

KORELASI ANTARA KADAR *HIGH SENSITIVE C-REACTIVE PROTEIN* (Hs-CRP) DENGAN KADAR *CIRCULATING ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL* (EPC) PADA PASIEN SINDROMA METABOLIK

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

MARTHA TIARA DUGIKAWA

0910714040

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

KORELASI ANTARA KADAR *HIGH SENSITIVE C-REACTIVE PROTEIN* (hs-CRP) DENGAN KADAR *CIRCULATING ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL* (EPC) PADA PASIEN SINDROMA METABOLIK

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :

MARTHA TIARA DUGIKAWA

NIM. 0910714040

PROGAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR
KORELASI ANTARA KADAR *HIGH SENSITIVE C-REACTIVE*
PROTEIN* (Hs-CRP) DENGAN KADAR *CIRCULATING ENDOTHELIAL
***PROGENITOR CELL* (EPC) PADA PASIEN SINDROM METABOLIK**

Oleh:

Martha Tiara Dugikawa

NIM: 0910714040

Telah Diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 28 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Supriono, Sp.PD-KGEH

NIP. 19660517 199803 1 004

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

dr. Laksmi, Sp.PD

NIP. 19750508 200912 2 002

Dr. dr. Tinny Endang H, Sp.PK

NIP. 19521225 198002 2 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof.Dr.dr Teguh W. Sardiono, DTM&H,Msc,Sp,ParK

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan berkat dan anugrah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Korelasi antara Kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) dengan Kadar *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) pada Pasien Sindrom Metabolik”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) merupakan marker inflamasi pada penyakit kardiovaskuler aterosklerotik (faktor risiko aterogenik) pada pasien sindrom metabolik, sedangkan kadar *circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) merupakan faktor ateroprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara kadar hs-CRP dan kadar *circulating EPC* pada pasien sindrom metabolik.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. dr. Laksmi, Sp.PD, sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK, sebagai pembimbing kedua yang memberi informasi terkait pemeriksaan laboratorium dan reagens.
4. dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD, KEMD, sebagai pembimbing yang telah memberikan ide dan bimbingan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. dr. Supriono, Sp.PD-KGEH, sebagai penguji yang telah menguji dan memberikan saran dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.

6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
7. Bapak Satuman dan segenap analis di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah membantu menyediakan reagens dan alat-alat kebutuhan penelitian.
8. Bapak Yudha dan segenap analisis di Laboratorium Biomedik Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah membimbing dalam mengerjakan penelitian.
9. Kedua orang tua saya, Herdin Prihantono dan Tiyas Retnantina; serta adik saya, Oolita Miliarta, atas segala dukungannya.
10. Teman-teman seperjuangan Tias, Nindy, Lita, Tjok, dan Rifqi atas saran, dukungan, dan bantuan lainnya.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Proposal Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Proposal Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Maret 2013

Penulis

ABSTRAK

Dugikawa, Martha Tiara. 2013. **Korelasi antara Kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) dengan Kadar *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) pada Pasien Sindrom Metabolik.** Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembimbing: (1) dr. Laksmi, SpPD; (2) DR. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK

Latar Belakang: Pasien dengan Sindrom Metabolik diketahui memiliki resiko yang tinggi terkena komplikasi kardiovaskuler aterosklerotik. *Circulating Endothelial Progenitor Cells* (EPC) dilaporkan menjadi salah satu indikator pada kerusakan vaskuler, *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) diketahui sebagai mediator inflamasi yang dapat mempercepat apoptosis sel endotel, sehingga dapat menjadi faktor risiko terjadinya komplikasi kardiovaskuler. *Circulating* EPC melindungi pembuluh darah dari kerusakan vaskuler dan dapat memperbaiki disfungsi endotel. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi hubungan antara kadar hs-CRP dengan persentase kadar *circulating* EPC pada darah pasien sindroma metabolik. **Metode:** Lima puluh responden (22 laki-laki dan 23 perempuan) memenuhi kriteria sindroma metabolik. Pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar hs-CRP dan persentase *circulating* EPC. Pengukuran kadar hs-CRP menggunakan tes ELISA. EPC diisolasi dari darah perifer dan dihitung persentasenya dengan marker CD34 dan VEGFR menggunakan metode *flowcytometry*. Penelitian ini dianalisis menggunakan *Spearman's – Rho Test*. **Hasil:** rata-rata usia responden 54 ± 3 tahun dengan rata-rata *Body Mass Index* dan lingkar perut adalah $26,89 \text{ kg/m}^2$ dan $93,88 \text{ cm}$. Didapatkan hasil rerata kadar gula darah puasa $181,84 \pm 86,662 \text{ mg/dl}$, hs-CRP $0,484 \pm 0,32 \text{ mg/L}$ dan nilai persentase median EPC $0,0382\%$. Pada hasil analisa didapatkan adanya korelasi antara kadar hs-CRP dan EPC ($p = 0,026$). **Kesimpulan** Ada korelasi negatif yang bermakna antara kadar hs-CRP dengan kadar EPC pada pasien sindroma metabolik.

Kata Kunci: Sindrom Metabolik, *Circulating Endothelial Progenitor Cells* (EPC), *High Sensitive C-Reactive protein* (hs-CRP)

ABSTRACT

Dugikawa, Martha Tiara. 2012. **Correlation Between The High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP) and The Circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC) Levels in Metabolic Syndrome Patients.** Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Laksmi, SpPD; (2) DR. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK.

Background: Patients with Metabolic Syndrome are well known to be at high risk for atherosclerotic cardiovascular complications. Circulating Endothelial Progenitor Cells (EPC) have been reported to be an indicator of vascular damage, high Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP) is known as inflammatory mediators that can lead to decreased levels of circulating EPC, so that could be a risk factor for cardiovascular complications. Circulating EPC protect vessels from vascular damage and can repair any endothelial dysfunction. This study evaluated the association between hs-CRP levels with blood levels of circulating EPC in metabolic syndrome patients. **Methods:** Fifty respondents (22 males and 23 females) fulfilled the metabolic syndrome criteria. Blood was taken for hs-CRP levels and circulating EPC percentage examination. Measurement of hs-CRP levels was measured using ELISA kits. EPC were isolated from the peripheral blood and the percentage calculated by CD34+ and VEGFR using flowcytometry. This study was analyzed using Shapiro-Wilk to see the normal data distribution, and then tested the correlation using Spearman-Rho test. **Results:** The average age of respondent are 54 ± 3 years with an average of Body Mass Index and abdominal circumference were $26,89 \text{ kg/m}^2$ and $93,88 \text{ cm}$. Obtained average result of fasting blood glucose levels $181,84 \pm 86,662 \text{ mg/dl}$, hs-CRP $0,484 \pm 0,32 \text{ mg/L}$ and a median percentage of EPC $0,0382\%$. The analysis result obtained a correlation between hs-CRP levels and EPC percentage ($p = 0,026$). **Conclusion:** There were a significant negative correlation between hs-CRP levels and percentage of EPC on metabolic syndrome patients.

Keyword: Metabolic Syndrome, Circulating Endothelial Progenitor Cells (EPC), High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP)

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstrack	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Singkatan	xii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sindroma Metaboli	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Patofisiologi Sindroma Metabolik	8
2.1.2.1 Obesitas Sentral	8
2.1.2.2 Resistensi Insulin	9
2.1.2.3 Dislipidemia	9
2.1.2.4 Peran Sistem Imunitas pada Resistensi Insulin	10
2.1.2.5 Hipertensi	10
2.2 Aterosklerosis	11
2.2.1 Epidemiologi Aterosklerosis	11
2.2.2 Patofisiologi Aterosklerosis	12
2.2.3 Inflamasi dan Aterosklerosis	15
2.2.4 Faktor-faktor yang Berperan pada Aterosklerosis	16
2.3 High Sensitive C-Reactive Protein	17
2.3.1 Definisi	17
2.3.2 Metode Penghitungan CRP	18
2.3.2.1 Conventional CRP	19
2.3.2.2 Cardiac CRP (cCRP)	19
2.3.2.3 High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP)	19
2.3.3 Hs-CRP dan Sindroma Metabolik	21

2.4 Endothelial Progenitor Cell	21
2.4.1 Definisi	21
2.4.2 Sistem Klasifikasi Endothelial Progenitor Cell	22
2.4.3 Klasifikasi Endothelial Progenitor Cell	23
2.4.3.1 Early Endothelial Progenitor Cell (Early EPC)	23
2.4.3.2 Endothelial Outgrowth Cell (EOC atau Late EPC)	24
2.4.3.3 Circulating Endothelial Progenitor Cell (cEPC)	27
2.4.4 Metode Penghitungan Endothelial Progenitor Cell	28
2.4.5 Marker EPC	30
2.4.5.1 CD34	30
2.4.5.2 VEGF	31
2.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi EPC	32
2.6 Faktor-faktor yang Terkait antara Hs-CRP dan EPC pada SM	35
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	38
3.2 Hipotesis Penelitian	39
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	40
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	40
4.3 Variabel Penelitian	42
4.3.1 Identifikasi Variabel	42
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	42
4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian	42
4.5.1 Bahan	42
4.5.2 Instrumen Penelitian	42
4.5.2.1 Pengambilan Sampel	42
4.5.2.2 Pemeriksaan hs-CRP	43
4.5.2.3 Identifikasi EPC	43
4.6 Definisi Operasional	44
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data	45
4.7.1 Prosedur Penelitian	45
4.7.1.1 Prosedur Pemeriksaan Hs-CRP	45
4.7.1.2 Metode Isolasi PBMC	45
4.7.1.3 Prosedur Pemeriksaan EPC	46
4.7.2 Cara Pengumpulan Data	47
4.8 Analisis Data	47
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	
5.1 Data Hasil Penelitian	48
5.1.1 Identifikasi Kadar Hs-CRP	49
5.1.2 Identifikasi Kadar Circulating EPC	49
5.2 Analisa Data	50
BAB VI PEMBAHASAN	52

BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	58
7.2 Saran.....	58
Daftar Pustaka.....	59
Lampiran	63



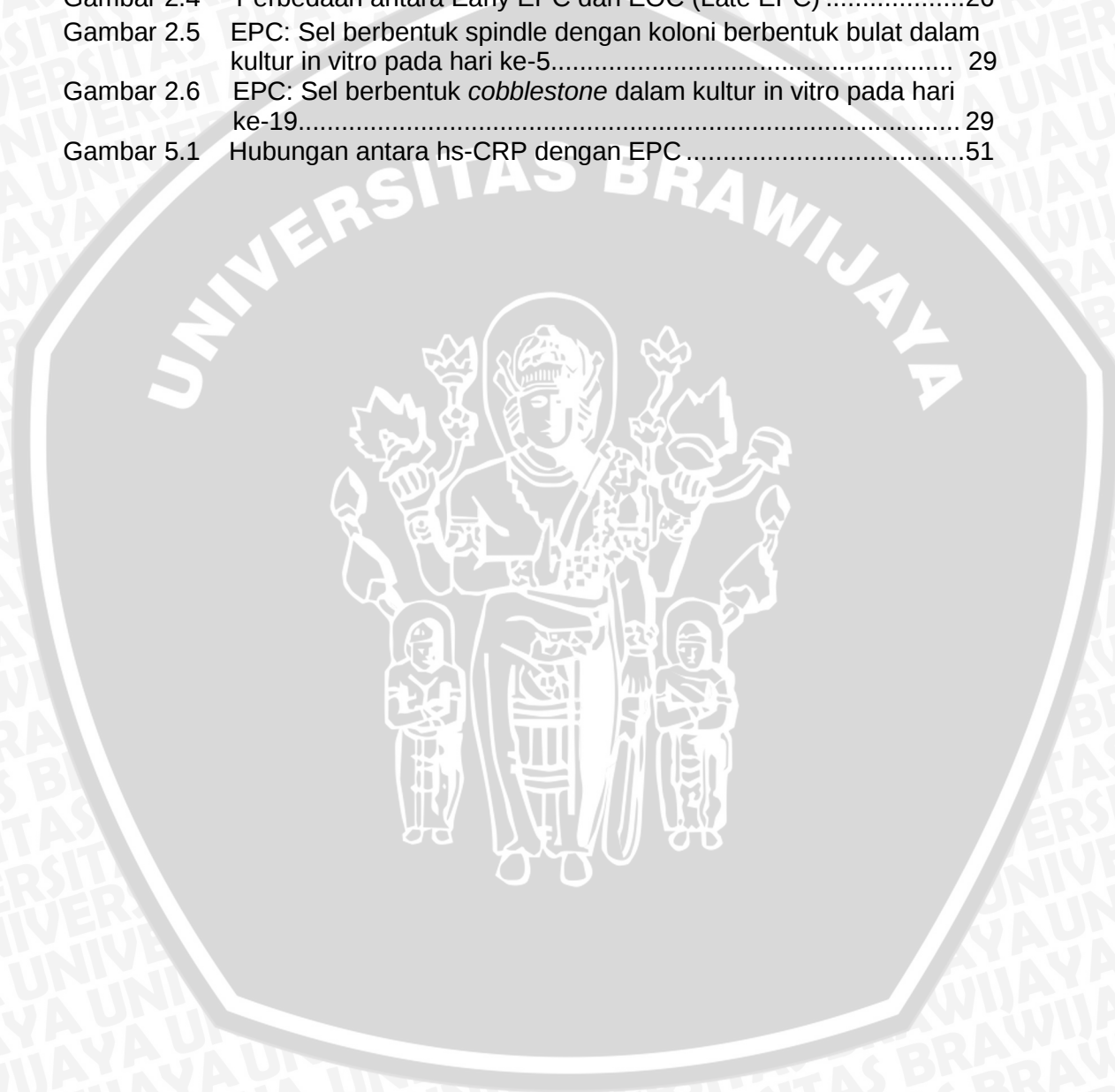
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis Sindroma Metabolik.....	6
Tabel 2.2 Batas Lingkar Pinggang untuk Obesitas Sentral/Abdominal.....	8
Tabel 2.3 Kategori Relatif dan Kadar Hs-CRP	20
Tabel 2.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi EPC	35
Tabel 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian	49



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Penyebab Kematian Utama di AS Tahun 2000	12
Gambar 2.2 Proses Seluler yang Berkenaan dengan Aterosklerosis	15
Gambar 2.3 Faktor Risiko Penyakit Kardiovaskuler Aterosklerotik	16
Gambar 2.4 Perbedaan antara Early EPC dan EOC (Late EPC)	26
Gambar 2.5 EPC: Sel berbentuk spindle dengan koloni berbentuk bulat dalam kultur in vitro pada hari ke-5.....	29
Gambar 2.6 EPC: Sel berbentuk <i>cobblestone</i> dalam kultur in vitro pada hari ke-19.....	29
Gambar 5.1 Hubungan antara hs-CRP dengan EPC	51



DAFTAR SINGKATAN

AHA	American Heart Association
Ang-II	Angiotensin-II
ASBMT	American Society for Blood and Marrow Transplantation
BMI	Body Mass Index
CD	Cluster of differentiation
CEPs	Circulating Endothelial Progenitor Cell
CRP	C-Reactive Protein
eNOS	Endothelial Nitric Oxide Synthase
EOC	Endothelial Outgrowth Cell
EPC	Endothelial Progenitor Cell
FFA	Free Fatty Acid
GDP	Gula Darah Puasa
HDL	High-Density Lipoprotein
Hs-CRP	High Sensitive C-Reactive Protein
IAS	International Atherosclerosis Society
ICAM	Intreacellular Cell Adhesion Molecule
IDF	International Diabetes Federation
IGT	Impaired Glucose Tolerance
ISCT	International Society for Cellular Therapy
KDR	Kinase Insert Domain Receptor
LDL	Low-Density Lipoprotein
LSM	Limphosite Separation Medium
MCP1	Monocyte Chemotactic Protein-1
mCSF	Monocyte Colony Stimulating Factor
MNC	Mononuclear cell
NCEP-ATP III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
NHLBI	Naional Heart, Lung, and Blood Institute
NO	Nitric Oxide
PJK	Penyakit Jantung Koroner
ROS	Reactive Oxygen Species
SAP	Serum Amyloid P
TERT	Telomerase Reverse Trancriptase
TG	Trigliserida
WHO	World Health Organization
WHF	World Heart Federation
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vWF	Von Willebrand Factore

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sindroma metabolik terdiri dari kumpulan kelainan metabolik menyebabkan peningkatan terjadinya penyakit kardiovaskular dan diabetes mellitus. Ciri-ciri utama dari sindrom metabolik termasuk obesitas sentral, hipertrigliseridemia, HDL kolesterol rendah, hiperglikemia, dan hipertensi (Eckel, 2008).

Di Indonesia, prevalensi sindroma metabolik sebesar 13,13%. Studi yang dilakukan di Depok pada tahun 2001 menunjukkan prevalensi sindroma metabolik pada pria sebesar 25,7% dan wanita 25% dan menggunakan kriteria *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III). Sedangkan penelitian di Jakarta pada tahun 2006 menunjukkan prevalensi sindrom metabolik yang tidak jauh berbeda, yaitu sebesar 26,3% dengan obesitas sentral merupakan komponen terbanyak sebesar 59,4% (Soegondo dan Purnamasari, 2009).

