mengarah ke komplikasi

trombotik aterosklerosis. Hiperglikemia yang diinduksi disfungsi endotelium, bersama dengan potensi hiperkoagulasi pada diabetes mellitus, mempercepat proses komplikasi aterotrombotik (Salwa Rina, 2016).

2.6 Ketebalan Tunika Intima Media

2.6.1 Definisi

Ketebalan Tunika Intima Media adalah penebalan yang terjadi pada lapisan dinding pembuluh darah bagian tunika intima hingga tunika media. Keadaan ini menjadi tanda awal histopatologi proses aterosklerosis (Ohira *et al.*, 2011). Ketebalan dinding pembuluh darah berbeda-beda, tergantung pada fungsi masing-masing sistem. Sistem arterial, sistem kapiler, ataupun sistem venosa (Pinatih, 2011)

Secara histoanatomik, ketebalan dinding ketiga sistem diatas memiliki perbedaan sesuai dengan fungsi utamanya masing-masing. Aorta dan pembuluh darah arteri, fungsinya untuk menyalurkan darah dari jantung ke seluruh tubuh sehingga mengalami tekanan yang tinggi. Oleh karena itu, pembuluh darah arteri memiliki dinding vaskuler yang kuat dan darah mengalir dengan cepat ke jaringan-jaringan. Arteriol yang berfungsi sebagai katup pengatur dari sistem arteri memiliki dinding otot yang kuat sehingga memungkinkannya untuk berdilatasi beberapa kali, dengan demikian dapat mengubah aliran darah ke kapiler (Pinatih, 2011).

Kapiler, karena fungsinya sebagai penukar cairan dan bahan gizi, memiliki dinding yang sangat tipis dan permeabel terhadap zat yang bermolekul kecil. Selanjutnya dari kapiler darah kemudian berlanjut menuju venula-venula yang kemudian bergabung menjadi pembuluh darah vena (Pinatih, 2011).

Vena berfungsi mengalirkan darah kembali ke jantung sehingga memiliki tekanan dinding yang sangat rendah dan sebagai akibatnya dinding vena tipis. Namun, dinding vena berotot yang memungkinkannya untuk mengecil dan membesar, sehingga vena mampu menyimpan darah dalam jumlah kecil atau besar tergantung kepada kebutuhan badan (Pinatih, 2011).

Tabel 2.3 Tebal Dinding Pembuluh Darah, Diameter Lumen dan Luas Penampang Lintang (Area) Pembuluh Darah (Barras F, 2006)

SISTEM PEMBULUH DARAH	TEBAL DINDING	LUMINAL	AREA
Aorta	2 mm	2.5 cm	4.5 cm ²
Arteri	1 mm	0.4 cm	20 cm ²
Arterioli	20 µm	30 µm	400 cm ²
Kapiler	1 µm	5 µm	4500 cm ²
Venoli	2 µm	20 µm	4000 cm ²
Vena	0.5 mm	5 mm	40 cm ²
Vena Kava	1.5 mm	3 cm	18 cm ²

American Heart Association (AHA) merekomendasikan pengukuran dari kompleks intima media sebagai metode paling baik untuk identifikasi aterosklerosis. Ketebalan tunika intima media dianggap sebagai penanda awal terjadinya aterosklerosis (Muis & Murtala, 2011). Pengukuran lapisan tunika intima media termasuk pengukuran medis non invasive dan sesuai dengan populasi dengan ukuran luas. Pengukuran ketebalan tunika intima media saat ini mulai meningkat dan digunakan stratifikasi resiko terhadap aterosklerosis (Lorenz *et al.*, 2007). Penelitian menyebutkan bahwa proliferasi sel otot polos ikut berperan dalam IMT pada dinding arteri (Järvisalo *et al.*, 2001). Selain sel otot polos, penurunan fungsi sel endotel juga terlibat dalam proses penebalan intima media.

2.6.2 Proses terjadinya Ketebalan Intima Media

2.6.2.1 Sel Endotel

Lapisan terdalam dari tunika intima, terdiri dari selapis sel yang disebut sel endotel. Sel endotel berfungsi untuk mengatur aliran darah yang dipompa oleh jantung menuju ke seluruh tubuh, begitu juga sebaliknya (Baraas F., 2006), memiliki kemampuan yang luar biasa dalam mengadaptasikan dirinya, baik secara jumlah maupun kemampuan mengatur untuk tujuan memenuhi kebutuhan lokal (Bruce A, et al., 2002). Disamping itu sel ini, bilamana rusak akan mudah diganti oleh adanya *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), hanya saja diperlukan waktu untuk proses regenerasi tersebut. Kelebihan inilah yang memberikannya kemampuan untuk memiliki fungsi yang berbeda-beda sesuai dengan fungsi metabolik organ yang diembannya masing-masing (Baraas F., 2006).

