

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Untuk memahami mengenai aterosklerosis diperlukan pengetahuan yang mendalam mengenai etiologi, patofisiologi, faktor resiko, manifestasi klinis, terapi dan prognosisnya. Selain itu pula diperlukan pemahaman mengenai Diabetes Mellitus dan juga peran Ox-LDL dalam kaitannya dengan progresivitas aterosklerosis. Berikut adalah tinjauan pustaka terkait Aterosklerosis, Diabetes Mellitus, dan juga Ox-LDL.

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi dan Epidemiologi aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri. Adanya plak aterosklerosis pada intima arteri ini akan menyebabkan dinding arteri menjadi kaku dan mengeras (Hansson, 2005). Lesi aterosklerotik, terutama terjadi pada arteri elastis berukuran sedang dan besar serta arteri muskularis, dapat menimbulkan iskemi jantung, otak atau ekstremitas yang menyebabkan terjadinya infark (Prasetyo, 2006).

Frekuensi asli aterosklerosis sulit ditentukan secara akurat, karena aterosklerosis adalah bersifat yang asimtomatik. Proses aterosklerosis dimulai pada masa kanak-kanak dengan perkembangan coretan lemak. Lesi ini dapat ditemukan dalam aorta segera setelah lahir dan muncul dalam jumlah yang meningkat pada usia 8-18 tahun. Lesi yang lebih parah mulai berkembang ketika individu berusia sekitar 25 tahun. Selanjutnya, peningkatan prevalensi lesi aterosklerosis lanjut dan manifestasi klinis organ-spesifik dari penyakit mulai muncul pada usia dekade kelima dan keenam dari kehidupan (Boudi, 2014).

Penyakit ini terkait erat dengan timbulnya berbagai masalah kesehatan seperti stroke, penyakit jantung koroner, atau penyakit pembuluh darah perifer (Boudi, 2014). Menurut survey WHO tahun 2004, penyakit kardiovaskuler, terutama penyakit jantung koroner, menempati peringkat pertama penyebab kematian di dunia dengan angka kematian sebesar 29,34% dari seluruh penyebab kematian (*American Heart Association*, 2010). Pada tahun 2004, tercatat sekitar 400 ribu penduduk Indonesia mengalami penyakit aterosklerosis yang menempatkan Indonesia menjadi salah satu negara dengan jumlah penderita aterosklerosis tertinggi di dunia (*US Census Bureau*, 2010).

Negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah terpengaruh secara tidak proporsional. Lebih dari 80 % kematian CVD terjadi di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah dan terjadi hampir sama pada pria dan wanita. Jumlah orang yang meninggal karena CVD, terutama dari penyakit jantung dan stroke, akan meningkat mencapai 23,3 . juta pada 2030. WHO (2013) memproyeksikan bahwa CVD akan tetap menjadi penyebab utama kematian tunggal (WHO, 2014). 9,4 juta kematian setiap tahun, atau 16,5 % dari semua kematian dapat dikaitkan dengan tekanan darah tinggi. Data tersebut termasuk 51 % dari kematian akibat stroke dan 45 % kematian akibat penyakit jantung koroner (WHO, 2013).

2.1.2 Etiologi aterosklerosis

Ada beberapa teori yang diajukan terkait mekanisme terjadinya aterosklerosis. Banyak ilmuwan berpikir aterosklerosis dimulai karena kerusakan lapisan endotelium pada arteri. Tiga penyebab kerusakan dinding arteri diantaranya adalah meningkatnya kadar trigliserida dan kolesterol dalam darah, tekanan darah tinggi dan adanya kebiasaan merokok (*American Heart*

Association, 2013). Beberapa proses biologis yang saling terkait berkontribusi terhadap terjadinya aterosklerosis dan manifestasi klinisnya seperti fungsi vasomotor, Trombogenesis dinding pembuluh darah, aktivasi kaskade koagulasi, sistem fibrinolitik, migrasi dan proliferasi sel otot polos dan inflamasi selular (Boudi, 2014). Karena kerusakan yang terus menerus menyebabkan lemak, kolesterol, trombosit, puing-puing selular dan kalsium terdeposit di dinding arteri. Zat-zat ini dapat merangsang sel-sel dinding arteri untuk menghasilkan zat lainnya. Hal ini menyebabkan lebih banyak sel terakumulasi di lapisan endotel arteri di mana lesi aterosklerotik terbentuk. Sel-sel ini menumpuk, dan banyak dari mereka membelah diri. Pada saat yang sama, lemak menumpuk di dalam dan di sekitar sel-sel ini selain itu juga terbentuk jaringan ikat (*American Heart Association*, 2013).