Sindroma metabolik atau yang dikenal juga sebagai sindroma resistensi insulin merupakan kumpulan abnormalitas metabolik yang ditandai dengan penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Individu yang memenuhi kriteria ini memiliki kecenderungan untuk menderita penyakit kardiovaskuler aterosklerotik serta diabetes mellitus tipe 2 (Dunn dan Grant, 2005). Penelitian lain juga membuktikan bahwa diabetes mellitus juga bisa menyebabkan komplikasi makrovaskular, dan yang terpenting adalah aterosklerosis.

Aterosklerosis adalah kondisi dimana adanya penebalan dinding pembuluh darah, khususnya pembuluh darah arteri sebagai hasil dari akumulasi material lipid seperti kolesterol, LDL dan sebagainya. Proses aterosklerosis dimulai dengan adanya disfungsi endotel. Pada keadaan normal, jika terjadi kerusakan endotel maka *Endothelial Progenitor Cell (EPC)* akan langsung memperbaiki kerusakan tersebut. Tetapi pada pasien sindroma metabolik, terutama karena diabetes mellitus tipe II, hipertensi, dan dislipidemia, jumlah *Endothelial Progenitor Cell* pada darah perifer mengalami penurunan secara signifikan dan fungsi EPC juga mengalami kerusakan sehingga tidak dapat bekerja secara maksimal dalam memperbaiki jaringan yang rusak (Tepper *et al*, 2002, Fadini *et al*, 2007). Akibat dari kerusakan jaringan terjadi peningkatan permeabilitas kapiler yang disebabkan oleh retraksi sel-sel endotel sehingga terjadi inflamasi. Inflamasi memiliki peran penting dalam pembentukan atherosclerosis. Tingkat sirkulasi beberapa marker inflamasi meningkatkan resiko atherosclerosis pada seorang individu. Secara khusus, peningkatan C-reactive Protein (CRP), reaktan fase akut nonspesifik yang mudah untuk diukur.

Endothelial Progenitor Cell (EPC) merupakan sel-sel yang terdapat di dalam sumsum tulang dan aliran darah tepi yang mampu membelah dan berdiferensiasi menjadi sel-sel endotel dan memperbaiki jaringan iskemik akibat rusaknya dinding pembuluh darah. EPC dapat memperbaiki kondisi-kondisi penyakit yang diawali dengan kerusakan sel-sel endotel, baik secara anatomis/struktural maupun fungsional, melalui mekanisme neovaskularisasi dan reendotelisasi (Nababan dan Okki, 2010).

High sensitive C-reactive protein (hs-CRP) merupakan *marker* inflamasi. Beberapa penelitian epidemiologi telah mengevaluasi relasi antara hs-CRP dengan sindroma metabolik. Penelitian tersebut membuktikan tingginya tingkat

hs-CRP (>3 mg/L) memiliki korelasi dengan angka kejadian sindroma metabolik sama dengan angka morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskuler. Hs-CRP memiliki peran dalam patogenesis atheroskelosis (Fabiola, 2006).

Dewasa ini, data yang tersedia mengindikasikan bahwa perubahan EPC memiliki peranan penting dalam menyebabkan komplikasi yang terjadi pada pasien sindroma metabolik. Pada pasien sindroma metabolik, terutama pada pasien dengan komplikasi penyakit vascular, jumlah EPC pada darah perifer mengalami penurunan secara signifikan dan fungsinya juga mengalami kerusakan (Tepper *et al*, 2002, Fadini *et al*, 2007). Hs-CRP sebagai bagian sistem kekebalan tubuh memiliki fungsi untuk mengaktifkan sistem komplemen, menimbulkan adhesi ekspresi molekul, meningkatkan fagositosis makrofag, dan memicu aktivasi leukosit. Hs-CRP juga menstimulasi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menyebabkan apoptosis endotelial (Fuji, 2006).

Maka dari itu, peneliti tertarik untuk mengajukan proposal penelitian yang berjudul *"Korelasi antara Kadar High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP) dengan kadar circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC) pada Pasien Sindroma Metabolik"*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Adakah hubungan antara kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) dengan kadar *circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) pada pasien Sindroma Metabolik ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui hubungan antara *High Sensitive C Reactive Protein* (hs-CRP) dengan *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) pada sindroma metabolik.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah wawasan tentang peranan *circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) dan kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) terhadap terjadinya komplikasi pada pasien Sindroma Metabolik.

1.4.2 Manfaat Praktis

Menambah konsep tentang penanganan sindroma metabolik yang berkaitan dengan *circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) dan kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) sehingga komplikasi kerusakan pembuluh darah pada pasien sindroma metabolik dapat diintervensi lebih dalam lagi.

BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Sindroma Metabolik****2.1.1 Definisi Sindroma Metabolik**

Berdasarkan *National Cholesterol of Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP III) sindroma metabolik adalah sekumpulan faktor risiko (obesitas sentral, glukosa darah tinggi / toleransi glukosa, dislipidemia, dan hipertensi) yang saling berkaitan dan secara bersama-sama akan meningkatkan risiko untuk terjadinya penyakit kardiovaskuler aterosklerotik dan diabetes. Sindroma Metabolik adalah pasien dengan memiliki sedikitnya 3 kriteria berikut:

- Obesitas abdominal (lingkar pinggang > 88 cm untuk wanita dan untuk pria > 102 cm);
- Peningkatan kadar trigliserida darah (≥ 150 mg/dL, atau $\geq 1,69$ mmol/L);
- Penurunan kadar kolesterol HDL (< 40 mg/dL atau $< 1,03$ mmol/L pada pria dan pada wanita < 50 mg/dL atau $< 1,29$ mmol/L);

- Peningkatan tekanan darah (tekanan darah sistolik ≥ 130 mmHg, tekanan darah diastolik ≥ 85 mmHg atau sedang mengonsumsi anti hipertensi);
- Peningkatan glukosa darah puasa (kadar glukosa puasa ≥ 110 mg/dL, atau $\geq 6,10$ mmol/ L atau sedang mengonsumsi obat anti diabetes) (Adult Treatment Panel III, 2001).

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis Sindroma Metabolik

Unsur Sindrom Metabolik	NCEP ATP III	WHO	AHA	IDF
Hipertensi	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 130/85$ mmHg	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 140/90$ mmHg	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 130/85$ mmHg	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 130/85$ mmHg
Dislipidemia	Plasma TG ≥ 150 mg/dL, HDL-C L < 40 mg/dL P < 50 mg/dL	Plasma TG ≥ 150 mg/dL dan atau HDL-C L < 35 mg/dL P < 40 mg/dL	Plasma TG ≥ 150 mg/dL, HDL-C L < 40 mg/dL P < 50 mg/dL	Plasma TG ≥ 150 mg/dL HDL-C L < 40 mg/dL P < 50 mg/dL atau dalam pengobatan dislipidemia
Obesitas	Lingkar pinggang L > 102 cm, P > 88 cm	IMT > 30 kg/m ² dan atau rasio perut-pinggul L > 0,90; P > 0,85	Lingkar pinggang L > 102 cm, P > 88 cm	Obesitas sentral (lingkar perut) Asia: L > 90 cm P > 80 cm (nilai tergantung etnis)
Gangguan metabolisme Glukosa	GD puasa ≥ 110 mg/dL	DM tipe 2	GD puasa ≥ 100 mg/dL	GD puasa ≥ 100 mg/dL atau diagnosis DM tipe 2
Lain-lain		Mikroalbuminuri ≥ 20 μ g/menit (rasio albumin: kreatinin ≥ 30)		

Kriteria Diagnosa	Minimal 3 kriteria	DM tipe 2 atau TGT dan 2 kriteria di atas. Jika toleransi glukosa normal, diperlukan 3 kriteria.	Minimal 3 kriteria	Obesitas sentral + 2 kriteria di atas
-------------------	--------------------	--	--------------------	---------------------------------------

Keterangan:

(Joint Interim Statement)

WHO = World Health Organization
 NCEP ATP III = National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
 IDF = International Diabetes Federation
 AHA/NHLBI = American Heart Association / National Heart, Lung, and Blood Institute
 TG = Trigliserida
 HDL-C = High Density Lipoprotein Cholesterol
 GDP = Gula Darah Puasa
 IGT = Impaired Glucose Tolerance
 IMT = Indeks Massa Tubuh

Berdasarkan *Joint Interim Statement* antara *IDF*, *AHA*, *NHLBI*, *World Heart Federation (WHF)*, *International Atherosclerosis Society (IAS)*, dan *International Association for the Study of Obesity*, ditetapkan bahwa obesitas sentral tidak seharusnya menjadi prasyarat mutlak, melainkan merupakan bagian dari kriteria, dimana diagnosis sindroma metabolik ditegakkan bila ada minimal 3 dari 5 kriteria faktor risiko sindroma metabolik (Alberti et al, 2009) :

- Obesitas sentral: tergantung etnis, untuk orang Asia: rasio perut-pinggul > 90 cm untuk pria dan > 80 cm untuk wanita.
- Peningkatan trigliserida: > 150 mg / dL (1,7 mmol / L), atau perawatan spesifik untuk kelainan lipid ini.

- Penurunan HDL kolesterol: < 40 mg / dL (1,03 mmol / L) pada laki-laki, <50 mg / dL (1,29 mmol / L) pada wanita, atau perawatan spesifik untuk kelainan lipid ini
- Hipertensi: tekanan darah sistolik > 130 atau diastolik > 85 mm Hg, atau pengobatan hipertensi didiagnosis sebelumnya.
- Peningkatan glukosa plasma puasa (FPG): > 100 mg / dL (5,6 mmol / L), atau sebelumnya didiagnosis diabetes mellitus tipe 2. Jika FPG > 5,6 mmol / L atau 100 mg / dL.

Tabel 2.2 Batas Lingkar Pinggang untuk Obesitas Sentral/Abdominal

Population	Organization (Reference)	Recommended Waist Circumference Threshold for Abdominal Obesity	
		Men	Women
Europid	IDF (4)	≥ 94 cm	≥ 80 cm
Caucasian	WHO (7)	≥ 94 cm (increased risk)	≥ 80 cm (increased risk)
		≥ 102 cm (still higher risk)	≥ 88 cm (still increased risk)
United States	AHA/NHLBI (ATP III)* (5)	≥ 102 cm	≥ 88 cm
Canada	Health Canada (8,9)	≥ 102 cm	≥ 88 cm
Europea	European Cardiovascular Societies (10)	≥ 102 cm	≥ 88 cm
Asian (including Japanese)	IDF (4)	≥ 90 cm	≥ 80 cm
Asian	WHO (11)	≥ 90 cm	≥ 80 cm

Japanese	Japanese Society (12)	Obesity	≥ 85 cm	≥ 90 cm
China	Cooperative Force (13)	Task	≥ 85 cm	≥ 80 cm
Middle East, Mediterranean	IDF (4)		≥ 94 cm	≥ 80 cm
Sub-Saharan African	IDF (4)		≥ 94 cm	≥ 80 cm
Ethnic Central and South American	IDF (4)		≥ 90 cm	≥ 80 cm

Circulation. 2009;120:1640-1645 (Table 2)

2.1.2 Patofisiologi Sindroma Metabolik

Patofisiologi sindroma metabolik penting untuk memprediksi pengaruh perubahan gaya hidup dan medikamentosa dalam penatalaksanaan sindroma metabolik. Patofisiologi sindroma metabolik meliputi beberapa komponen, yaitu :

2.1.2.1 Obesitas Sentral

Studi menunjukkan bahwa obesitas sentral yang digambarkan oleh lingkar perut lebih sensitive dalam memprediksi gangguan metabolik dan risiko kardiovaskular. Lingkar perut menggambarkan baik jaringan adipose subkutan dan visceral. Peningkatan obesitas beresiko pada peningkatan kejadian kardiovaskular. Variasi faktor genetik membuat perbedaan dampak metabolik maupun kardiovaskular dari suatu obesitas. Seseorang dengan obesitas dapat tidak berkembang menjadi resistensi insulin, dan sebaliknya resistensi insulin dapat ditemukan pada individu tanpa obesitas (*lean subjects*). Interaksi faktor genetik dan lingkungan akan memodifikasi tampilan metabolik dari suatu resistensi insulin maupun obesitas.

Konsentrasi adiponektin plasma menurun pada kondisi sindroma metabolik dan obesitas. Senyawa ini dipercaya memiliki efek antiaterogenik pada hewan coba dan manusia. Sebaliknya, konsentrasi leptin meningkat pada kondisi resistensi insulin dan obesitas dan berhubungan dengan

risiko kejadian kardiovaskular tidak tergantung dari faktor resiko tradisional kardiovaskular, indeks massa tubuh, dan konsentrasi CRP.

2.1.2.2 Resistensi Insulin

Resistensi insulin adalah suatu kondisi dimana terjadi penurunan sensitivitas jaringan terhadap kerja insulin sehingga terjadi peningkatan sekresi insulin sebagai bentuk kompensasi sel beta pancreas. Resistensi insulin terjadi beberapa dekade sebelum timbulnya penyakit diabetes mellitus dan kardiovaskular lainnya. Resistensi insulin ini mendasari kelompok kelainan pada sindroma metabolik. Resistensi insulin diidentifikasi oleh salah satu dari beberapa keadaan yaitu diabetes mellitus tipe 2, gangguan glukosa puasa, gangguan toleransi gula darah puasa, hiperinsulinemia, kondisi euglikemia dengan uptake glukosa yang rendah.

2.1.2.3 Dislipidemia

Dislipidemia yang khas pada sindroma metabolik ditandai dengan peningkatan trigliserida dan penurunan kolesterol HDL. Kolesterol LDL biasanya normal, namun mengalami perubahan struktur berupa peningkatan *small dense* LDL. Peningkatan trigliserida tersebut bersifat multifaktorial, tidak hanya diakibatkan oleh peningkatan masukan asam lemak bebas ke hati. Penurunan kolesterol HDL disebabkan karena peningkatan trigliserida sehingga terjadi transfer trigliserida ke HDL. Selain karena adanya transfer tersebut, mekanisme lain yang berkaitan yaitu adanya gangguan masukan lipid post prandial pada kondisi resistensi insulin sehingga terjadi gangguan produksi Apolipoprotein A-I (Apo A-1) oleh hati yang selanjutnya mengakibatkan penurunan kolesterol HDL. Peran system imunitas pada resistensi insulin juga berpengaruh pada perubahan profil lipid pada subyek dengan resistensi insulin.

2.1.2.4 Peran Sistem Imunitas pada Resistensi Insulin

Inflamasi subklinis kronik juga merupakan bagian dari sindrom metabolik. Marker inflamasi (hs-CRP) berperan pada progresifitas diabetes mellitus dan komplikasi kardiovaskular.

2.1.2.5 Hipertensi

Resistensi insulin juga berperan pada pathogenesis hipertensi. Insulin merangsang system saraf simpatis meningkatkan reabsorpsi natrium ginjal, mempengaruhi transport kation, dan mengakibatkan hipertrofi sel otot polos pembuluh darah (Soegondo dan Purnamasari, 2009).

Berdasarkan definisi dan patofisiologi sindroma metabolik, aterosklerosis merupakan komplikasi tersering yang terjadi pada pasien sindroma metabolik. Oleh karena itu aterosklerosis akan dibahas lebih lanjut pada sub bab lain.

2.2 Aterosklerosis

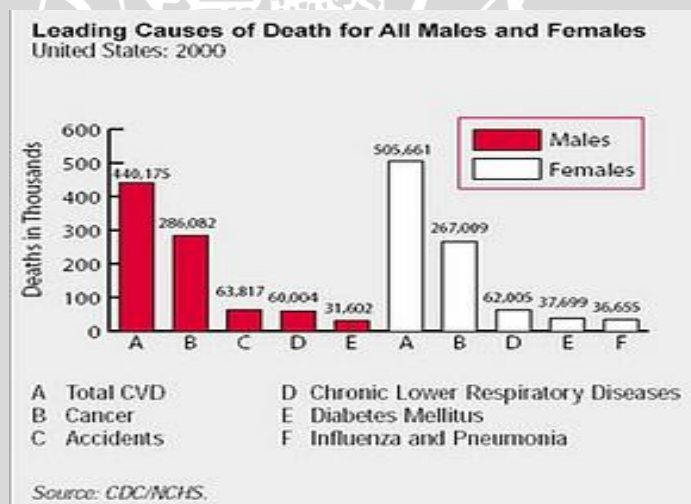
Sindroma metabolik meningkatkan risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler aterosklerotik. Aterosklerosis adalah penebalan, pengerasan, dan penyempitan lumen vaskuler. Aterosklerosis merupakan suatu bentuk inflamasi kronis di dinding pembuluh darah yang ditandai dengan akumulasi fokal dari plak aterom (*fatty streak*) yang berisi leukosit, monosit/makrofage (*foam cells*),

proliferasi sel otot polos, ox-LDL, dan matriks ekstraseluler, yang menyebabkan disfungsi endotel sehingga menimbulkan obstruksi/penyumbatan aliran darah (Makmun,2001).

2.2.1 Epidemiologi Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyebab utama penyakit kardiovaskuler sehingga dikatakan sebagai pembunuh terbesar utama baik di negara maju maupun negara berkembang. Di Amerika Serikat, aterosklerosis bertanggung jawab terhadap lebih dari setengah kematian per tahun.