Secara umum sel endotel memiliki 3 (tiga) fungsi dasar, yaitu: Pertama, endotel berfungsi sebagai garis pertahanan utama (barrier) terhadap hampir semua elemen asing yang mencoba invasi ke dalam suatu organ; kedua endotel berfungsi sebagai tempat metabolisme dan katabolisme senyawa-senyawa tertentu; dan ketiga, sel ini berfungsi sebagai tempat sintesis berbagai senyawa vasoaktif yang diperlukan dalam mempertahankan tonus pembuluh darah, yaitu antara lain sintesis berbagai mediator inflamasi, mediator proliferasi sel-sel subendotel dan berbagai faktor hemostasis lainnya (Guyton, 2000; Libby P., et al., 2002; Najjar et al., 2005; Baraas F., 2006 dalam Pinatih, 2011).

Fungsi di atas disebabkan karena peran utama sel endotel adalah mengendalikan sifat-sifat arteri seperti tonus vaskuler, permeabilitas vaskuler, angiogenesis dan respon terhadap proses inflamasi (Najjar et al., 2005) Sel

endotel mengeluarkan Oksida Nitrit (NO) yang berperan sangat penting dalam mempertahankan tonus pembuluh darah khususnya untuk proses relaksasi pembuluh darah (Libby P., et al., 2002; Böger, 2004; Najjar et al., 2005; Baraas F., 2006 dalam Penatih, 2011).

NO merupakan hasil dari proses perubahan L-Arginine menjadi sitrulin yang dikatalisis oleh enzim Nitric Oxide Synthase (NOS) yang termasuk dalam kelompok sitokrom P-450. Telah dapat diidentifikasi 3 (tiga) isoform NOS yaitu: neuronal NOS (nNOS) yang berasal dari kromosom 7, inducible NOS (iNOS) 18 yang berasal dari kromosom 12 dan endothelial constitutive NOS (ecNOS) yang berasal dari kromosom 17 (Baraas F., 2006).

Gaya gesek pulsatil (shear stress) darah dan dengan adanya ion Ca^{2+} dari luar sel dapat menyebabkan ecNOS menjadi aktif. Oleh karena itu produksi NO oleh sel endotel distimulasi dan dipertahankan oleh faktor-faktor yang dapat meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} intrasel, seperti gaya gesek pulsatil pada permukaan sel-sel endotel yang selalu berlangsung disepanjang waktu, perubahan keseimbangan berbagai molekul sinyal vasoaktif yang bersifat vasodilatatif dengan molekul sinyal vasokonstriktif dan sebagainya. Oksida Nitrit bekerja lokal (autokrin dan parakrin) oleh karena waktu paruhnya sangat pendek dan segera bereaksi dengan air dan oksigen membentuk nitrit dan nitrat. Oksida Nitrit ini selalu diproduksi dan didegradasi secara sangat dinamik di dalam sel-sel endotel (Baraas F., 2006 dalam Pinatih, 2011).

2.6.2.2 Penuaan Pembuluh Darah (*Vascular Aging*)

Umur merupakan faktor risiko dominan terhadap penyakit yang menyerang pembuluh darah. Penuaan pembuluh darah dikaitkan dengan

perubahan struktur dan fungsi keberadaan pembuluh darah khususnya pembuluh darah besar (Mengden, 2006; Nilson, 2008 dalam Pinatih, 2011), seperti diameter lumen, ketebalan dinding, peningkatan kekakuan dinding dan perubahan fungsi endotel. Pembuluh darah yang paling sering terkena adalah yang bersifat elastis seperti aorta sentralis dan arteri carotis (Najjar et al., 2005). Lumen pembuluh darah besar akan mengalami dilatasi, dindingnya semakin tebal dan semakin kaku. Perubahan ini dipengaruhi oleh perubahan struktur, mekanika dan biokimiawi dinding oleh karena faktor umur yang kemudian berakibat pada menurunnya arterial compliance dan kakunya dinding (Jani & Rajkumar, 2006; Laurent et al., 2006; Nilson, 2008 dalam Pinatih, 2011).