Aterosklerosis diawali dengan rusaknya lapisan endotel arteri. Kerusakan ini menyebabkan endotel lebih rentan terhadap akumulasi lemak dan trombus. Kerusakan endotel menyebabkan beberapa perubahan diantaranya meningkatnya permeabilitas terhadap lipoprotein, menurunnya produksi nitrat oksida, meningkatnya adhesi dan migrasi leukosit, dominansi protrombotik, stimulasi pertumbuhan vaskular dan melepasnya zat-zat vaskular. Tipe lemak yang atherogenik adalah LDL (*low density lipoprotein*). Oksidasi LDL disebabkan oleh rusaknya endotel yang kemudian menyebabkan terstimulasinya sitokin untuk merekrut banyak monosit. Akumulasi kolesterol dalam makrofag dipromosikan oleh ox-LDL, makrofag ini kemudian menjadi sel foam . Selain itu, ox-LDL meningkatkan produksi molekul adhesi leukosit. Ox-LDL menghambat aktivitas nitrat oksida sintase dan meningkatkan generasi ROS (*Reactive Oxygen Specific*), sehingga mengurangi vasodilatasi endotelium dependen. Bukti substansial menunjukkan bahwa ox-LDL merupakan komponen menonjol dari ateroma.

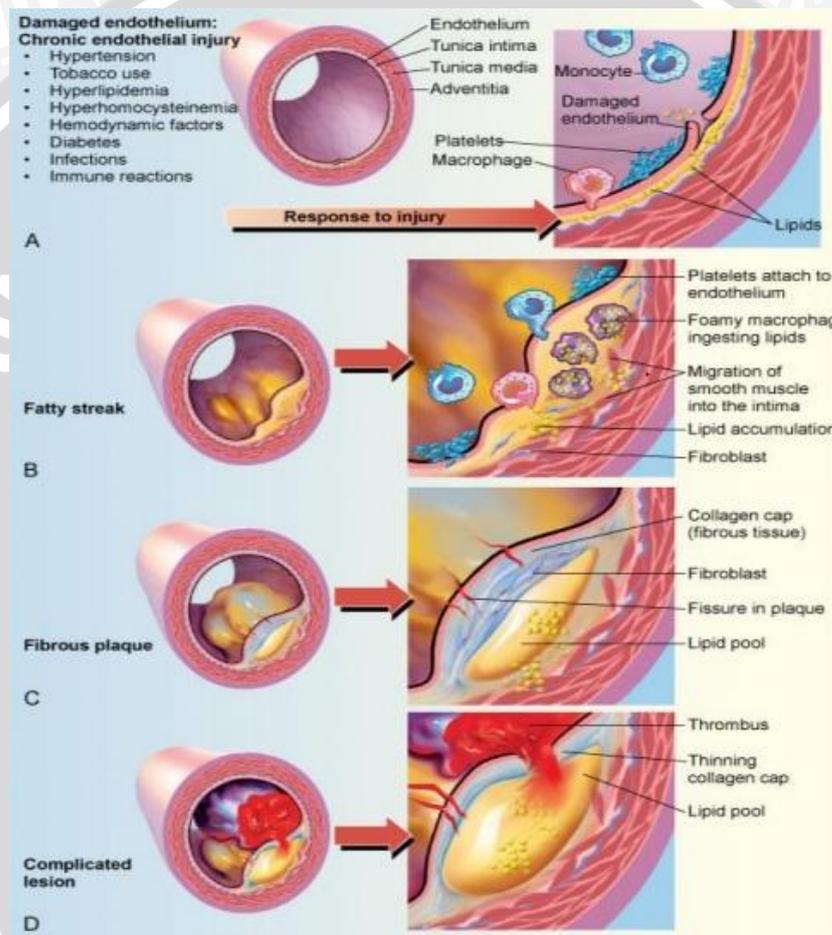
Antibodi terhadap ox-LDL bereaksi dengan plak aterosklerotik, dan kadar plasma immunoreactive yang diubah LDL lebih besar. Stres oksidatif diakui sebagai penyumbang paling signifikan terhadap terjadinya aterosklerosis dengan menyebabkan oksidasi LDL dan meningkatkan *breakdown* nitrat oksida (Boudi, 2014).