Setiap 2 detik terjadi satu kematian akibat penyakit kardiovaskular. Setiap tahunnya diperkirakan 17 juta orang meninggal akibat penyakit kardiovaskular. Pada tahun 2005, angka kematian akibat penyakit kardiovaskular mencapai 17,5 juta. Sekitar 7,6 juta diantaranya terjadi karena penyakit jantung koroner dan 5,7 juta karena stroke. Diperkirakan kematian global akibat penyakit kardiovaskular mencapai sekitar 25 juta pada tahun 2020.



(Center for Disease Control and Prevention/NCHS)

Gambar 2.1 Penyebab Kematian Utama di AS Tahun 2000

2.2.2 Patofisiologi Aterosklerosis

Proses aterosklerosis dibagi menjadi 3 tahap:

a) *Fatty streak*

Lesi ini mulai tumbuh pada masa kanak-kanak, makroskopik berbentuk bercak berwarna kekuningan, yang terdiri dari sel-sel yang disebut *foam cells*. Sel-sel ini ialah sel-sel otot polos dan makrofag yang mengandung lipid, terutama dalam bentuk ester kolesterol.

b) *Fibrous plaque*

Lesi ini berwarna keputihan dan sudah menonjol ke dalam lumen arteri. *Fibrous plaque* berisi sejumlah besar sel-sel otot polos dan makrofag yang berisi kolesterol dan ester kolesterol, di samping jaringan kolagen dan jaringan fibrotik, proteoglikan, dan timbunan lipid dalam sel-sel jaringan ikat. *Fibrous plaque* mempunyai *fibrous cap* yang terdiri dari otot-otot polos dan sel-sel kolagen. Di bagian bawah *fibrous plaque* terdapat daerah nekrosis dengan debris dan timbunan ester kolesterol.

c) *Complicated lesion*

Lesi ini merupakan bentuk lanjut dari ateroma, yang disertai kalsifikasi, nekrosis, trombosis, dan ulserasi. Dengan membesarnya ateroma, dinding arteri menjadi lemah, sehingga menyebabkan oklusi arteri. (Pratanu, 1995)

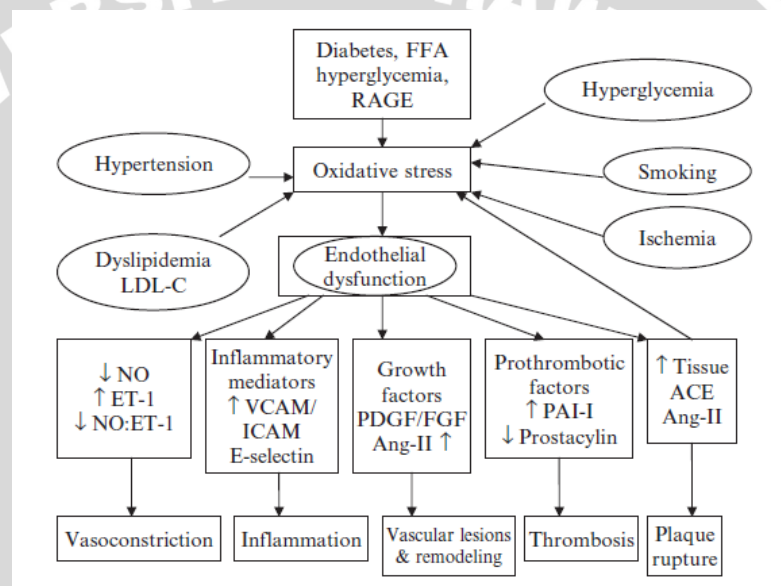
Mekanisme yang pertama terjadinya aterosklerosis adalah masuknya LDL ke dinding pembuluh darah. Plasma LDL ditransportasi ke seluruh endotel yang intak dengannya dan plasma LDL terjebak di matriks ekstraselular dan disinilah LDL teroksidasi menjadi Oxidized LDL (Ox-LDL). Ox-LDL menjadi lebih reaktif terhadap jaringan di sekitar dan merusaknya. Ox-LDL melepaskan stimulasi sinyal inflamasi sel endotel

dengan cara melepaskan protein kemotaktik seperti MCP1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) dan faktor pertumbuhan seperti mCSF (Monocyte Colony Stimulating Factor), yang berperan dalam proses masuknya monosit menuju dinding pembuluh darah (Catapano et al, 2000). Selanjutnya monosit akan berubah menjadi makrofag dan memfagosit Ox-LDL sehingga terbentuk Foam Cell, sel utama penginduksi aterosklerosis. Selain itu, Ox-LDL berperan dalam menghambat produksi NO (*Nitric Oxide*), agen vasodilatasi dan ekspresi adhesi leukosit endotel.

Foam Cell menjadi membesar dan penuh dengan lipid. Sel ini berakumulasi di jaringan, lalu mati dan membentuk plak atherogenous atau atheroma (Meydani, 2001). Makrofag yang teraktivasi mengekspresikan sitokin seperti TNF-alfa, IL-1 beta, MIP1-alfa dan sebagainya yang menstimulasi sel endotel pembuluh darah mengekspresikan protein adhesi seperti VCAM1, ICAM1 dan sebagainya. Hal ini memfasilitasi proses penggabungan antara monosit di endotel dan monosit yang sudah ada di dalam tunika intima. Sitokin yang dilepaskan dari makrofag dan foam cell juga menstimulasi otot polos pembuluh darah migrasi menuju tunika intima lalu berproliferasi dan mensekresikan kolagen, elastin dan proteoglikan untuk membentuk matriks fibrosa. Hasilnya adalah bentukan plak atheroma dengan kapsul fibrosa.

Plak aterosklerosis yang matur memiliki kapsul fibrosa, yang meliputi otot polos, makrofag, limfosit, matriks ekstraselular yang berbentuk foam cell, dan mediator inflamasi, yang membentuk kapsul aselular dan bentukan nekrosis kaya lipid derivat foam cell yang telah mati. Plak yang matur ini akhirnya menonjol ke lumen pembuluh darah

dan menyebabkan obstruksi pembuluh darah, sewaktu-waktu dapat ruptur sehingga terjadi komplikasi Infark Miokard Akut (Upston et al, 2003).



(Staels B. PPARgamma and atherosclerosis. Curr Med Res Opin 2005;21(suppl 1):S13–20)

Gambar 2.2 Proses Seluler yang Berkenaan dengan Aterosklerosis

Keterangan:

Ang-II = Angiotensin-II; ET-1 = Endothelin-1; FFA= Free Fatty Acid; FGF = Fibroblast Growth Factor; ICAM = Intracellular Cell Adhesion Molecule; NO = Nitric Oxide; PAI-1 = Plasminogen Activator Inhibitor-1; PDGF = Platelet-Derived Growth Factor; RAGEs = Receptor for Advanced Glycation End products (promotes inflammation and oxidation, particularly in cells involved in atherogenesis); VCAM-1= Vascular Cell Adhesion Molecule-1.

2.2.3 Inflamasi dan Atherosclerosis

Berkaitan dengan peradangan, C-reactive Protein (CRP) merupakan marker prototipik. CRP mengikat fosfoester dalam kalsium, dan

sintesis CRP dalam hati dipacu oleh berbagai macam faktor seperti oxidized LDL dan faktor infeksi lainnya. Respon proinflammatory meningkatkan sekresi Interleukin (IL)-1 beta dan *tumor necrosis factor* (TnF-alpha), menghasilkan sekresi dan pelepasan CRP dan serum amyloid A (Jialal,2001)

2.2.3 Faktor-faktor yang Berperan pada Aterosklerosis



Risk factors for ASCVD (modified from ATP III)

Underlying risk factors

- Obesity
- Disinclination to exercise
- Atherogenic diet

Major (or traditional) risk factors

- High LDL cholesterol
- Low HDL cholesterol (< 40 mg/dL)
- Diabetes
- Smoking
- Hypertension ($\geq 140/90$ mm Hg or on BP medication)
- Family history of premature CAD in first-degree relative (male < 55 years old, female < 65 years old)
- Age ≥ 45 years old for men, ≥ 55 years old for women
- Male sex

Emerging risk factors

- Metabolic syndrome
- Triglycerides
- Lp(a)
- Lp-PLA₂
- Remnant lipoproteins
- Small, dense LDL
- Fibrinogen
- Homocysteine
- Urine microalbumin/creatinine ratio
- High-sensitivity CRP
- Impaired fasting glucose (110-125 mg/dL, per ATP III, or 100-125 mg/dL per American Diabetes Association)
- Measures of subclinical ASCVD
 - Ankle brachial index
 - Exercise testing (with or without nuclear imaging)
 - Electron-beam tomography
 - MRI
 - Carotid intimal medial thickness
 - Carotid ultrasound

ASCVD = atherosclerotic cardiovascular disease; ATP III = Adult Treatment Panel III; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; BP = blood pressure; CAD = coronary artery disease; Lp(a) = lipoprotein(a); Lp-PLA₂ = lipoprotein-associated phospholipase A₂; CRP = C-reactive protein; MRI = magnetic resonance imaging.

(Adult Treatment Panel III)

Gambar 2.3 Faktor Risiko Penyakit Kardiovaskuler Aterosklerotik

2.3 High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP)

Peningkatan CRP serum di dalam darah merupakan indikasi adanya inflamasi. Tes CRP biasanya dilakukan untuk mengetahui adanya proses inflamasi yang diakibatkan oleh mikroba, penyakit autoimun, atau reaksi alergi (Reeves, 2007).

American Heart Association merekomendasikan hs-CRP sebagai bagian dari pemeriksaan rutin bagi mereka yang berisiko *intermediate* untuk penyakit jantung. Klinik Cleveland telah menggunakan tes hs-CRP secara rutin untuk pasien yang berisiko serangan jantung dan stroke selama beberapa tahun. Hasil studi JUPITER menunjukkan bahwa walaupun orang kelompok umur tua (50-an untuk awal 60-an) dengan faktor komplikasi vaskuler semiminal apapun harus dites kadar hs-CRP dan diberi pengobatan yang sesuai.

2.3.1 Definisi

C-Reactive Protein merupakan protein fase akut yang dihasilkan oleh hepar dalam menanggapi produksi sitokin (*IL-6*, *IL-1*, *TNF- α*). CRP adalah protein plasma normal, beredar konsentrasi yang meningkat secara dramatis dalam sebuah kerusakan jaringan, infeksi, atau peradangan yang dimediasi sitokin-respon, serum CRP nilainya secara luas diukur dalam praktek klinis sebagai indeks objektif terhadap adanya aktivitas penyakit. CRP adalah golongan *pentraxin* yang meliputi komponen *serum amyloid P* (*SAP*) (Thompson, 1999).

Dengan adanya kalsium, CRP khusus mengikat polisakarida seperti gugus fosfokholin yang terdapat pada permukaan berbagai sel mikroba patogen. Ikatan CRP mengaktifkan jalur klasik komplemen dan menyiapkan ligan untuk fagositosis. CRP juga menetralkan faktor pro-inflamasi dan *platelet-activating down-regulating polimorf*. Sebagian besar

CRP dibuat dalam hepar dan disekresikan dalam jumlah yang meningkat dalam waktu enam jam setelah inflamasi akut (Black, 2004). Konsentrasi plasma bisa dua kali lipat sedikitnya setiap delapan jam, dan mencapai puncak setelah sekitar 50 jam. Setelah pengobatan efektif atau eradikasi inflamasi, konsentrasi bisa turun dalam waktu 5-7 jam. Respon CRP dapat menurun karena disfungsi hepatoseluler yang berat, namun disfungsi ginjal dapat meningkatkan konsentrasi CRP (Reeves, 2007).

Konsentrasi normal rata-rata CRP adalah 0,8 mg/L, dengan 90% orang yang tampak sehat memiliki nilai kurang dari 3 mg/L dan 99% kurang dari 12 mg/L. Nilai yang meningkat menunjukkan sesuatu yang tidak normal dan menunjukkan adanya penyakit, meskipun terdapat sedikit kenaikan nilai CRP pada obesitas. "*Ultra-sensitive*" atau "*high-sensitive*" CRP mengacu pada pengukuran perubahan yang kecil pada konsentrasi CRP yang terjadi di bawah normal, digunakan untuk menentukan infeksi yang signifikan dan inflamasi (Reeves, 2007).

2.3.2 Metode Pengukuran CRP

Pengukuran CRP dilakukan dengan pengambilan darah dari pembuluh darah vena, biasanya dilakukan pada bagian siku atau belakang telapak tangan. Darah yang telah diambil kemudian dianalisa kadar CRP-nya dengan menggunakan suatu senyawa antiserum yang dapat digunakan untuk mengukur kadar protein tersebut. Ada 3 jenis metode pengukuran CRP, yaitu :

2.3.2.1 Conventional CRP .

Metode pengukuran ini digunakan untuk menganalisa adanya infeksi, kerusakan jaringan, dan gangguan-gangguan akibat proses inflamasi. Metode ini dapat mengukur kadar CRP secara tepat pada kadar 5 mg/l atau lebih. Orang yang sehat biasanya memiliki kadar CRP di bawah 5 mg/l, sedangkan adanya proses inflamasi ditunjukkan dengan kadar CRP sebesar 20-500 mg/l.

2.3.2.2 Cardiac CRP (cCRP).

Metode pengukuran ini digunakan untuk menganalisis tingkat resiko penyakit jantung. Metode ini memiliki sensitivitas yang menyerupai dengan hsCRP , namun menggunakan metode analisa yang lebih sensitif sehingga hasil yang diperoleh lebih spesifik untuk menentukan resiko penyakit jantung

2.3.2.3 High Sensitivity CRP (hsCRP).

Metode pengukuran ini digunakan untuk menganalisa kondisi-kondisi yang mungkin berhubungan dengan proses inflamasi. CRP (*C-Reactive Protein*) adalah suatu jenis protein yang dihasilkan oleh hepar ketika terjadi cedera akut, peradangan atau infeksi. Hs-CRP (*High Sensitivity C-Reactive Protein*) merupakan pemeriksaan yang lebih sensitif, sehingga kadar CRP yang sedikit dapat dideteksi.

Menurut *American Heart Association* dan *Konsensus Centers for Disease Control* memberikan batas cut off point untuk kategorial faktor resiko:

Tabel 2.3 Kategori Relatif dan Kadar Hs-CRP

Kategori resiko relatif dan kadar Hs-CRP rata-rata

Rendah < 1,0 mg/l

Rata 1,0-3,0 mg/l

Tinggi > 3,0 mg/l

(American Heart Association)

Keterangan:

- Jika konsentrasi hsCRP < 1,0 mg/L, maka risiko terkena PJK rendah
- Jika konsentrasi hsCRP 1,0- 3,0 mg/L, maka risiko terkena PJK rata-rata (*moderate*)
- Jika konsentrasi hsCRP > 3,0 mg/L (tetapi < 10 mg/L), maka risiko terkena PJK tinggi

Tes hs-CRP harus digunakan bersama dengan kolesterol dan faktor-faktor risiko lazim lainnya untuk menentukan risiko individu. Bukti juga menunjukkan bahwa individu dengan kadar hs-CRP tinggi berisiko untuk mengalami sindroma metabolik. Pemeriksaan hs-CRP kemungkinan pada usia pertengahan 30an, usia sama dimana kebanyakan dokter memeriksa kadar kolesterol. Ada bukti yang mendukung bahwa kadar hs-CRP pada usia belasan tahun dan 20an merupakan kadar yang sangat prediktif untuk kehidupan di masa-masa mendatang. Kadar hs-CRP yang meningkat memprediksikan risiko selama 30 hingga 40 tahun yang akan datang. Berbeda dengan pengujian kolesterol, evaluasi hs-CRP tidak

mengharuskan anda berpuasa dan bisa dilakukan kapanpun dalam sehari.

2.3.3 Hs-CRP dengan Sindroma Metabolik

Sindroma metabolik merupakan faktor resiko utama terjadinya penyakit vaskuler dan beberapa studi mengatakan bahwa kadar hs-CRP akan menurun pada pasien sindroma metabolik. Hs-CRP memiliki korelasi positif terhadap *Body Mass Index*(BMI), lingkar pinggang, tekanan darah, dan kadar *Trigliseride*, kolesterol LDL, dan glukosa plasma, dan berkorelasi terbalik terhadap peningkatan HDL-kolesterol dan *insulin sensitivity index* (Jialal,2001).

Sebagian hubungan antara penyakit jantung dan diabetes disebabkan oleh inflamasi, dan bagi banyak pasien inflamasi tersebut merupakan hasil dari obesitas, khususnya “obesitas sentral” atau kecenderungan untuk memusatkan berat badan di sekitar perut. Ini karena sel-sel lemak atau “adiposit” menghasilkan protein-protein duta, seperti sTNFR-2, IL-1 beta, dan TNF- α , yang membangkitkan produksi CRP itu sendiri (Ridker, 2003).

Peningkatan hs-CRP menjadi faktor resiko resistensi insulin dan diabetes mellitus yang merupakan salah satu kriteria sindroma metabolik, pada resistensi insulin terjadi pelepasan *Free Fatty Acids* (FFA) pada postabsorptive dan postprandial dan terjadi peningkatan trigliserida, total kolesterol, dan kolesterol LDL (Waheed, 2009).

2.4 Endothelial Progenitor Cell

2.4.1 Definisi

EPC merupakan sel yang memiliki karakteristik seperti sel punca (*stem cell*), namun memiliki kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang lebih terbatas.