Tabel 2.4 Perubahan Struktur dan Fungsi Arteri yang berkaitan dengan Umur pada Manusia, Kera, dan beberapa Mahluk Monogastrik lainnya (Najjar et al., 2005)

PARAMETER ARTERI	MENUA				HIPERTENSI	ATEROSKLEROSIS
	MANUSIA > 65 TH	KERA 15-20 TH	TIKUS 24-30 BL.	KELINCI 3-6 TH.		
Lumen melebar	+	+	+	+	±	?
↑ Kekakuan	+	+	+	+	+	?
↑ Collagen	+	+	+	+	±	?
↓ Elastin	+	+	+	+	±	?
Disfungsi endotel	+	+	+	+	+	+
Intima menebal difus	+	+	+	+	+	+
Keterlibatan lemak	-	-	-	-	±	+
↑ jmlh <i>VCMC</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Macrophage</i>	+	-	-	-	+	+
T sel	+	-	-	-	+	+
↑ Matriks	+	+	+	+	+	+
↑ <i>Local Ang II-ACE</i>	+	+	+	+	+	+
Disregulasi MMP	+	+	+	?	+	+
↑ MCP-1/CCR2	+	+	+	+	+	+
↑ ICAM	?	?	+	?	+	+
↑ TGFB	?	+	+	?	+	+
↑ NADPH oxidase	?	?	+	?	+	+
↓ VEGF	+	?	?	+	+	+
↓ NO bioavailability	?	?	+	+	+	+
↓ panjang telomer	+	+	+	?	?	+
Hipertensi	±	±	±	±	+	±
Aterosklerosis	±	-	-	-	±	+

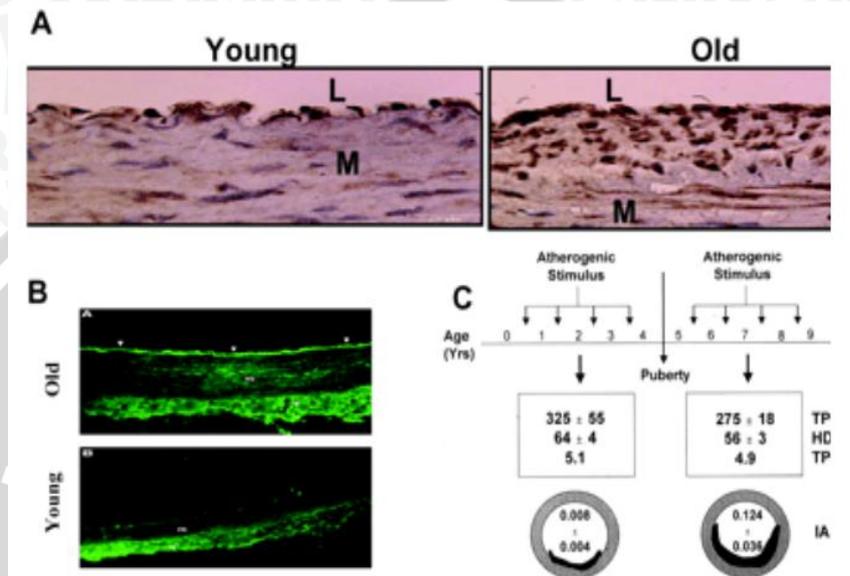
Najjar et al., 2005, yang mengutip pendapat O'Rourke dan Nicholas, 2005, menyebutkan bahwa peningkatan kekakuan dinding pembuluh darah adalah akibat dari siklus tekanan yang terus menerus dan putaran yang berulang-ulang pada dinding elastis arteri, sehingga menekan jaringan elastisnya untuk digantikan dengan jaringan kolagen. Selain itu Lakatta dan Levy, 2003, dalam review artikelnya menyebutkan juga bahwa kekakuan arteri ini berkaitan dengan pengaruh regulasi endotel terhadap tonus otot polos arteri. Selanjutnya kemungkinan kekakuan dinding ini diperbesar oleh adanya specific gene polymorphism (Hanon et al., 2001; Safar, 2005 dalam Pinatih 2011)

2.6.2.3 Perubahan Struktur Dinding

Aterosklerosis dimulai di aorta abdominalis dan kemudian melibatkan arteri karotis (Davis et al., 2010). Data dari *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth* (PDAY) menunjukkan bahwa 20% dari usia 15-19 tahun memiliki coretan lemak dibesarkan di aorta abdominal pada otopsi dan adanya lesi ini berhubungan dengan faktor risiko kardiovaskular. Lesi awal mempengaruhi dorsolateral aorta tepat sebelum bifurkasi ke arteri iliaka. Keterlibatan arteri koroner dan karotid terjadi di kemudian hari (McGill et al., 2000). *Intima media thickness* pada aorta meningkat dengan usia pada tingkat yang lebih besar dari *Intima media thickness* pada karotid (Davis et al., 2010).