Proses pembentukan plak aterosklerosis mulai terjadi pada masa awal kehidupan. Berawal dari terbentuknya lesi berupa bintik lemak yang terlihat secara mikroskopis atau lesi tipe I, lesi ini sering ditemukan pada bayi dan anak-anak usia < 3 tahun dan juga diidentifikasi pada orang dewasa yang tidak memiliki faktor resiko aterosklerosis. Berkembang menjadi garis lemak berwarna kuning yang disebut juga *fatty streak* atau lesi tipe II. Pada anak usia 5 sampai 15 tahun hampir 99% ditemukan lesi tipe II ini. Meskipun terus berkembang, lesi ini tidak selalu menjadi aterosklerosis, ada kalanya tidak menimbulkan gejala apapun hingga akhir hayat. Lesi tipe III terdiri dari kolesterol, makrofag, dan sel foam yang membentuk inti lipid atau *lipid core*, yang dilapisi oleh sel-sel otot polos, matriks ekstraselular yang menebal, disebut *fibrous cap*. Lesi ini mulai terjadi kira-kira umur 23-29 tahun. Selanjutnya plak berkembang menjadi semakin progresif menjadi ateroma atau lesi tipe IV yang dapat menyebabkan komplikasi berupa penyumbatan pembuluh darah dan menyebabkan infark jaringan. Manifestasi klinis muncul dalam bentuk penyakit seperti jantung iskemik, jantung koroner, infark miokardium dan penyakit arteri perifer lainnya (McGill *et al.*, 2000).

2.1.3 Patogenesis Aterosklerosis

Pembentukan plak aterosklerosis melingkupi sel otot polos, leukosit, and berbagai jenis mediator inflamasi dan imunitas termasuk komponen sitokin dan komplemen (Hartree, 2013). Plak ini membutuhkan

waktu 10 – 15 tahun untuk berkembang secara penuh, yang secara karakteristik terjadi di daerah percabangan dan ditandai pada kelengkungan sehingga darah mengalami perubahan mendadak dalam kecepatan dan arah aliran. Penurunan tegangan dan adanya turbulensi dapat mempercepat terjadinya aterosklerosis pada daerah-daerah penting seperti arteri koroner, cabang utama aorta dada dan perut dan lainnya (Boudi, 2014).



Gambar 2.1 : Patogenesis Aterosklerosis.

A. Perusakan Endotelium. B. Pembentukan tumpukan lemak dan inti lipid. C. Plak Fibrosa : Meningkatnya plak terlihat. D. Lesi komplikasi. Merah = trombus, Biru = Kolagen. Plak semakin parah karena deposisi trombus merah (Nobeyba, 2012)

Lesi patologis awal aterosklerosis adalah lemak, yang diamati pada aorta dan arteri koroner pada sebagian besar individu dengan usia 20 tahun. Lemak yang menumpuk ini adalah hasil akumulasi fokal dari serum lipoprotein di dalam intima dinding pembuluh darah. Gambaran secara mikroskopis

menunjukkan makrofag, limfosit T dan sel otot polos yang memuat lipid dengan proporsi yang berbeda-beda. Lemak yang menumpuk dapat berkembang membentuk plak fibrosa sebagai hasil akumulasi lipid progresif serta migrasi dan proliferasi sel-sel otot polos (Boudi, 2014).

Sel-sel otot polos berpengaruh terhadap deposisi jaringan ikat matriks ekstraselular dan membentuk *fibrous cap* yang melapisi sel foam dengan lipid, lipid ekstraselular dan debris selular nekrotik. Pertumbuhan plak menyebabkan *remodeling* vaskular, penyempitan lumen yang progresif, abnormalitas aliran darah dan berkurangnya suplai oksigen ke organ target (Guyton, 2003). Arteri koroner manusia membesar sebagai respon terhadap pembentukan plak dan luminal stenosis dapat terjadi ketika plak menempati lebih dari 40 % dari daerah yang dibatasi oleh lamina elastis internal. Plak aterosklerotik yang berkembang memiliki jaringan mikrovaskuler, *vasorum vasa* yang rentan terhadap perdarahan dan berkontribusi untuk perkembangan aterosklerosis (Boudi, 2014).