Sel ini bersifat unipoten, yaitu dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel matang. EPC memiliki peran penting dalam pembentukan pembuluh darah dan remodelisasi sel endotelial pada pembuluh darah yang mengalami kerusakan.

EPC didefinisikan sebagai bagian dari sel berinti tunggal (*mononuclear cell* atau MNC) yang memiliki molekul penanda sel punca hematopoietik, yaitu CD34, suatu glikoprotein yang memediasi pelekatan sel punca pada matriks ekstraseluler sumsum tulang dan CD133, suatu glikoprotein yang dilaporkan merupakan molekul penanda untuk sel punca yang lebih primitif dibandingkan CD34. Sampai saat ini fungsi dari molekul CD 133 masih belum diketahui dengan pasti. EPC yang telah mengalami diferensiasi menjadi sel yang lebih matang secara berangsur-angsur akan kehilangan ekspresi CD34. EPC juga dilaporkan memiliki molekul penanda sel endotelial, yaitu KDR (*Kinase Insert Domain Receptor*), suatu protein yang berperan penting dalam menstimulasi proliferasi, perkembangan pembuluh darah baru (*sprouting*), dan angiogenesis. EPC juga berperan dalam pelekatan dan interaksi antar sel.. Beberapa molekul penanda sel endotelial matang lainnya yang dapat dimiliki oleh EPC antara lain sebagai berikut: CD31 (*Platelet endothelial cell adhesion molecule-1*), berperan dalam pelekatan sel endotel dan merupakan molekul yang berperan dalam proses migrasi leukosit melalui jaringan interseluler sel-sel endotel; CD146 (P1H12), berperan dalam memediasi pelekatan antar sel endotel; *Von Willebrand factor* (VWF), berperan dalam proses koagulasi darah; Tie-2 berperan dalam pematangan jaringan sel endotel selama vaskulogenesis atau angiogenesis; dan *Endothelial nitric oxide synthase* (eNOS), berperan dalam pengaturan fungsi pembuluh darah.

2.4.2 Sistem Klasifikasi Endothelial Progenitor Cell

EPC diklasifikasikan berdasarkan sistem pengisolasian dan kulturnya. Pengisolasian EPC dapat dilakukan melalui beberapa cara yang memiliki perbedaan baik pada sumber sel yang digunakan maupun metodenya. Sel yang digunakan umumnya diisolasi dari sumsum tulang, darah tepi, dan darah tali pusat. Sel yang diperoleh dari sumber-sumber tersebut dipisahkan berdasarkan morfologi yaitu sel berinti tunggal (MNC : *Mononucleated cells*). MNC yang diperoleh dapat langsung dikultur pada kondisi yang sesuai untuk diferensiasi EPC, namun pada beberapa penelitian, MNC yang diperoleh dipisahkan berdasarkan penanda tertentu sebelum dikultur. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan partikel besi yang akan menempel pada kolom magnet atau metode ini disebut juga separasi imunomagnetik. Molekul penanda yang sering digunakan adalah molekul CD34 dan CD133 (molekul penanda sel induk). Untuk memisahkan populasi yang mengekspresikan molekul penanda CD34 atau CD133 dari MNC, dilakukan dengan pemberian antibodi terhadap CD34 atau CD133 yang telah terkonjugasi dengan partikel magnet untuk selanjutnya dipisahkan secara spesifik. Sel yang telah diseleksi tersebut didiferensiasi menjadi EPC dalam kultur. Dari hasil kultur, didapatkan 2 subpopulasi EPC. Masing-masing subpopulasi memiliki pola pertumbuhan dan karakteristik yang berbeda.

2.4.3 Klasifikasi Endothelial Progenitor Cell

2.4.3.1 Early Endothelial Progenitor Cell (Early EPC)

Pemberian nama subpopulasi ini berdasarkan waktu kemunculannya dalam kultur. Early EPC dihasilkan dari kultur MNC yang mendukung pertumbuhan EPC dalam waktu yang relatif singkat (4-7 hari).

Karakteristik Early EPC antara lain memiliki morfologi berbentuk spindle dan memiliki waktu pertumbuhan yang optimal namun tidak menunjukkan jumlah proliferasi yang signifikan pada 2-3 minggu pertama dalam kultur. Setelah periode waktu tersebut, jumlah Early EPC terus menurun. Populasi ini juga diketahui dapat menghasilkan mediator yang berperan dalam proses pembentukan pembuluh darah seperti vascular endothelial growth factor (VEGF) dan Interleukin-8 (IL-8). Kedua mediator ini merupakan molekul proangiogenik yang dapat meningkatkan proliferasi, pembentukan struktur vascular dan migrasi EPC.

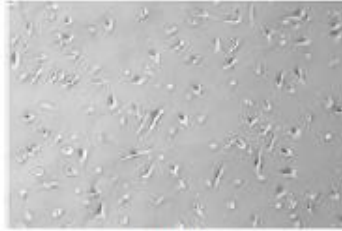
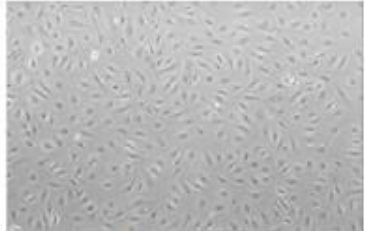
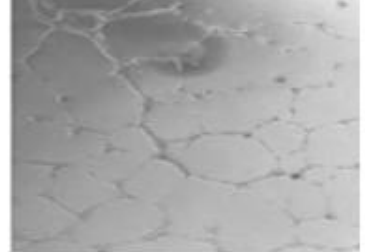
Ditinjau dari fenotipnya, ekspresi molekul penanda sel endotel pada early EPC tidak homogen, Early EPC yang dikultur selama 4 hari mengekspresikan secara kuat molekul penanda sel turunan hematopoietik antara lain CD14, CD11b, CD11c (terutama molekul penanda sel monosit atau makrofag). Sebagian kecil dari populasi ini mengekspresikan dengan lemah molekul penanda EPC dan sel endotel seperti CD 34 dan VE-Cadherin. Karena ditemukannya molekul penanda yang juga didapatkan pada sel hematopoietik, maka dapat dikatakan bahwa Early EPC adalah termasuk turunan dari sel hematopoietik.

2.4.3.2 Endothelial Outgrowth Cell (EOC atau Late EPC)

Populasi sel ini ditemukan pada waktu relatif lebih lama dalam kultur. Pemberian nama EOC berdasarkan waktu kemunculan dalam kultur pada 10 sampai 20 hari dan kapasitas proliferasinya lebih besar daripada Early EPC. EOC juga dapat ditemukan dari populasi sel induk di dalam sumsum tulang, namun diketahui dapat pula diturunkan dari kultur jangka panjang pada MNC yang berasal dari peredaran darah tepi.

Karakteristik EOC antara lain memiliki morfologi bentuk cobblestone (Tabel 1). Waktu pertumbuhan yang paling optimal adalah pada minggu ke-4 sampai ke-8 dan dapat dipertahankan sampai minggu ke 12 dalam kondisi kultur yang mendukung pertumbuhan EPC. EOC yang diperoleh sebagai hasil ekspansi MNC dari darah tepi dapat diekspansi sebanyak 10-20 kali lipat dalam kultur selama 60 hari dengan serial passage sedangkan Early EPC dilaporkan tidak memiliki jumlah proliferasi yang cukup signifikan dibandingkan EOC. Populasi EOC mensekresikan mediator pertumbuhan yang lebih sedikit jumlahnya dibandingkan Early EPC. Uji fungsional EOC yang dilakukan pada beberapa studi menunjukkan bahwa populasi ini memiliki kemampuan proliferasi, migrasi dan pembentukan struktur vaskular pada matriks tiga dimensi lebih besar dibandingkan Early EPC.

Perbedaan antara *early* EPCs dan EOCs juga ditemukan pada ekspresi molekul penandanya (Gambar 2.4). Walaupun kedua tipe EPC dapat mengekspresikan beberapa molekul penanda sel endotel, seperti *Kinase Domain Receptor* (KDR), *VE-Cadherin*, *von Willebrand Factor* (vWF), dan *endothelial nitric oxide* (eNOS), namun EOCs mengekspresikan molekul-molekul penanda tersebut secara lebih kuat dibandingkan dengan *early* EPCs (Gambar 2.4). Lebih jauh lagi, EOCs tidak lagi mengekspresikan molekul penanda sel hematopoietik (CD45 dan CD14). Hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan terhadap *early* EPCs, EOCs lebih mendekati sel endotel matang. Hal yang membedakan EOCs dari sel endotel matang adalah didapatkannya aktivitas telomerase yang tinggi yang tidak didapatkan pada sel endotel matang.

Karakteristik	Early EPCs	EOCs
Waktu ditemukannya dalam kultur	4-7 hari	10-20 hari
Morfologi sel	 <i>Spindle</i>	 <i>Cobblestone</i>
Kecepatan proliferasi setelah waktu optimal tercapai	Rendah	Tinggi
Jumlah mediator yang disekresi (VEGF dan IL-8)	Tinggi	Rendah
Molekul penanda	CD34, CD14, CD11b, CD11c, CD45, KDR, VE-cadherin, CD31, Tie-2, vWF	KDR, VE-cadherin, CD31, Tie-2, vWF, eNOS
Pembentukan struktur vaskular dalam matriks dimensi	 Tidak terbentuk	 Terbentuk

Berbagai Paradigma Pendefinisian *Endothelial Progenitor Cells* (Frisca, Caroline T. Sardjono, Ferry Sandra)

Gambar 2.4 Perbedaan antara Early EPC dan EOC (Late EPC)

VEGF : *Vascular endothelial growth factor*, IL-8 : *Interleukin-8*;

CD : *Cluster of differentiation*,

KDR : *Kinase Domain Receptor*,

Tie-2 : protein reseptor tirosin kinase, spesifik epitel,

vWF : *Von Willebrand factor*,

eNOS : *endothelial nitric oxide sintase*.

2.4.3.3 Circulating Endothelial Progenitor Cell (Circulating EPC)

EPC yang bersirkulasi dalam peredaran darah, seringkali disebut sebagai *Circulating Endothelial Progenitor Cells* (CEPs). CEPs dapat berasal dari hasil mobilisasi EPC dari sumsum tulang atau dari daerah-daerah tertentu tempat EPC berada, seperti organ jantung, otot, saluran pencernaan, dan peredaran darah. CEPs selanjutnya dapat bersirkulasi dalam peredaran darah dan dapat bermigrasi ke daerah yang mengalami iskemi (kekurangan oksigen) dan daerah dengan pertumbuhan tumor akibat stimulasi mediator pertumbuhan yang turut berperan dalam terjadinya pembentukan pembuluh darah baru.

Peningkatan jumlah *Circulating EPC* (CEPs) dapat dideteksi segera setelah terjadinya luka. Dalam waktu 6 jam setelah terjadi luka, peningkatan CEPs dapat segera terdeteksi dalam peredaran darah. Selama berada dalam peredaran darah, CEPs sudah mulai mengalami diferensiasi sehingga saat berada pada tempat terjadinya luka, CEPs telah siap berperan dalam penyembuhan luka. Proses diferensiasi CEPs diduga diawali dengan migrasi EPC dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah yang kemudian melekat atau menyusup ke dalam lingkungan tempat sel endotel matang berada. Namun, sampai saat ini belum ada definisi yang jelas mengenai kapan diferensiasi EPC (yang berasal dari sumsum tulang) menjadi sel endotel matang. Sel endotel matang tidak mengekspresikan molekul CD133 atau CD34, sehingga salah satu penanda adalah hilangnya ekspresi molekul

CD133 atau CD34 dan ekspresi paralel lanjutan untuk molekul penanda spesifik sel endotel seperti vWF (von Willenbrand Factor)

2.4.4 Metode Penghitungan Endothelial Progenitor Cell

Metode penghitungan EPC yang telah digunakan pada banyak studi menghasilkan variabilitas pada jumlah EPC yang telah dilaporkan, mengingat belum adanya definisi tunggal di antara para peneliti untuk EPC. Beberapa studi melaporkan beberapa variasi dalam definisi EPC yang juga dipakai sebagai acuan dalam penghitungan jumlah EPC.

a. Berdasarkan morfologi

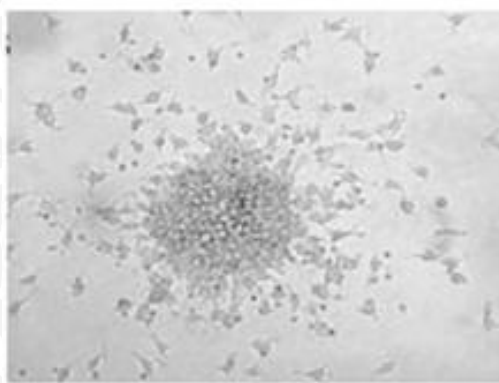
Sel berbentuk spindle dan membentuk koloni bulat atau sel berbentuk *cobblestone* didefinisikan sebagai EPC.

b. Berdasarkan fenotipe, yaitu antigen permukaan sel

Pada kebanyakan studi, EPC diidentifikasi dan dihitung melalui *flow cytometry*, yaitu dengan identifikasi sel-sel yang memiliki molekul penanda sel hematopoietik dan sel endotel, yaitu CD34, CD133, dan KDR^{9,12,22}.

c. Berdasarkan karakteristik fungsional

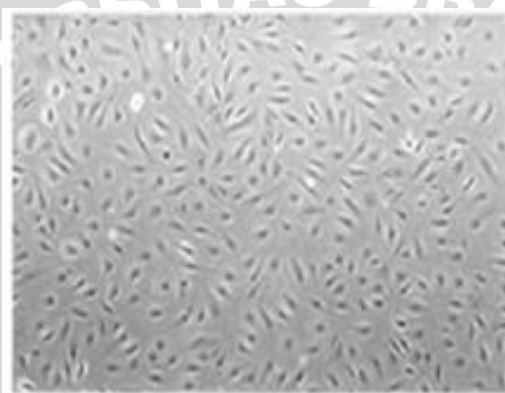
EPC dapat dikarakterisasi secara fungsional melalui beberapa metode, antara lain pengikatan dengan lektin, kemampuan endositosis senyawa lipoprotein, atau kemampuan untuk membentuk struktur menyerupai pembuluh darah secara *in vitro*.



(Frisca, Caroline T. Sardjono)

Gambar 2.5

EPC: Sel berbentuk spindle dengan koloni berbentuk bulat dalam kultur in vitro pada hari ke-5.



(Frisca, Caroline T. Sardjono)

Gambar 2.6

EPC: Sel berbentuk *cobblestone* dalam kultur in vitro pada hari ke-19

Jumlah EPC pada 1 ml darah manusia dewasa segar adalah $1,6 \times 10^5$ sampai 3×10^5 sel^{31,34}. Sedangkan berdasarkan fenotipenya (CD133+/KDR+), dilaporkan jumlah EPC pada peredaran darah tepi dewasa normal yaitu sekitar 0,002% dari total sel mononuklear atau rata-rata 66 sel/ml¹⁷. Semua metode untuk mengukur EPC, baik metode sitometri atau kultur secara ekstensif menunjukkan bahwa pada pasien DM tipe I maupun II memiliki *circulating* EPC yang sedikit jika dibandingkan dengan subjek yang sehat. Selain itu, EPC pada DM memperlihatkan adanya gangguan fungsional, seperti berkurangnya proliferasi, adhesi, migrasi. Mekanisme yang mendasari penurunan EPC pada DM diantaranya adalah mobilisasi yang lemah di sumsum tulang, proliferasi menurun, dan semakin singkatnya kelangsungan hidup EPC dalam darah perifer.

Ketidakmampuan mobilisasi EPC dikaitkan dengan adanya downregulation pada HIF-1 α dan melemahnya pelepasan faktor stimulasi sumsum tulang, seperti VEGF dan SDF-1, yang akhirnya menyebabkan angiogenesis yang tidak memadai. Hiperglikemia menjadi ciri umum yang mempengaruhi kelangsungan hidup dan fungsi dari EPC. Hubungan lain yang mungkin antara diabetes dan perubahan EPC adalah resistensi insulin binomial/hiperinsulinemia.

2.4.5 Marker EPC

2.4.5.1 CD 34

Sel punca hematopoetik memiliki molekul yang khas pada permukaan selnya, yaitu molekul glikoprotein CD34. Molekul penanda ini dapat digunakan sebagai sarana untuk menghitung jumlah sel punca hematopoetik yang berhasil diisolasi. Bahkan dalam penggunaannya dalam terapi keganasan, telah ditentukan jumlah CD34 yang direkomendasikan oleh ASBMT (*American Society for Blood and Marrow Transplantation*) dan ISCT (*International Society for Cellular Therapy*) engraftment dari sel yang ditransplantasikan diperlukan setidaknya 5 x 10⁶ CD34⁺ cells/kg berat badan. Oleh karena itu, fasilitas laboratorium terpercaya yang dapat menghitung jumlah sel CD34⁺ (CD34 enumeration) menjadi mutlak diperlukan untuk transplantasi jenis ini.