Di bawah mikroskop, menebalnya dinding arteri ditunjukkan oleh ketebalan tunika intima dan media. Pada penelitian post mortem dijumpai bahwa penebalan dinding aorta terjadi secara difus dan terutama terjadi di lapisan intima. Penebalan berjalan secara linier dan secara epidemiologis, dapat mencapai 2-3 kali lipat dari ukuran sebelumnya pada rentang usia 20-90 tahun walaupun tanpa diikuti oleh plak aterosklerosis (Nagai et al., 1998, Lakatta, 2003;

Najjar et al., 2005). Penebalan terjadi secara tidak merata di dinding pembuluh darah, sangat bervariasi, yang menunjukkan bahwa penebalan dinding oleh karena umur ini sangat heterogen (Najjar, 2005).



Gambar 2.4 Penebalan Dinding Arteri yang Menua (Najjar, 2005)

Ketebalan intima media aorta berkorelasi signifikan terhadap aterosklerosis terutama pada *descending* aorta. Faktor lain seperti umur juga memiliki hubungan dengan ketebalan intima media aorta (Bae *et al.*, 2006). Järvisalo *et al* menemukan bahwa kelompok dengan diabetes dan hiperkolesterolemia menunjukkan peningkatan ketebalan intima media dibandingkan dengan kelompok sehat. Peningkatan lebih besar terjadi pada intima media aorta dibandingkan dengan ketebalan intima media karotis. Hal ini dikarenakan aterosklerosis dimulai pertama kali di intima media aorta. Data tersebut menunjukkan bahwa ketebalan intima media aorta merupakan penanda terbaik aterosklerosis saat ini.

Secara histologis, dinding intima yang menebal secara difus terdiri dari matriks protein, collagen, glycosaminoglican dan sel otot polos vaskuler

(VSMCs). Otot polos vaskuler di tunika intima yang menua diduga berasal dari 22 tunika media yang kemudian bermigrasi ke intima, terjadi peningkatan ekspresi dari molekul-molekul adesi yang di lapisan intima aorta dan peningkatan adherence dari monocyte ke permukaan sel endotel (Najjar, 2005). Keberadaan glycosaminoglican ini berperan penting terhadap regulasi beberapa sifat fungsi arteri termasuk diantaranya permeabilitas vaskuler. Pada sel endotel, perubahan yang terjadi seiring dengan meningkatnya umur antara lain meningkatnya sel dengan inti polipoid, meningkatnya permeabilitas endotel, perubahan susunan dan integritas cytoskeleton dari sel, munculnya senescence-associated β galactosidase staining dan ekspresi beberapa penghambat siklus sel. Pada tunika media yang menua, perubahan yang menonjol antara lain deposisi dari matriks protein ekstraseluler seperti Fibronectin dan type 2 matrix metalloprotease (MMP-2), yang mendorong degradasi matriks protein dan memfasilitasi migrasi dari sel otot polos vaskuler (Pauly et al., 1992 dalam Pinatih, 2011). Karakteristik lainnya dari media yang menua adalah pergeseran isi dan integritas dari struktur matriks protein yang disebut elastin dan collagen di mana jaringan elastin akan berkurang dan hal ini berimplikasi pada semakin kakunya dinding pembuluh darah oleh karena penambahan umur (Najjar, 2005).

Aterosklerosis menunjukkan bahwa lesi vaskular yang ditimbulkan merupakan adaptasi untuk keadaan gizi buruk seperti IUGR, proses-proses adaptif seperti kardiovaskular, metabolik, dan endokrin sehingga dapat mengubah struktur secara permanen (Molina *et al*, Jarvisalo M *et al*, Raitakari OT *et al* dalam MD Gomez- Roig *et al.*, 2015). Ditemukan bahwa aIMT lebih tinggi pada janin dengan IUGR daripada janin SGA, dan janin AGA. Hal ini terjadi kemungkinan sebagai tanda yang mewakili aterosklerosis praklinis dan

cenderung untuk terjadi penyakit kardiovaskular dikemudian hari (MD Gomez-Roig *et al.*, 2015).