Dalam beberapa tahun terakhir, dilaporkan bahwa + 80% dari sel punca CD34⁺ juga mengekspresikan penanda CD133. Sel dalam populasi CD34⁺/CD133⁺ dikenal dengan sebutan hemangioblast yang dalam perkembangannya dapat berdiferensiasi menjadi turunan sel hematopoetik (heme) dan sel pembangun pembuluh darah (angio). Hal ini dipertegas

dengan temuan Asahara et al yang melaporkan bahwa populasi sel tersebut merupakan sel tipe Endothelial Progenitor Cell/EPC. Lebih lanjut, EPC merupakan sel progenitor yang bertugas meregenerasikan sel endotel dalam pembuluh darah. Oleh karena itu, jumlah EPC dalam sirkulasi peredaran darah dilaporkan mengindikasikan besarnya risiko terjadinya arteriosklerosis maupun kejadian.

2.4.5.2 VEGF

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah glikoprotein proangiogenik yang berfungsi meningkatkan proliferasi, migrasi, survival pada sel endotel serta meningkatkan permeabilitas kapiler. Sel sel kita memerlukan oksigen, yang digunakan sebagai energi menjalankan proses proses molekuler. Oksigen tersebut dikirimkan melalui darah, dan sebagian besar sel sel kita berada dalam rentang 10 milimeter dari pembuluh kapiler. Sel sel tumor juga tanpa pengecualian. Bila massa sel sel tumor telah lebih besar dari 1 milimeter, hal tersebut menyebabkan sel kekurangan oksigen dan energi kecuali dibentuk pembuluh darah baru. Vascular endothelial growth factor atau VEGF adalah sinyal kunci yang digunakan oleh sel yang kekurangan oksigen (oxygen-hungry cells) untuk memicu pertumbuhan pembuluh darah.

VEGF pertama kali dideskripsikan sebagai protein yang mampu merangsang permeabilitas vaskuler dan proliferasi sel endotel dan diidentifikasi sebagai perangsang utama angiogenesis dan vaskulogenesis. VEGF adalah sebuah basa, 34-46-kDa *homodimeric*, heparin-binding glycoprotein dan gen VEGF berada di kromosom 6p12. VEGF, yang juga disebut VEGF-A atau *vascular permeability factor* (VPF), termasuk kedalam keluarga *supergene VEGF-platelet-derived growth factor (PDGF)*. Anggota

keluarga yang lain adalah VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan VEGF-E. Semua menunjukkan derajat yang bervariasi homolog dengan VEGF. *Splicing* alternatif gen VEGF menghasilkan empat asam amino isoform 121, 165, 189 dan 206 serta varian-varian lain yang lebih jarang. VEGF-165, adalah bentuk dominan dan sebagian terkait dan disekresi oleh matriks.

2.5 Faktor-faktor yang mempengaruhi EPC

Menurut Shantsila, 2012. EPC dapat dipengaruhi oleh berbaai macam faktor, antara lain:

1. Usia

Usia dikaitkan dengan berkurangnya jumlah EPC. Semakin usia bertambah maka jumlah EPC akan menurun pada pasien sindroma metabolik.

2. Faktor resiko terhadap penyakit kardiovaskuler

Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa faktor risiko terhadap penyakit kardiovaskular mempengaruhi jumlah dan sifat EPC. Terdapat korelasi terbalik antara jumlah (dan aktivitas fungsional) dari EPC dan faktor risiko kardiovaskular pada orang sehat kadar EPC memiliki nilai yang leih besar dibandingkan pada pasien dengan Coronary Artery Disease,

3. Lemak (lipid)

Beberapa studi secara konsisten melaporkan hubungan antara metabolisme lipid dan biologi EPC manusia. Jumlah unit koloni EPC secara signifikan berkurang pada subyek yang relatif sehat dengan peningkatan kadar kolesterol serum.

4. Hipertensi

Di antara berbagai faktor risiko, hipertensi terbukti menjadi prediktor terkuat penurunan EPC. Aktivitas Angiotensin II berkurang pada pasien hipertensi sehingga terjadi telomerase pada EPC dan mempercepat terjadinya penuaan EPC melalui peningkatan stres oksidatif.

5. Diabetes Mellitus

Jumlah EPCs menurun pada DM tipe 1 dan DM tipe 2. Selanjutnya, adanya disfungsi EPC mungkin mendasari mekanisme baru yang terlibat dalam patogenesis komplikasi vaskular pada pasien diabetes. Tepper et al. mengatakan terdapat gangguan kemampuan sel endotel matang untuk masuk ke dalam tubulus pada DM tipe 2. Dalam kedua studi, jumlah EPC yang menurun dan disfungsi EPC berbanding terbalik dengan tingkat HbA1c, menunjukkan bahwa tingkat gula darah dikaitkan dengan patofisiologi EPC.

Bukti lebih lanjut dari dampak negatif dari hiperglikemia pada EPC diungkapkan oleh Kränkel et al. yang menunjukkan bahwa budidaya sel mononuklear darah perifer (MNC) dari donor sehat dalam kondisi hiperglikemia dikaitkan dengan penurunan jumlah EPC yang signifikan, penghambatan produksi NO, dan aktivitas matriks metalloproteinase-9, serta penurunan kapasitas migrational dan integratif dari sel-sel

6. Faktor resiko lain

Merokok merupakan prediktor yang signifikan dari berkurangnya sirkulasi dan jumlah EPC. Jumlah EPC yang beredar berkorelasi terbalik dengan jumlah rokok yang dikonsumsi. EPC dari

perokok berat mati sebelum waktunya selama fase awal. Selain itu, berhenti merokok juga dikaitkan dengan peningkatan angka EPC, dan perubahan ini adalah yang paling ditandai pada mereka yang sedikit merokok. Akan tetapi, jika pasien merokok kembali, jumlah EPC cepat turun ke tingkat sebelum berhenti merokok.

7. Penyakit lainnya

Pengurangan jumlah EPC ditemukan pada pasien dengan disfungsi ereksi, pasien dengan restenosis instent, dan pada pasien transplantasi jantung dengan vasculopathy. Tingkat EPC secara signifikan menurun pada pasien setelah stroke dan pada pasien aterosklerosis (termasuk tanpa stroke yang klinis) di antaranya pada pasien infark serebral. Dalam studi terakhir, jumlah EPC juga berkorelasi dengan aliran darah regional pada hipoperfusi otak kronis (Shantsila, 2012).

Tabel 2.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi EPC

Faktor yang Berpengaruh	Efek pada Jumlah EPC
Fisiologis	
Olahraga teratur	↑
Penuaan	↓
Patologi	
Infark miokard akut, trauma vaskuler, Gagal jantung (fase awal)	↑
Gagal jantung (fase lanjut), diabetes melitus, hiperkolesterolemia	↓
Obat-obatan	
Statin, puerarin	↑
Mediator pertumbuhan, hormon, dan bahan kimia lainnya	
VEGF2, SDF-1, eritropoietin, bFGF, GCSF	↑
Nikotin	↓

Berbagai Paradigma Pendefinisian *Endothelial Progenitor Cells*

(Frisca, Caroline T. Sardjono, Ferry Sandra)

2.6 Faktor-faktor yang Terkait antara Hs-CRP dan Endothelial Progenitor Cell pada Sindroma Metabolik

Disfungsi EPC dapat terjadi baik pada penderita Sindroma Metabolik terutama bila telah terjadi manifestasi klinis mikroalbuminuria. Disfungsi EPC juga dapat terjadi pada individu dengan resistensi insulin (pasien obese) (Shahab, 2008).

Tinggi kadar hs-CRP didapatkan lebih tinggi pada penderita diabetes daripada seseorang tanpa diabetes. Selain itu angka EPC secara signifikan lebih rendah pada pasien diabetes mellitus dan pasien dengan level hs-CRP yang tinggi. Pasien diabetes dengan level hs-CRP tinggi menunjukkan adanya penurunan angka marker sel CD34+ dan sel CD34+CD133+ dibandingkan dengan pasien non-diabetic dan kadar hs-CRP yang rendah. Semakin tinggi kadar GDP, semakin tinggi kadar hs-CRP (Koshikawa *et al*, 2010).

EPC pada pasien sindroma metabolik tidak berfungsi sebagaimana mestinya, sehingga tetap terjadi kerusakan dan LDL dapat masuk ke tunika intima dan teroksidasi yang membentuk LDL teroksidasi. LDL menjadi lebih berpotensi menimbulkan suatu abnormalitas apabila teroksidasi. Oksidasi dari LDL terjadi ketika LDL bereaksi dengan radikal bebas disebut *oxidized* LDL. *Oxidized* LDL menjadi lebih reaktif untuk merusak jaringan di sekitar dan melepaskan stimulasi sinyal inflamasi sel endotel dengan cara melepaskan protein kemotaktik yang berperan dalam proses masuknya monosit menuju dinding pembuluh darah (Catapano *et al*, 2000).

Menurut Verma dkk, kadar hs-CRP yang terus meningkat akan semakin menurunkan jumlah EPC dengan cara mempercepat apoptosis EPC. Hs-CRP merusak pertahanan antioksidan EPC sehingga mempercepat apoptosis sel dan memperberat kerusakan jaringan.

Hs-CRP sebagai bagian sistem kekebalan tubuh memiliki fungsi untuk mengaktifkan sistem komplemen, menimbulkan adhesi ekspresi molekul, meningkatkan fagositosis makrofag, dan memicu aktivasi leukosit. Hs-CRP juga memicu disfungsi endotel karena menurunnya ekspresi nitric oxide synthase (eNOS) dan stabilitas mRNA, selain itu juga menstimulasi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menyebabkan apoptosis endotelial. Hs-CRP juga

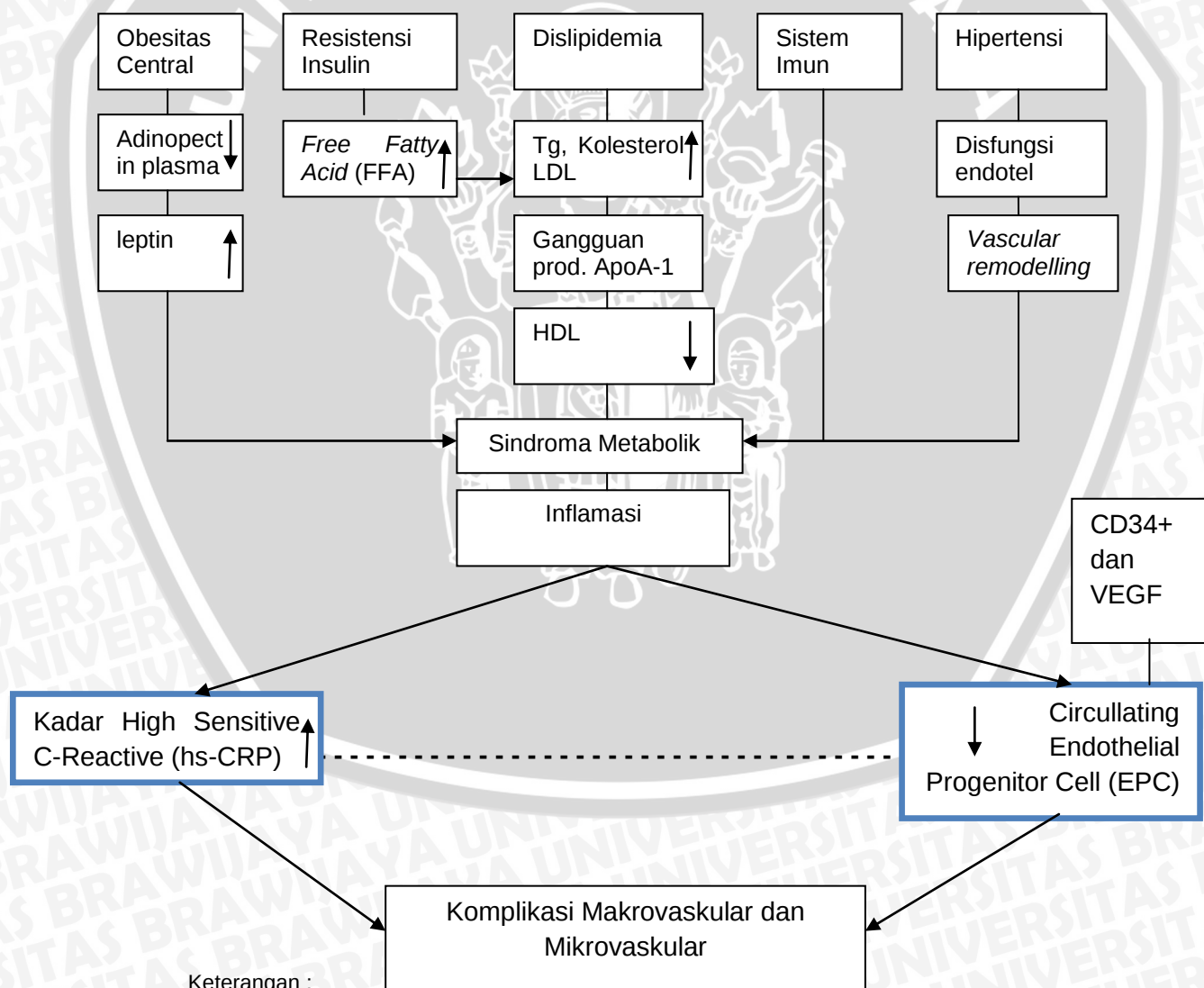
menghambat bone-marrow untuk membentuk EPC dan berdiferensiasi. Kemampuan regenerasi EPC berkaitan dengan tingginya ekspresi protein antioxidan dengan kurangnya sensitifitas terhadap ROS akan menyebabkan kematian sel, dengan cara menghambat aktifitas *telomerase reverse transcriptase* (TERT). Peningkatan ROS merangsang ekspor TERT dari inti ke dalam sitoplasma, sehingga terjadi penuaan sel (Fujii, 2006).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



- : Parameter yang diteliti
- : Diketahui menyebabkan
- — — : Diketahui hubungannya tapi data masih sedikit

Uraian Kerangka Konsep Penelitian :

Pada sindroma metabolik akan menyebabkan peningkatan jumlah *High Sensitive C Reactive Protein* (hs-CRP) dan menurunkan *Endothelial Progenitor Cell* (EPC). *High Sensitive C Reactive Protein* (hs-CRP) merupakan marker adanya inflamasi, dan CD34+ serta VEGFR merupakan marker dari EPC. Hs-CRP dan EPC secara langsung dapat menginduksi terjadinya komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular pada sindroma metabolik. Berdasarkan penelitian Koshikawa, *et al*, 2010, diketahui bahwa pada pasien diabetes mellitus dengan kadar hs-CRP yang tinggi menunjukkan penurunan jumlah pada marker sel CD34+ dan sel CD34+133+ dibandingkan pada pasien *non-diabetic* dengan kadar hs-CRP yang rendah, studi tersebut menunjukkan bahwa perbaikan vaskular oleh EPC terganggu pada pasien.. Selain itu diketahui juga bahwa hs-CRP mengurangi jumlah sel EPC dengan meningkatkan apoptosis sel. Oleh karena itu, hs-CRP, serta hiperglikemia dan stres oksidan, dapat menyebabkan pengurangan jumlah EPC pada pasien diabetes, namun belum begitu banyak data yang tersedia. Maka dari itu, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan hubungan antara peningkatan hs-CRP terhadap EPC pada sindroma metabolik.

3.2 HIPOTESIS PENELITIAN

Ada hubungan antara kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* dengan kadar *Circulating Endothelial Progenitor Cell* pada Sindroma Metabolik.

BAB 4**METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian survey karena peneliti tidak melakukan intervensi apapun pada pasien Sindroma Metabolik. Data yang diambil menggunakan metode cross sectional. Penelitian ini menggunakan analisis korelasi karena bertujuan untuk mengetahui hubungan antara dua variabel kuantitatif, yaitu *circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) dengan *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP).

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah semua pasien yang didiagnosis Sindrom Metabolik di Poli Penyakit Dalam Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang. Sampel yang diambil adalah pasien Sindrom Metabolik yang menjalani rawat jalan di Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang. Teknik pengambilan sampel adalah dengan metode *Non Probability Sampling* yaitu dengan *Consecutive Sampling* karena sampel yang diambil berdasarkan pasien yang ada pada saat itu dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Kriteria Inklusi :

Penderita Sindroma Metabolik yang menderita diabetes, dislipidemia, dan hipertensi, serta bersedia menjadi responden.

Kriteria Eksklusi :

Pasien yang dieksklusi dalam penelitian ini adalah pasien yang, kafein dalam 2 jam sebelum pengukuran, merokok dalam 30 menit sebelum pengukuran, didapatkan riwayat dan tanda-tanda penyakit infeksi pada anamnesa dan pemeriksaan fisik, menderita asma, dan pasien yang mengalami demam dengan temperatur aksila $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ selama penelitian.

Banyaknya sampel yang dibutuhkan adalah semua subyek yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subyek yang diperlukan terpenuhi, yaitu:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{0,5 \ln [(1+r)/(1-r)]} + 3$$

Keterangan:

$Z_{1-\alpha/2}$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada α tertentu (kesalahan 1%, nilai α adalah 2,326)

$Z_{1-\beta}$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada β tertentu (power 80%, nilai β adalah 0,842)

r = koefisien korelasi (-0,435)

n = besar sampel minimum

$$n = \frac{(2,326 + 0,842)^2}{0,5 \ln [1,435/0,565]} + 3 = 49$$

Jadi, jumlah sampel minimal berdasarkan hasil perhitungan adalah sebanyak 49 subyek, kami membulatkannya menjadi 50 sampel.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1. Identifikasi Variabel

- Variabel Bebas atau independent variabel pada penelitian ini adalah pasien sindroma metabolik.
- Variabel tergantung (dependent variabel) pada penelitian ini adalah kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) dan kadar *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC)

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember tahun 2012 - Februari tahun 2013 di Poli Penyakit Dalam Rumah Sakit Saiful Anwar Malang dan Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan

- Darah 5cc untuk mengukur kadar Circulating EPC dan kadar hs-CRP
- Marker hs-CRP
- Marker EPC
 - PerCp/Cy55 anti-human VEGFR2 antibody
 - FITC anti-human CD34 antibody
- Ficoll Hipaque 50 ml

4.5.2 Instrumen Penelitian

4.5.2.1 Pengambilan Sampel

- Form surat pernyataan kesediaan menjadi responden penelitian
- Lembar pemeriksaan fisik
- Rekam Medis
- Sphygmomanometer dan stetoskop
- Vacutainer EDTA
- Vacutainer Plain
- Flashback Vacutainer
- Ice box
- Timbangan berat badan
- Pengukur tinggi badan
- Pita pengukur lingkar pinggang

4.5.2.2 Pemeriksaan hs-CRP

- Tube non-EDTA
- Venoject
- Icebox

4.5.2.3 Identifikasi EPC

- Falcon
- Blue Tip
- Yellow Tip
- White Tip
- Micropipet
- Tabung 1,5 ml
- Sentrifugasi

- Flowcytometry FACSCalibur

4.6 Definisi Operasional

1. Sindroma Metabolik:

Memenuhi kriteria diagnosis sindroma metabolik menurut *Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity*:

- Obesitas sentral untuk orang Asia: rasio perut-pinggul > 90 cm untuk pria dan > 80 cm untuk wanita.
- Peningkatan trigliserida: > 150 mg / dL (1,7 mmol / L), atau dalam perawatan spesifik untuk kelainan lipid ini.
- Penurunan HDL kolesterol: < 40 mg / dL (1,03 mmol / L) pada laki-laki, <50 mg / dL (1,29 mmol / L) pada wanita, atau dalam perawatan spesifik untuk kelainan lipid ini.
- Hipertensi: tekanan darah sistolik > 130 atau diastolik > 85 mm Hg, atau dalam pengobatan hipertensi.
- Peningkatan glukosa plasma puasa (FPG): > 100 mg / dL (5,6 mmol / L), atau terdiagnosis diabetes mellitus tipe 2 sebelumnya.

2. Kadar hs-CRP

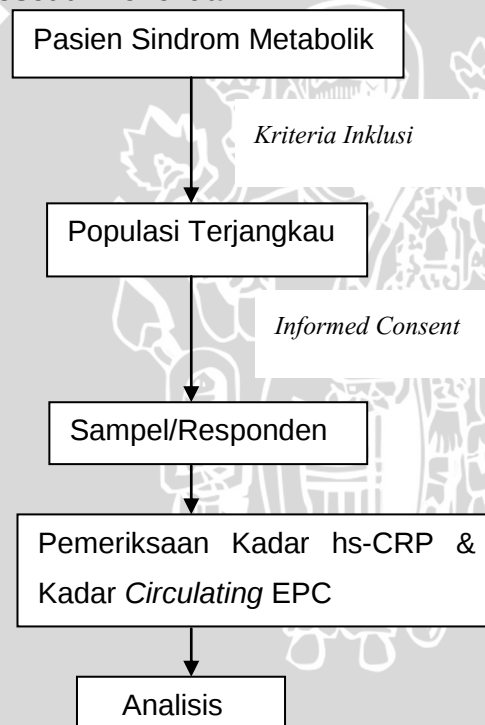
Kadar hs-CRP penderita diperiksa menggunakan tes ELISA. Sampel darah yang digunakan adalah serum.

3. Kadar EPC saat puasa

Kadar EPC yang diperiksa setelah penderita berpuasa 8-10 jam. EPC didefinisikan sebagai bagian dari sel berinti tunggal (*mononuclear cell* atau MNC) yang memiliki molekul penanda sel punca hematopoietik, yaitu CD34 dan VEGFR-2.

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Prosedur Penelitian



Pengukuran kadar hs-CRP diambil melalui vena. Sedangkan pengukuran EPC dilakukan dengan menggunakan flow cytometri.

4.7.1.1 Prosedur Pemeriksaan Hs-CRP

Pemeriksaan hs-CRP menggunakan tes ELISA dilakukan di Laboratorium Faal Universitas Brawijaya Malang.

4.7.1.2 Metode Isolasi PBMC

1. Mencampur 2,5 cc *Phosfat Buffer Salin* (PBS) dengan 2,5 cc darah (1:1) pada tabung sentrifuge 15 mL dengan tujuan untuk mempertahankan pH. Setelah itu dihomogenkan.
2. Campuran sampel darah dengan PBS kemudian dilapiskan secara hati-hati (lewat dinding tabung) ke dalam tabung sentrifuge 15 mL yang telah berisi *Lymphocyte Separation Medium* (LSM) sebanyak 2,5 cc.
3. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 1600 rpm selama 30 menit dengan posisi *brake off*.
4. Setelah disentrifugasi akan terbentuk 4 lapisan yaitu berturut-turut eritrosit, granulosit (PMN), *ficoll hypaque*, cincin *buffy coat* (limfosit dan monosit), plasma, dan PBS.
5. Mengambil cincin *buffy coat* dengan hati-hati lalu memindahkannya ke dalam tabung baru.
6. Sel dicuci dengan PBS dan disentrifugasi dengan kecepatan 1300 rpm selama 10 menit.
7. Proses pencucian diulang 2-3 kali.
8. Membuang supernatan dan mengambil palatenya yang merupakan PBMC terisolasi.

4.7.1.3 Prosedur Pemeriksaan EPC

1. Membuat *Cell Staining Buffer*, yang isinya adalah *Fetal Bofine Serum* (FBS) 2% didalam PBS dan mencampurnya dengan antibodi CD34 (1:10) dan VEGFR (1:100).
2. Enceran antibodi diatas (nomor 1) dimasukkan dalam pipet sebanyak 50 μ L, dicampurkan ke dalam palat PBMC.

Setelah itu diinkubasi selama 20-30 menit dalam gelap dan suhu 4°C.

3. Setelah inkubasi, lalu menambahkan *Cell Staining Buffer* sebanyak 300-400 µL dan memindahkannya ke dalam tube 5 mL.
4. Melakukan pembacaan EPC pada *flowcytometri* dengan menggunakan program software *Cell QuestPro*.

4.7.2 Cara Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer dan data sekunder.

- a. Data Primer, yaitu :

Data kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) dan *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) melalui pemeriksaan darah di laboratorium.

- b. Data Sekunder, yaitu :

Data identitas, riwayat penyakit pasien, dan pengobatan diambil dari rekam medis pasien

4.8 Analisis Data

Data ini akan disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis menggunakan uji statistik. Untuk mengetahui hubungan antara kadar *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) terhadap kadar *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) maka akan digunakan uji statistik *Spearman's – Rho Test*.

BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA****5.1 Data Hasil Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada 50 responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi pasien sindroma metabolik yang telah ditentukan dan bersedia mengikuti penelitian. Dalam penelitian ini didapatkan responden dengan hipertensi sebanyak 34 orang, diabetes melitus 39 orang, obesitas sentral 35 orang, dan 32 orang memiliki kadar trigliserida tinggi dan 34 orang memiliki kadar HDL rendah. Seluruh responden diambil sampel darahnya masing-masing sebanyak 9 cc untuk pengukuran kadar *high sensitive C-reactive protein* (hs-CRP) dan kadar *circulating endothelial progenitor cell* (EPC). Namun setelah didapatkan hasil, ternyata ada 5 responden yang menunjukkan nilai ekstrim baik EPC maupun hs-CRP yang sangat berbeda dengan 45 responden lainnya. Sehingga untuk melihat uji korelasi dan regresi dilakukan *cleaning data* dan menyingkirkan 5 responden tersebut. Data yang didapatkan terdiri dari 23 responden laki-laki dan 22 responden wanita dengan rata-rata usia 54 ± 3 tahun, BMI $28,52 \text{ kg/m}^2$, dan lingkar perut adalah 93,88 cm.

Tabel 5.1 Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik subyek penelitian (n=45)	
Variabel	Mean $\pm$ SD
Usia (tahun)	54 $\pm$ 3
Jenis kelamin (%)	
• Laki-laki	51%
• Perempuan	49%
BMI (kg/m ²)	26,89
Lingkar perut (cm)	93,88
Tekanan darah	
• Sistol (mmHg)	128,74 $\pm$ 13,844
• Diastol (mmHg)	79,84 $\pm$ 9,307
HbA1C (ng/dl)	16,25 $\pm$ 7,213
GDP (mg/dl)	181,84 $\pm$ 86,662
Profil lipid	
• Triglyseride (mg/dl)	207,1 $\pm$ 78,8
• HDL (mg/dl)	38,5 $\pm$ 12,2
• Kolesterol (mg/dl)	206,6 $\pm$ 48,02
• LDL (mg/dl)	122,78 $\pm$ 48,55
Hs-CRP (mg/L)	0,484 $\pm$ 0,32
EPC (%)	0,0385*

*nilai median

5.1.1 Identifikasi Kadar hs-CRP

High sensitive C-reactive protein (hs-CRP) merupakan golongan *pentraxin* yang meliputi komponen *serum amyloid P* (SAP) yang digunakan sebagai marker terjadinya inflamasi. Sampel darah responden yang diambil serumnya kemudian dilakukan pemeriksaan hs-CRP dengan menggunakan tes ELISA lalu diperiksa kadar absorbansinya

menggunakan spektrofotometer. Pengukuran dilakukan di Laboratorium Faal Universitas Brawijaya. Didapatkan kadar hs-CRP terendah dan tertinggi adalah 0.017 dan 1.344 mg/dl dan nilai Mean $\pm$ SD dari hs-CRP adalah sebesar $0,484 \pm 0,32$ mg/L.

5.1.2 Identifikasi Kadar Circulating Endothelial Progenitor Cell

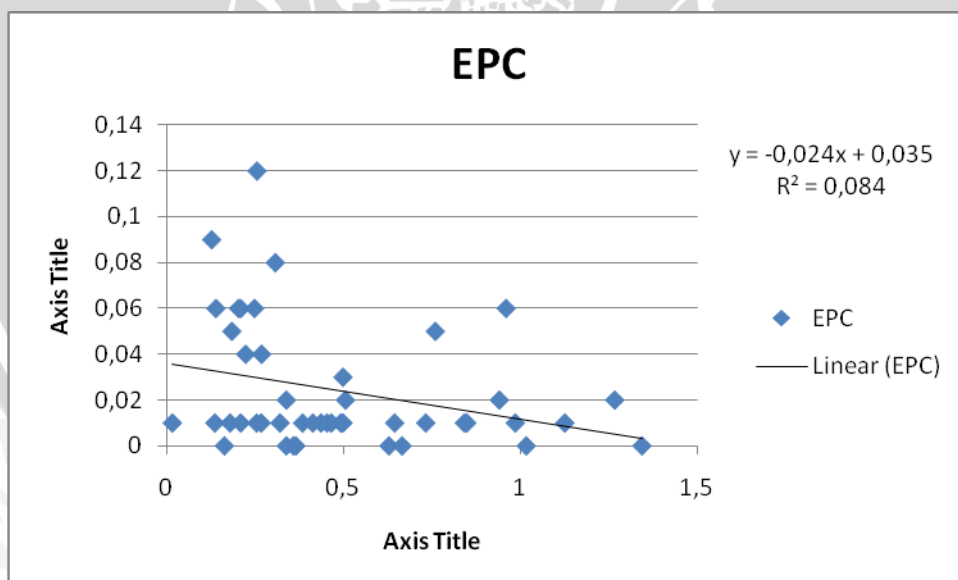
Endothelial Progenitor Cell (EPC) merupakan bagian dari sel berinti tunggal *mononuclear cell* (MNC) yang memiliki molekul penanda berupa sel hematopoetik dan sel endotelial. Untuk mendeteksi EPC, pada penelitian ini dilakukan metode isolasi sel dengan metode sentrifugasi menggunakan reagen Ficoll. Setelah sel di isolasi, selanjutnya dilakukan pernghitungan kadar EPC berdasarkan fenotipnya yaitu antigen permukaan sel melalui *flowcytometry*. Antigen permukaan sel yang diidentifikasi adalah CD34 sebagai molekul penanda sel hematopoetik dan VEGFR2 sebagai molekul penanda sel endotelial. Didapatkan kadar EPC terendah dan tertinggi 0 dan 0,12% dan nilai median dari EPC adalah sebesar 0,0385. Adapun hasil identifikasi EPC beserta hs-CRP responden tersaji dalam lampiran.

5.2 Analisa Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik *SPSS* (*Statistical Product and Service Solution*) *version 20.0 for Windows*. Data hasil penelitian berupa kadar hs-CRP dan kadar EPC merupakan jenis data rasio numerik, oleh karena itu dianalisis menggunakan uji parametrik. Data tersebut dianalisis menggunakan uji korelasi bivariat dan uji regresi linier. Uji korelasi bivariat berfungsi untuk menganalisis hubungan antara kedua variabel,

sedangkan uji regresi berfungsi untuk menganalisis pengaruh dari kedua variabel.

Syarat mutlak dari uji parametrik adalah sebaran atau distribusi data harus normal, oleh karena itu sebelum dilakukan uji korelasi dilakukan uji distribusi menggunakan *Saphiro-Wilk Test* terlebih dahulu. Jika data bersifat normal dimana *p value* masing-masing data sebesar $> 0,05$ maka akan dilakukan analisis korelasi menggunakan *Pearson's Test*. Tetapi jika *p value* masing-masing data $< 0,05$ maka untuk uji korelasinya digunakan uji alternatifnya yaitu *Spearman's – Rho Test*. Berdasarkan uji distribusi menggunakan *Saphiro-Wilk Test* yang dilakukan pada masing-masing variabel didapatkan hasil bahwa data memiliki distribusi yang tidak normal, karena salah satu data data memiliki *p-value* $< 0,05$ yaitu 0,227 dan 0,000. Dari hasil tersebut maka dilakukan uji *Spearman's – Rho Test* untuk menganalisis korelasi antara kadar hs-CRP dan EPC.



Gambar 5.1 Hubungan antara hs-CRP dengan EPC

Spearman's – Rho Test menunjukkan hasil koefisien korelasi (*r*) sebesar -0,298 dan nilai signifikan sebesar 0,026. Koefisien korelasi (*r*) sebesar -0,333

menunjukkan bahwa terdapat korelasi berbanding terbalik atau bersifat negatif antara variabel bebas dan variabel terikat, artinya, semakin meningkat kadar hs-CRP maka kadar EPC menurun. Selain itu, nilai koefisien korelasi tersebut juga menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau korelasi yang rendah/lemah. Sedangkan untuk nilai signifikan sebesar 0,026 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna atau signifikan karena nilainya lebih kecil dari 0,05. Pada uji regresi linier, didapatkan hasil koefisien regresi (R^2) sebesar 0,084. Koefisien regresi tersebut menyatakan kekuatan hubungan sebab akibat, jadi 8,4% yang menyebabkan penurunan kadar EPC adalah kondisi dimana terdapat peningkatan kadar hs-CRP.

BAB 6 PEMBAHASAN

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui korelasi antara *High Sensitive C-Reactive Protein* (hs-CRP) terhadap kadar *circulating Endothelial Progenitor Cells* (EPC). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah mengukur hs-CRP dan kadar EPC dari sampel darah responden, lalu hasilnya dianalisis sehingga dapat diketahui hubungan serta signifikansi pengaruh antara kedua variabel tersebut.

Sampel darah yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah dari pasien rawat jalan di Poli Endokrinologi-RSUD Dr. Saiful Anwar Malang yang memenuhi kriteria sindroma metabolik berdasarkan *International Diabetes Foundation* (IDF) yaitu obesitas sentral, dislipidemia meliputi trigliserida dan HDL, menderita Diabetes Mellitus Tipe 2 dan hipertensi (Alberti *et al*, 2009).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah responden. Bahan-bahan untuk identifikasi kadar EPC meliputi antibodi *Cluster of Differentiation 34* (CD34) sebagai penanda *hematopoietic stem cell* dan *Vascular Endothelial Growth Factor-2* (VEGFR2) sebagai penanda endotel. CD34 dipilih karena EPC yang masih merupakan sel pra-endotel dapat mengekspresikan CD34 dengan baik dan VEGFR2 dipilih karena merupakan mediator pertumbuhan dari endotel sehingga dapat digunakan sebagai penanda sel endotel (Frisca, 2008).