2.6.1 Metode Pengukuran Ketebalan Tunika Intima Media

Metode Pengukuran ketebalan Intima Media dimulai dengan persiapan preparat. Tikus dinekropsi kemudian diambil sampel dari potongan aorta. Pembuatan preparat menggunakan prosedur *Parafin block* atau *Frozen Section*. Sampel potongan aorta yang telah tersedia diambil untuk dilakukan pencucian jaringan dalam PBS untuk menghilangkan sisa-sisa darah. Selanjutnya meletakkan potongan aorta dalam buffr formalin dan menginkubasi selama waktu yang dibutuhkan guna untuk memfiksasi jaringan. Prosedur selanjutnya mencuci kembali potongan aorta ke dalam BPS dan disimpan dalam larutan ETOH 70% dan H₂O dengan suhu 4⁰C. Potongan aorta ditempatkan dalam kaset histologi, kemudian direndam ETOH 70% dan disimpan ditempat penyimpanan. Simpan potongan aorta dalam suhu 4⁰C hingga jaringan dapat dibuat pada kaca objek (Claffey, 2011).

Berbagai pengecatan dapat dilakukan untuk pengecatan sampel aorta, antara lain Oil Red O dan Hematoksilin-eosin (HE). Prosedur pengecatan Oil Red O dimulai dengan prosedur potong beku. Sedangkan prosedur pengecatan dengan HE menggunakan preparat *frozen section* atau *paraffin block*. Prosedur awal yang dilakukan adalah deparafinasi jaringan selama 45 detik dengan larutan xylene. Apabila menggunakan prosedur *frozen section* dapat meninggalkan prosedur ini. Prosedur selanjutnya setelah preparat siap, meneteskan pewarnaan Hematoksilin sebanyak 5 tetes per slide. Preparat dibilas menggunakan air hangat (30⁰C) selama 45 detik. Pewarna Eosin diteteskan di preparat 2-3 tetes dibiarkan selama 30 detik. Bilas kembali preparat menggunakan air dingin. Rendam

preparat kedalam larutan propanol selama 45 detik dan larutan xylene selama 45 detik (Fischer, 2008).

Perkembangan teknologi menghasilkan kemudahan bagi peneliti untuk mendapatkan gambaran preparat dengan pembesaran yang tinggi dan dapat didiskusikan bersama kolega. Kemudahan ini berupa *virtual slide microscopy*. *Virtual slide microscopy* tidak membatasi pengguna seperti konvensional mikroskop biasa. *virtual slide microscopy* memungkinkan pengguna untuk berdiskusi dengan kolega dimana saja, dan kapan saja. *virtual slide microscopy* mengubah pembacaan mikroskop konvensional menjadi bentuk digital. Untuk menghasilkan digital slide mikroskopik dibutuhkan *software dot-slide system* dengan hardware khusus (Chen *et al.*, 2008).

Dot-slide OlyVIA merupakan software produksi Olympus untuk melihat hasil scan dari dot-slide system yang dikembangkan Soft Imaging System GmbH (Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Jerman)(Chen *et al.*, 2008). *Hardware* ini memiliki 4 komponen yaitu mikroskop cahaya, kamera color digital, penampang yang dapat dikontrol ke semua arah menggunakan joystick dan software, serta PC atau komputer yang diinstal dengan image acquisition software (Chen *et al.*, 2008)

Hasil gambar yang diperoleh dibaca dengan OlyVIA dengan perbesaran 400x (Puspitarini dyah, 2014). Pengukuran Ketebalan tunika intima media diukur pada lintang aorta melalui 8 zona (Maliya Arina, 2006)

2.7 Lipoprotein-Associated phospholipase A2 (Lp-PLA2)

Lipoprotein-Associated phospholipase A2 yang dikenal juga dengan *plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (plasma PAF-AH)* adalah suatu enzim *Ca²⁺ independent phospholipase* dengan berat molekul 50 kD. Enzim ini

terutama dihasilkan oleh makrofag, limfosit, dan sel mast. Plak aterosklerotik terutama inti lipid (*lipid core*) dan makrofag dalam kapsul fibrosa lesi yang akan ruptur (*rupture prone lesion*) mengekspresikan Lp-PLA2. Oleh karena itu Lp-PLA2 dapat dipakai sebagai penanda destabilisasi plak sebelum terjadi ruptur plak arteri. Sekitar 80% Lp-PLA2 berikatan dengan apo-B dari LDL dan aktivitas enzim ini terutama terdapat pada *small dense LDL* (sdLDL). Sedangkan sisanya berikatan dengan *high density lipoprotein* (HDL) dan VLDL (Immanuel & Tjiptaningrum, 2010).