Penelitian ini dilakukan dalam 5 tahap, tahap yang pertama adalah penelusuran responden yang dilakukan dengan cara melihat rekam medis pasien di Poli Endokrinologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Apabila pasien tersebut memenuhi kategori responden berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi serta bersedia mengikuti penelitian, maka pasien tersebut menjadi responden penelitian ini. Tahap yang kedua adalah melakukan pemeriksaan fisik kepada responden meliputi tinggi badan, berat badan, lingkar pinggang dan tensi serta melakukan pengambilan darah responden yang nantinya akan digunakan sebagai bahan penelitian. Tahap yang ketiga adalah identifikasi kadar hs-CRP responden dengan mengirimkan sampel darah yang telah diserumkan ke Laboratorium Faal Universitas Brawijaya untuk selanjutnya diproses untuk mengetahui kadar hs-CRP responden. Tahap yang keempat adalah identifikasi kadar EPC responden dengan metode sentrifugasi lalu dihitung berdasarkan fenotipnya dengan metode *flowcytometry*. Tahap yang kelima adalah analisis data dari hasil identifikasi hs-CRP dan EPC.

Penelitian terdahulu yang serupa dengan penelitian ini yaitu penelitian dari Megumi Koshikawa dkk pada tahun 2010 tentang korelasi hs-CRP dengan jumlah EPC pada pasien diabetes. Penelitian ini menggunakan 190 responden

yang membandingkan kedua variabel terhadap pasien diabetes mellitus dan *non-diabetic*. Penelitian ini menggunakan metode yang hampir sama dengan *blood sampling* dan menganalisis jumlah EPC yang bersirkulasi dalam darah. Hasil dari penelitian ini adalah adanya korelasi yang signifikan antara hs-CRP dan kadar EPC pada penderita diabetes mellitus. Pada pasien diabetes mellitus dengan hs-CRP tinggi memiliki angka kadar EPC yang lebih rendah dibandingkan dengan pasien non-diabetic dengan kadar hs-CRP rendah.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa data dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi yang bermakna namun bersifat lemah antara kadar hs-CRP dan kadar EPC di dalam darah pada pasien sindroma metabolik.

Hasil korelasi yang lemah ini disebabkan karena ada banyaknya faktor-faktor lain yang dapat menyebabkan menurunnya EPC, antara lain usia, jenis kelamin, kadar HbA1C, profil lipid, tekanan darah, kadar gula darah puasa, serta riwayat penyakit dan riwayat pengobatan.

Menurut *American Heart Association*, aspirin dan obat statin merupakan obat yang sangat efektif mengurangi resiko serangan jantung dan stroke yang utama. Selain itu aspirin dan obat statin juga bekerja sebagai obat *anti-inflammatory* yang kerja utamanya menurunkan kolesterol LDL dan kadar hs-CRP pada pasien yang mengalami penyakit jantung dan diabetes. Salah satu penyebab penyakit jantung dan diabetes adalah akibat inflamasi, yang sebagian besar inflamasi tersebut merupakan hasil dari obesitas, khususnya obesitas sentral karena adiposit menghasilkan protein-protein yang meningkatkan produksi hs-CRP.

Obat-obatan statin dan puerarin (ekstrak tanaman tradisional dari Cina yang banyak digunakan untuk mengobati penyakit jantung koroner) diketahui dapat memobilisasi EPC dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah sehingga

meningkatkan jumlah EPC dalam peredaran darah. Dalam beberapa studi, ditunjukkan bahwa kedua senyawa di atas dapat meningkatkan jumlah, proliferasi, migrasi, dan pembentukan pembuluh darah baru secara *in vitro* yang diperantarai oleh EPC (Frisca, 2008).

Dalam penelitian ini peneliti kurang memperhatikan pemakaian obat dan riwayat penyakit pada pasien, sehingga nilai kadar hs-CRP yang rendah dapat disebabkan karena pasien mengonsumsi aspirin dan obat statin.

Tingkat EPC secara signifikan menurun pada pasien setelah stroke dan pada pasien aterosklerosis (termasuk tanpa stroke yang klinis) di antaranya pada pasien infark serebral. Dalam studi terakhir, jumlah EPC juga berkorelasi dengan aliran darah regional pada hipoperfusi otak kronis (Shantsila, 2012).

Penelitian lain mengenai pengaruh obesitas terhadap kadar EPC dibahas oleh Peter dkk tahun 2008. Penelitian ini menggunakan 19 responden laki-laki dengan BMI $30,2 \pm 2,5$ kg/m² dan *body fat* $31 \pm 3\%$. Hasil dari penelitian ini adalah adanya penurunan kadar EPC pada pasien sindrom metabolik dengan obesitas sentral.

Beberapa studi menyatakan bahwa terdapat korelasi antara usia dengan berkurangnya kadar EPC. Semakin usia bertambah maka kadar EPC semakin berkurang pada pasien diabetes mellitus (Shantsila, 2012).

Penelitian Brian dkk pada tahun 2008 membahas tentang hubungan jenis kelamin dengan kadar EPC pada *middle-age adult*. Penelitian ini menggunakan 58 sampel, 29 laki-laki (57 ± 1 tahun) dan 29 perempuan (58 ± 1 tahun). Hasil dari penelitian ini adalah tidak adanya hubungan antara jenis kelamin dengan kadar EPC pada *middle-age adult*.

Keadaan hiperglikemia dan hipertensi menyebabkan peningkatan stres oksidatif, yang diketahui sebagai mekanisme molekular untuk komplikasi

vascular pada pasien diabetes mellitus. Pada pasien hipertensi terbukti menjadi prediktor terkuat penurunan EPC. Aktivitas Angiotensin II berkurang pada pasien hipertensi sehingga terjadi telomerase pada EPC dan mempercepat terjadinya penuaan EPC melalui peningkatan stres oksidatif. Menurut Verma dkk, kadar hs-CRP menurunkan jumlah EPC dengan cara mempercepat apoptosis EPC. Hs-CRP merusak pertahanan antioksidan EPC sehingga mempercepat apoptosis sel. Pada beberapa studi lain dilaporkan bahwa kadar hs-CRP meningkat pada pasien diabetes mellitus, dan jumlah EPC rendah pada pasien dengan hs-CRP yang tinggi. Oleh sebab itu, hs-CRP, hiperglikemia, dan stres oksidatif menyebabkan penurunan jumlah EPC. (Koshikawa *et al*, 2010)

Bukti lebih lanjut dari dampak negatif dari hiperglikemia pada EPC diungkapkan oleh Kränkel *et al.* yang menunjukkan bahwa budidaya sel mononuklear darah perifer (MNCs) dari donor sehat dalam kondisi hiperglikemia dikaitkan dengan penurunan jumlah EPC yang signifikan, penghambatan produksi NO, dan aktivitas matriks metalloproteinase-9, serta penurunan kapasitas migrasional dan integratif dari sel-sel (Shantsila, 2012).

Pada sindroma metabolik, kadar profil lipid meningkat sehingga berpotensi merusak endotel pembuluh darah. Ketika terjadi kerusakan endotel pembuluh darah, seharusnya ada sel yang memperbaiki kerusakan tersebut, yaitu EPC. Apabila EPC dapat berfungsi secara maksimal, maka LDL tidak akan masuk ke tunika intima pembuluh darah sehingga aterosklerosis tidak terjadi. Namun EPC tidak berfungsi sebagaimana mestinya, sehingga kerusakan tetap ada dan LDL dapat masuk ke tunika intima dan teroksidasi yang membentuk LDL teroksidasi. LDL menjadi lebih berpotensi menimbulkan suatu abnormalitas apabila teroksidasi. Oksidasi dari LDL terjadi ketika LDL bereaksi dengan radikal bebas dan disebut oxidized LDL. Oxidized LDL menjadi lebih reaktif terhadap

jaringan di sekitar dan merusaknya. Oxidized LDL melepaskan stimulasi sinyal inflamasi sel endotel dengan cara melepaskan protein kemotaktik yang berperan dalam proses masuknya monosit menuju dinding pembuluh darah (Catapano *et al*, 2000).

Faktor resiko lain yang mempengaruhi adalah merokok merupakan prediktor yang signifikan dari berkurangnya sirkulasi dan jumlah EPC. Jumlah EPC yang beredar berkorelasi terbalik dengan jumlah rokok yang dikonsumsi. EPC dari perokok berat apoptosis sebelum waktunya selama fase awal. Selain itu, berhenti merokok juga dikaitkan dengan peningkatan angka EPC, jika pasien merokok kembali, jumlah EPC cepat turun ke tingkat sebelum berhenti merokok (Shantsila, 2012).`

Korelasi yang bermakna namun bersifat lemah ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut dengan limitasi dari diversitas responden dan intervensi yang lebih dalam. Beberapa hal seperti pengaruh jenis kelamin, pengaruh usia, dan riwayat pengobatan masih belum diketahui dan diintervensi sehingga penelitian yang menitikberatkan kepada jenis kelamin, usia, dan riwayat pengobatan diperlukan agar dapat diketahui faktor-faktor yang berperan sebagai sebab-akibat dari kadar hs-CRP terhadap menurunnya kadar EPC yang bersirkulasi di dalam darah.

BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapatnya hubungan yang bermakna antara kadar hs-CRP dan EPC namun korelasinya bersifat lemah. Pada uji regresi linier, didapatkan hasil koefisien regresi (R^2) sebesar 0,084, yang berarti besarnya persentase peningkatan kadar hs-CRP yang menyebabkan penurunan kadar EPC adalah 8,4%.

7.2 Saran

Adapun saran yang peneliti berikan sebagai bahan evaluasi dan penelitian selanjutnya adalah :

- Adanya penelitian lebih lanjut mengenai hubungan jenis kelamin dan usia dengan kadar EPC pada responden sehingga dapat diketahui pengaruh perbedaan jenis kelamin dan usia terhadap kadar EPC.
- Adanya penelitian lebih lanjut dengan menambah jumlah sampel sehingga dapat meningkatkan angka korelasi yang signifikan antara kadar hs-CRP terhadap jumlah EPC pada pasien sindroma metabolik.
- Adanya penelitian lebih lanjut yang mengintervensi pengaruh diet responden, riwayat penyakit, riwayat merokok yang lebih ketat sehingga hasil identifikasi variabel lebih valid.

DAFTAR PUSTAKA

Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart J-C, James WPT, Loria CM, Smith SC Jr. *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation.* 2009;120:1640 –1645.

Alberti KG, Zimmet PZ. *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications*, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998;15:539 –553.

Alberti KG, Zimmet P, Shaw J; IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome: a new worldwide definition. *Lancet.* 2005;366:1059 –1062.

Bethene, Ervin. *Prevalence of Metabolic Syndrome Among Adults 20 Years of Age and Over, by Sex, Age, Race and Ethnicity, and Body Mass Index: United States, 2003–2006.* 2009. Division of Health and Nutrition Examination Surveys.

Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. *The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations.* *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004;33:351-75.

Ciulla MM, *et all.* Endothelial Colony Forming Capacity is Related to C-Reactive Protein Levels in Healthy Subject. *Endothelial Function in Healthy Subject, Current Neurovascular Research.* 2006, Vol.3, No.2.

Dahlan, M. Sopiudin. 2010. *Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*, Edisi 3 Seri Evidence Based Medicine 2, Salemba Medika, Jakarta, hal. 29-32; 76.

De Boer HC, Verseyden C, Ulfman LH, Zwaginga JJ, Bot I, Biessen EA, *et al*; American Heart Association; Fibrin and Activated Platelets Cooperatively Guide Stem Cell to a Vascular Injury and Promote Differentiation Towards an Endothelial Cell Phenotype. *Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2006;26:1653-1659.

Fabiola MS Adam, Mario GB Nara, John MF Adam. 2006. Fasting Insulin, Adiponectin, hs-CRP levels, and The Components of Metabolic Syndrome. *Division of Endocrinology and Metabolism*, Departement of Internal Medicine, Hasanuddin University, Makassar.

Fadini GP, Sartore S, Agostini C, Avogaro A. Significance of Endothelial Progenitor Cells in Subjects With Diabetes. *Diabetes Care*, Volume 30, Number 5, May 2007.

Frisca, Sardjono CT, Sandra F. Ekspansi Endothelial Progenitor Cell. *Cermin Dunia Kedokteran* 161/vol.35 no.2 Mar-Apr 2008.

Frisca, dkk. 2008. Berbagai Paradigma Pendefinisian Endothelial Progenitor Cells. *Stem Cell and Cancer Institute*, Kalbe Pharmaceutical Company: Jakarta.

Fujii H, Li SH, Szmikto PE, Vedak PWM, Verma S; American Heart Association; C-Reactive Protein Alter Antioxidant Defenses and Promote Apoptosis in endothelial Progenitor Cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006;26:2476-2482.

Grundey SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. *Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement* [published corrections appear in *Circulation*. 2005; 112:e297 and *Circulation*. 2005;112:e298]. *Circulation*. 2005;112: 2735–2752.

Heiss C, Keymel S, Niesler U, et al. Impaired Progenitor Cell Activity in Age-Related Endothelial Dysfunction, *Journal of the American College of Cardiology*. Dusseldorf, Germany ; 2005 : Vol. 45, No. 9.

Hill J, Zalos G, Halcox JPJ, dkk. *Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk*. *N Engl J Med*. 2003;348:593-600

Hoetzer GL, MacEneaney OJ, Irmiger HM, et al. Gender Differences in Circulating Endothelial Progenitor Cell Colony-Forming Capacity and Migratory Activity in Middle-Aged Adults. *National Institutes of Health; American Heart Association*. Dallas, Texas ; 2007.

Hristov M, Erl W, Weber CP; American Heart Association; Endothelial Progenitor Cell: Mobilization, Differentiation, and Homing. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2003;23:1185-1189.

Jawaharlal W.B. Senaratne and Green FR. *Pathobiology of atherosclerosis in Oxford Textbook of Surgery*, 2nd edition editor by: Peter J. Morris, William C. Wood. Oxford press ,US ; 2000 : Vol. 3.

Jhon MF Adam. *Dislipidemia dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, edisi 4 editor oleh: Aru W.Sudoyo dkk. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, Jakarta ; 2006 : 1948- 54

Karundeng, Ronny. 2008. Histofisiologi Sel Endotel dan Sel Progenitor Endotel dalam Sirkulasi Darah. *Dalam Cermin Dunia Kedokteran* 161/Vol. 35 No.2.

Kirchner, H. Lester, et al. The Association Between Body Mass Index and High Sensitivity C-Reactive Protein by Gender. *14th Annual HMO Research Network Conference*. Minneapolis, 2008.

Koshikawa M, et al. Association between Circulating Endothelial Progenitor Cells and hs-CRP in Patient with Diabetes. *British Journal of Diabetes & Vascular Disease*. 2010;10:133

Libby P, Ridker PM. Inflammation and Atherosclerosis: role of C-Reactive Protein in Risk Assessment. *The American Journal Medicine*. 2004; 118 Suppl 6A:9S-16S

Mallos, Crina Frincu. *Endothelial Dysfunction in Metabolic Syndrome May Predict Cardiovascular Risk*. 2008. NJHS, Baltimore, Marylan.

Mughni, Abdul. 2007. *Pengaruh Puasa Ramadhan Terhadap Faktor-Faktor Risiko Atherosklerosis*. Semarang: Universitas Diponegoro. Tesis tidak diterbitkan.

Nababan, dkk. 2007. Peranan Endothelial Progenitor Cell dalam Neovaskularisasi. Dalam Jurnal Cermin Dunia Kedokteran Vol. 34 No.5/158. *Stem Cell and Cancer Institute*, Kalbe Pharmaceutical Company: Jakarta.

Nababan S dan Okki. 2010. *Peranan Endothelial Progenitor Cell (EPC) pada Neovaskularisasi*. www.selpunca.org.

Reeves, G., 2007. Abnormal Laboratory Result: C Reactive Protein. *Hunter Area Pathology Service Immunology*, New South Wales.

Ridker PM. C-Reactive Protein : A Simple Test to Help Predict Risk of Heart Attack and Stroke. *Circulation*. 2003;108:e81-8e85.

Ridker PM, Wilson PWF, Grundy SM. Should C-Reactive Protein Be added to Metabolic Syndrome and to Assessment of Global Cardiovascular Risk? *Circulation*. 2004;109:2818-2825.

Rifai, N., Tracy, R.P., Ridker, P.M. Clinical Efficacy of an Automated High-Sensitivity C-Reactive Protein Assay. *Clinical Chemistry Vol.45 no.12*, 1999;2136-2141

Rifai, N., Ridker, P. M., 2001. High-Sensitivity C-Reactive Protein: a Novel and Promising Marker of Coronary Heart Disease. *Clinical Chemistry*. USA.

Stauffer BL, MacEneaney OJ, Kushner EJ, et all. Gender and Endothelial Progenitor Cell Number in Middle-Aged Adult. *National Institute of Health*. 2008 ; 2(4) : 156-160.

Sugondo, Sidartawan. *Sindrom Metabolik dalam Buku Ajar Penyakit Dalam*. 2006: pg 1871-1872.

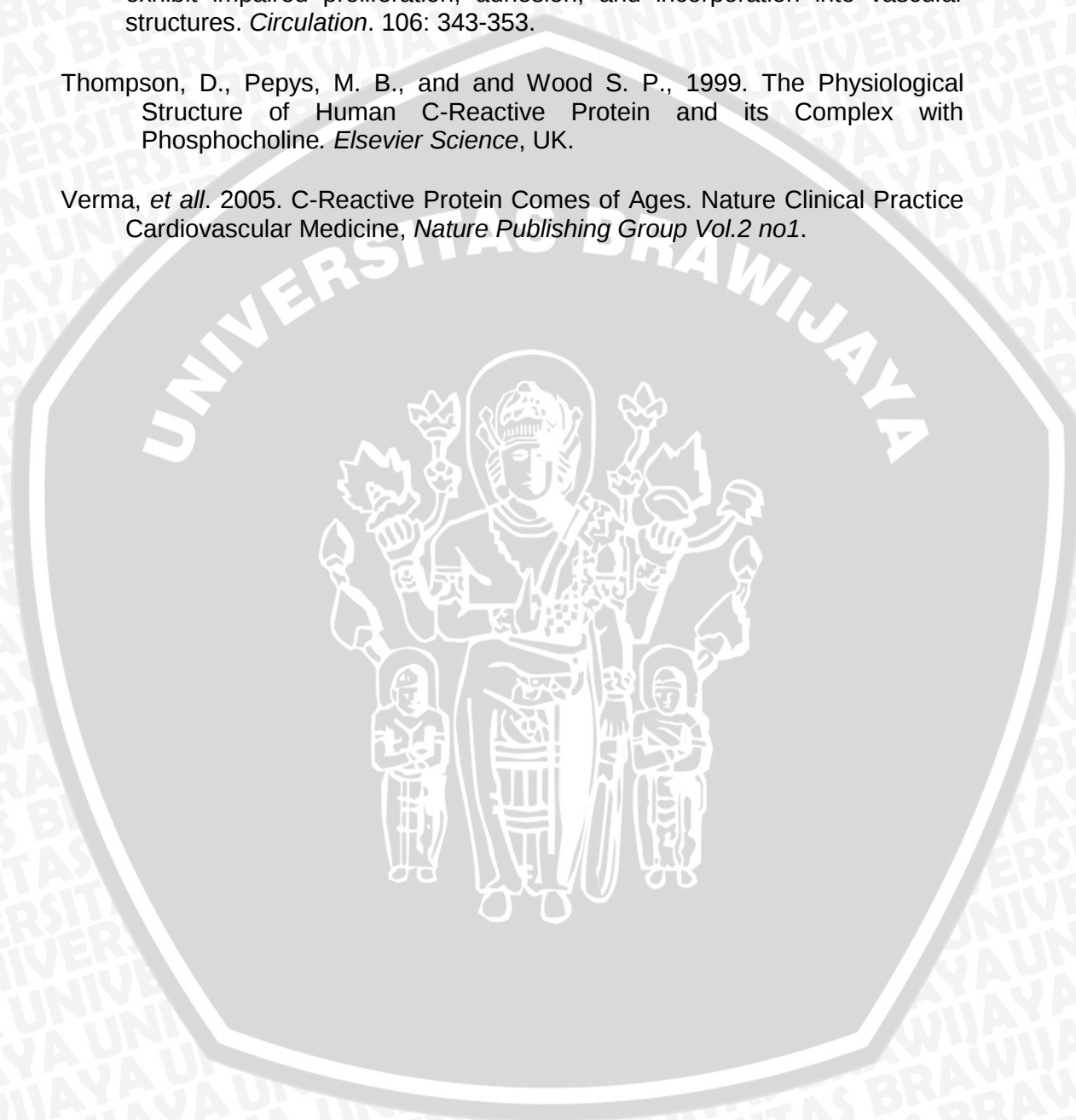
Swartz MH. *Buku Ajar Diagnostik Fisik*. Alih Bahasa : Lukmanto P, Maulany R.F, Tambajong J. Jakarta : EGC, 1995.

Tanuwijaya S. 2003. Recent Development in Pathogenesis of atherosclerosis, in Atherosclerosis from theory to clinical practice, *Semarang Cardiology-Update (Mini Cardiology – Update III)*, BP Universitas Diponegoro, Semarang.

Tepper OM, et al. 2002. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*. 106: 343-353.

Thompson, D., Pepys, M. B., and Wood S. P., 1999. The Physiological Structure of Human C-Reactive Protein and its Complex with Phosphocholine. *Elsevier Science*, UK.

Verma, et al. 2005. C-Reactive Protein Comes of Ages. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, *Nature Publishing Group Vol.2 no1*.



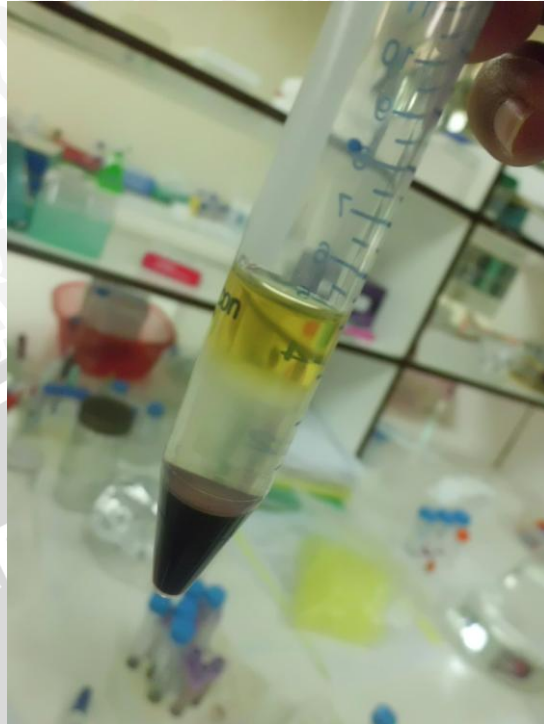
Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian



Gambar 1 Sampel darah yang telah dipindah ke Falcon 15 ml



Gambar 2 Proses Sentrifugasi



Gambar 3 Hasil sentrifugasi



Gambar 4 Pengambilan cincin Buffy Coat



Gambar 5 Antibodi CD34



Gambar 6 Flowcytometry FACSCalibur

Lampiran 3 Contoh Lembar *Informed Consent*

LEMBAR INFORMASI

Judul Penelitian : Korelasi antara *Circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC)* dengan Kadar *High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP)* Pada Pasien Rawat Jalan Sindroma Metabolik di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang

Peneliti : Martha Tiara Dugikawa
Mahasiswa Jurusan Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
(Nomor telepon yang dapat dihubungi bila ada pertanyaan: 081216264391)

Pembimbing : I. dr. Laksmi, SpPD
II. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK

1. Saya sebagai peneliti, dengan ini meminta Saudara/i untuk berpartisipasi dengan suka rela dalam penelitian yang berjudul "Korelasi antara *Circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC)* dengan Kadar *High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP)* Pada Pasien Rawat Jalan Sindroma Metabolik di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang".
2. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara *High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP)* dengan kadar *circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC)* pada pasien sindrom metabolik.
3. Manfaat yang akan Saudara dapatkan jika berpartisipasi dalam penelitian ini adalah bertambahnya pengetahuan tentang hs-CRP dan EPC yang berkaitan dengan komplikasi kardiovaskuler pada pasien sindrom metabolik, sehingga pasien bisa melakukan pencegahan dini, baik medikamentosa maupun perubahan gaya hidup.
4. Penelitian ini akan diikuti oleh 49 responden yang akan berlangsung selama $\pm$ 15 menit untuk masing-masing responden. Penelitian ini meliputi pemeriksaan fisik (tekanan darah, berat badan, tinggi badan, lingkar pinggang) dan pengambilan sampel darah sebanyak 3 cc. Tempat penelitian di Poli Penyakit Dalam RS dr.Saiful Anwar Malang. Waktu penelitian sesuai kesepakatan antara Saudara/i dengan peneliti. Saudara/i diminta puasa 8-10 jam sebelum penelitian.
5. Penelitian ini tidak membahayakan bagi keselamatan dan kesehatan saudara.
6. Saudara/i berhak menentukan pilihan bersedia atau tidak bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian ini tanpa ada paksaan dari siapapun.
7. Apabila telah bersedia, selama proses penelitian Saudara/i juga berhak untuk mengundurkan tanpa dikenakan sanksi apapun.
8. Identitas Saudara/i akan tetap dirahasiakan oleh peneliti.

Peneliti,

Martha Tiara Dugikawa

NIM 091071400

Lampiran 4 Hasil Analisis Statistik

Hasil Uji Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hsCRP	EPC
N		45	45
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	461,7837	2,4000
	Std. Deviation	315,45428	2,76668
	Absolute	,155	,316
Most Extreme Differences	Positive	,155	,316
	Negative	-,101	-,193
Kolmogorov-Smirnov Z		1,042	2,118
Asymp. Sig. (2-tailed)		,227	,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil Uji Korelasi Pearson's Hs-CRP dengan EPC

Correlations

		hsCRP	EPC
hsCRP	Correlation Coefficient	1,000	-,333*
	Sig. (2-tailed)	.	,026
	N	45	45
Spearman's rho	Correlation Coefficient	-,333*	1,000
	Sig. (2-tailed)	,026	.
	N	45	45

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Hasil Uji Regresi Linier Hs-CRP dengan EPC

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				
					R Square Change	F Change	f1	df2	Sig. F Change
1	.290 ^a	.084	.063	2,67874	.084	3,936	1	43	,054

a. Predictors: (Constant), hsCRP

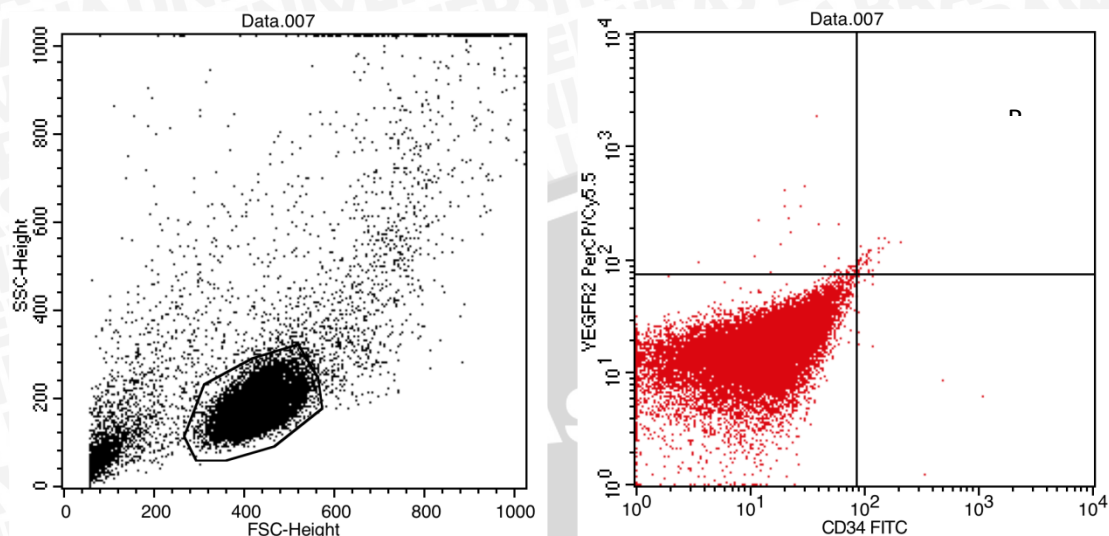
Lampiran 5 Tabel Hasil Penelitian

NO	Responden	HsCRP	EPC	Tekanan darah	GDP	TG	HDL	Lingkar pinggang
1	R1	0.224	0.04	140/90	142	262	17,1	103
2	R2	0.366	0.00	136/63	236	329	20	84,5
3	R3	0.493	0.01	130/78	190	150	52,4	87
4	R4	0.506	0.02	130/90	256	228	21,6	77,5
5	R5	0.185	0.05	130/88	189	141	35,3	107
6	R6	0.359	0.00	111/71	102	154	32,7	112,5
7	R7	0.986	0.01	140/80	209	125	32,7	107
8	R8	0.454	0.01	142/100	514	140	58,9	88
9	R9	1,267	0.02	127/81	227	120	74,2	91,5
10	R10	0.941	0.02	121/72	326	211	20,9	97
11	R11	0.339	0.00	171/96	403	144	44,6	77
12	R12	0.255	0.01	130/80	98	225	40,2	103
13	R13	0.137	0.01	130/84	106	224	40,7	84,5
14	R14	0.385	0.01	125/64	206	167	34,6	88
15	R15	1.126	0.01	143/85	176	262	17,1	98
16	R16	0.256	0.12	119/85	157	125	24,1	82
17	R17	0.269	0.04	145/100	155	190	31,4	93
18	R18	0.466	0.01	112/70	167	221	27,2	89
19	R19	0.849	0.01	120/80	204	153	45,3	113
20	R20	0.629	0.00	130/80	87	323	26,2	89
21	R21	0.733	0.01	115/70	126	309	26,4	90
22	R22	0.321	0.01	120/80	229	171	27,9	74,5
23	R23	0.437	0.01	130/90	149	153	27,8	97
24	R24	1.344	0.00	132/72	236	219	46,1	97,5
25	R25	0.308	0.08	132/88	78	92	88	100
26	R26	0.666	0.00	145/95	243	456	31,9	80
27	R27	0.645	0.01	120/73	132	152	39,7	80
28	R28	0.164	0.00	151/91	96	211	27,9	98,5
29	R29	0.204	0.06	145/91	205	322	48,1	95
30	R30	0.760	0.05	131/71	141	183	24,2	112
31	R31	0.268	0.01	137/85	169	179	33,8	114
32	R32	0.499	0.01	132/71	330	245	40,5	96
33	R33	1.017	0.00	159/99	88	92	33,1	106
34	R34	0.414	0.01	140/90	158	172	53,8	101
35	R35	0.210	0.06	129/81	149	160	18,2	102
36	R36	0.842	0.01	100/75	93	66	33,4	93
37	R37	0.128	0.09	120/80	184	179	41,5	98
38	R38	0.140	0.06	131/82	78	141	35,3	97
39	R39	0.960	0.06	136/82	114	155	60	97,5
40	R40	0.180	0.01	134/82	78	114	63	94,5
41	R41	0.339	0.02	163/101	93	261	56	98
42	R42	0.499	0.03	110/73	70	324	39	80
43	R43	0.017	0.01	130/90	70	98	49	72,5
44	R44	0.210	0.01	120/85	74	322	42	89
45	R45	0.249	0.06	138/85	123	203	39	106

Lampiran 6 Tabel Kriteria Sindroma Metabolik

NO	Responden	Jenis Kelamin	Tekanan darah	GDP	TG	HDL	Obesitas
1	R1	L	+	+	+	+	+
2	R2	P	+	+	+	+	+
3	R3	P	+	+	+	-	+
4	R4	L	+	+	+	+	-
5	R5	L	+	+	-	+	+
6	R6	P	-	+	+	+	+
7	R7	P	+	+	-	+	+
8	R8	P	+	+	-	-	+
9	R9	P	-	+	-	-	+
10	R10	P	-	+	+	+	+
11	R11	P	+	+	-	+	-
12	R12	L	+	+	+	+	+
13	R13	L	+	+	+	+	-
14	R14	P	-	+	+	+	+
15	R15	L	+	+	+	+	+
16	R16	L	+	+	-	+	-
17	R17	L	+	+	-	+	+
18	R18	P	-	+	+	+	-
19	R19	P	-	+	+	+	+
20	R20	P	+	-	+	+	-
21	R21	P	-	+	+	+	+
22	R22	P	-	+	+	+	-
23	R23	P	+	+	+	+	+
24	R24	P	+	+	+	+	+
25	R25	L	+	-	+	-	+
26	R26	P	+	+	+	+	+
27	R27	P	+	+	+	+	+
28	R28	L	+	-	+	+	+
29	R29	L	+	+	+	-	+
30	R30	P	+	+	+	+	+
31	R31	L	+	+	+	+	+
32	R32	P	+	+	+	+	+
33	R33	L	+	-	-	+	+
34	R34	L	+	+	+	-	+
35	R35	L	+	+	+	+	+
36	R36	P	-	+	-	+	+
37	R37	L	+	+	+	-	+
38	R38	L	+	+	-	+	+
39	R39	L	+	+	+	-	+
40	R40	L	+	+	-	-	+
41	R41	L	+	+	+	-	+
42	R42	L	-	+	+	+	-
43	R43	P	+	-	-	+	-
44	R44	L	+	-	+	-	-
45	R45	L	+	+	+	+	+
Persentase (%)			75%	86%	71%	75%	77%

Lampiran 7 Hasil pemeriksaan EPC pada responden



Quadrant Statistics

Acquisition Date: 08-Jan-13

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	42	0.17	0.13
UR	38	0.15	0.12
LL	24992	99.62	76.79
LR	15	0.06	0.05

Keterangan:

LL : *Lower Left Quadrant*

CD34 (-), VEGFR2 (-)

Tidak mengekspresikan CD34 maupun VEGFR2

LR : *Lower Right Quadrant*

CD34 (+), VEGFR2 (-)

Hanya mengekspresikan CD34 saja, tidak menandakan VEGFR2

UL : *Upper Left Quadrant*

CD34 (-), VEGFR2 (+)

Hanya mengekspresikan VEGFR2 saja, tidak menandakan CD34

UR : *Upper Right Quadrant*

CD34 (+), VEGFR2 (+)

Mengekspresikan CD34 dan VEGFR.

PENYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Martha Tiara Dugikawa

NIM : 0910714040

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter (PSPD)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,Maret 2013

Martha Tiara Dugikawa

NIM. 0910714040