Lipoprotein-associated phospholipase A2 akan menghidrolisis oxLDL dan menghasilkan *lysophosphatidylcholine* (lysoPC) dan asam lemak teroksidasi (oxFA). LysoPC dan oxFA akan menyebabkan disfungsi endotel dan menginduksi apoptosis sel otot polos dan makrofag yang menyebabkan perluasan inti nekrotik pada plak aterosklerotik, penipisan kapsul fibrosa dan destabilisasi plak yang berakibat rupturnya plak arteri (Immanuel & Tjiptaningrum, 2010). Penelitian Lavi *et al* telah membuktikan peranan Lp-PLA2 pada terjadinya disfungsi endotel yang merupakan tahap awal terjadinya lesi aterosklerotik. Oleh karena itu Lp-PLA2 dapat dipakai sebagai penanda dini risiko PJK (Lavi *et al*, 2007).

2.7.1 Mekanisme Kerja Lp-PLA2

Lipoprotein-Associated phospholipase A2 akan berikatan dengan apo-B dari LDL dan sdLDL. Lp-PLA2 bersama dengan LDL dan sdLDL, masuk tunika intima arteri yang mengalami disfungsi endotel. *Low density lipoprotein* akan mengalami oksidasi menjadi oxLDL. Reseptor Lp-PLA2 ditemukan dalam oxLDL dan Lp-PLA2 akan berikatan dengan reseptornya dan menghidrolisis gugusan asil pendek pada posisi *sn-2* fosfolipid dari oxLDL membentuk 2 mediator lipid

yang bioaktif yaitu *lysophosphatidylcholine* (LysoPC) dan asam lemak teroksidasi (oxFA) yang berperan penting dalam proses aterosklerosis. Kedua produk tersebut memiliki efek proinflamasi yaitu berperan dalam inisiasi dan perkembangan ateroma (Immanuel & Tjiptaningrum, 2010).

LysoPC merupakan faktor kemotaktik yang kuat dan menyebabkan penarikan monosit-makrofag ke dalam endotel dan menginduksi ekspresi molekul adhesi mononuklear di sel endotel yang berakibat inisiasi lesi meningkat. LysoPC juga menyebabkan disfungsi endotel dengan menghambat kerja *endothelial nitric oxide synthase* (eNOs) sehingga menu-runkan kadar *nitric oxide* (NO) dan menginduksi apoptosis sel otot polos dan makrofag. OxFA juga dapat menyebabkan penarikan dan aktivasi monositmakrofag dan apoptosis makrofag. Apoptosis ini menyebabkan perluasan inti nekrotik lesi aterosklerosis, penipisan kapsul fibrosa, dan destabilisasi plak yang berakibat rupturnya plak aterosklerotik (Immanuel & Tjiptaningrum, 2010).

2.8 Darapladip

Darapladip adalah inhibitor lipoprotein terkait fosfolipase lipase A2. Pada penelitian babi dengan model atherosclerosis, darapladip dapat mengurangi tingkat lipoprotein terkait fosfolipase A2 dalam plak, mengurangi nekrotik daerah inti, dan menghambat perkembangan lesi pada arteri koroner. Darapladip juga telah terbukti dapat mengurangi aktivitas lipoprotein terkait fosfolipase A2 di karotis manusia. Pada *Integrated Biomarker and Imaging Study 2 (IBIS 2)* yang melibatkan pasien dengan penyakit jantung koroner, darapladip dibandingkan dengan placebo dapat menghentikan progresi plak arteri koroner yang mengalami nekrotik yang ditentukan melalui *intravascular ultrasonography virtual histology analysis* dalam periode 12 bulan (Investigators, 2014).

Darapaldib adalah substituted Pyrimidone dengan aktivasi sebagai inhibitor Lp-PLA2, yang merupakan suatu regulator penting dari metabolisme lipid dan inflamasi yang bersirkulasi dengan partikel lipoprotein dan dibawa ke dinding arteri dengan partikel LDL selama perkembangan aterosklerosis. Darapaldib memiliki rumus molekul $C_{36}H_{38}F_4N_4O_2S$ (Pubchem, 2016).

2.9 Pembuatan Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe 2 In vivo

Pembuatan model Diabetes Mellitus pada penelitian ini menggunakan tikus Sprague dawley dan pemberian *High Fat Diet* (HFD) serta STZ yang akan dijelaskan pada sub bab berikut ini.

2.9.1 Tikus Sprague Dowley sebagai Model Diabetes Mellitus Tipe 2

Pada penelitian *in vivo* mengenai dislipidemia banyak digunakan hewan model Diabetes Mellitus yang berkorelasi dengan Diabetes Mellitus tipe 2 pada manusia. Hewan yang bisa digunakan adalah mencit, tikus, babi, hamster dan kelinci. Beberapa hewan diatas memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing yang mampu menunjang penelitian. Mencit memiliki keuntungan yaitu mudah untuk mengkondisikan mencit sesuai dengan kondisi manusia karena genom yang sudah diketahui, waktu pembiakkan yang sebentar, dan siklus reproduksi yang pendek. Selanjutnya yang paling sering digunakan yaitu tikus. Tikus Sprague-Dawley dianggap paling cocok untuk model dislipidemia dan aterosklerosis karena penambahan berat badan yang terjadi pada tikus ini mirip dengan obesitas yang terjadi pada manusia. Bukti menunjukkan bahwa hiperglikemia dan hipertrigliseridemia memiliki efek langsung pada dinding arteri tikus dan menyebabkan disfungsi endotel (Karimi, 2012).

Ditemukan oleh R. Dawley, Sprague-Dawley Company, Madison, Wisconsin, pada 1925 (Harlan, 2014). Tikus Sprague Dawley memiliki warna

albino. Rata-rata pengeluaran kotoran 6-12 kali dengan berat 5-6 gram saat dilahirkan. Tikus dewasa memiliki berat rata-rata 250-300 gram untuk betina dan 450-520 gram untuk jantan. Rentang hidup tikus albino sekitar 2,5-3,5 tahun. Tikus ini merupakan model yang umum digunakan untuk studi kesehatan dan penyakit manusia (Sage Lab, 2014). Perbedaan tikus Sprague-Dawley dengan tikus Wistar adalah peningkatan jumlah asupan makanan dibandingkan dgn tikus Wistar (Kucera *et al.*, 2010). Berdasarkan studi yang telah dilakukan, tikus Sprague Dawley menunjukkan kemampuannya untuk merespon *High Fat Diet* hingga 32-45% lemak dari total kalori (Gajda *et al.*, 2008).

2.9.2 High Fat Diet

HFD telah lama digunakan untuk membuat tikus model obesitas dengan mengintervensi nutrisi. Keadaan obesitas, resistensi insulin, hipertensi, dan dislipidemia adalah hal yang disebut sindrom metabolik. Berdasarkan hasil studi, gangguan yang ditimbulkan akibat HFD pada tikus mendekati gangguan metabolik yang ada pada manusia (Buettner, *et al.*, 2006). Berbagai penelitian mengenai aterogenik menggunakan HFD sebagai pakan tikus model dengan komposisi yang berbeda-beda.

Tabel 2.5 Komposisi HFD (Muwarni *et al.*, 2006)

Bahan Pakan	Pakan				
	Normal	I	II	III	IV
Confeed PAR-S	225 gr	200 gr	200 gr	200 gr	200 gr
Terigu	100 gr	100 gr	100 gr	100 gr	100 gr
Kolesterol	-	4 gr	8 gr	8 gr	8 gr
Asam kolat	-	0,4 gr	0,4 gr	0,8 gr	0,8 gr
Minyak babi	-	10 ml	10 ml	10 ml	40 ml
Air	100 ml	85,6 ml	81,6 ml	81,2 ml	51,2 ml

Komposisi HFD berdasarkan peneliiian Buettner, *et al* pada 2006 menemukan komposisi efektif pada berbagai sumber asam lemak yait lemak

babi, minyak zaitun, minyak kelapa, minyak ikan. Ditemukan urutan paling efektif yaitu minyak babi, minyak kelapa, minyak zaitun, minyak ikan, dan pakan standart. Sedangkan komposisi HFD yang dibuat pada penelitian Sri Murwani tahun 2006 seperti pada tabel diatas.