Beberapa lesi menunjukkan hampir tidak ada kompensasi pelebaran pembuluh darah dan ateroma yang terus tumbuh ke dalam, menyebabkan penyempitan lumen secara bertahap. Banyak dari plak dengan positif remodeling awal akhirnya menjadi ke tahap negatif remodeling sehingga menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah. Plak tersebut biasanya mengarah pada terjadinya angina yang stabil. Mereka juga rentan terhadap ruptur plak dan trombosis (Guyton, 2003).

Pecahnya pelindung *fibrous cap* dapat menyebabkan pemaparan plak trombogenik ke sirkulasi darah. Pecahnya plak terjadi karena melemahnya *fibrous cap*. Sel-sel inflamasi melokalisasi ke daerah plak yang mudah diserang. Limfosit T menstimulasi IFN- γ yang berperan megacaukan proliferasi pembuluh darah sel otot polos dan sintesis kolagen. Selain itu,

makrofag yang teraktivasi menghasilkan *matrix metalloproteinases* (MMPs) yang mendegradasi kolagen (Boudi, 2014).

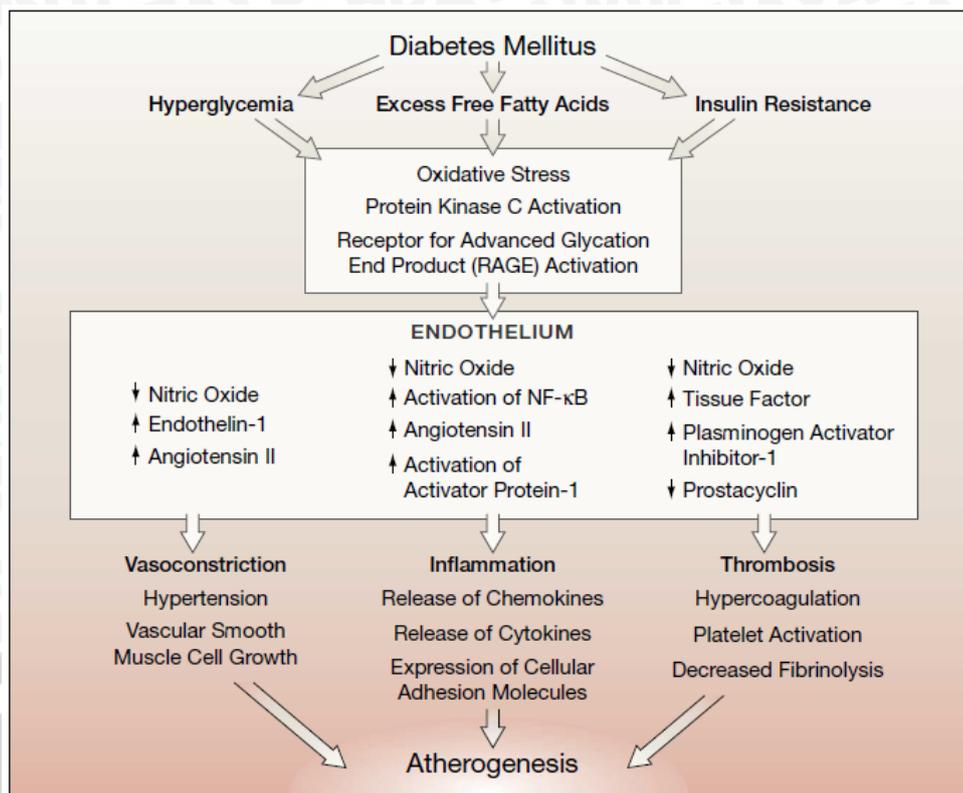
Pecahnya plak dapat mengakibatkan pembentukan trombus, oklusi sebagian atau lengkap dari pembuluh darah dan terjadinya lesi aterosklerotik karena organisasi trombus dan penggabungan plak (Nobeyba, 2012). Kebanyakan plak yang pecah terjadi karena terganggunya *fibrosa cap*, yang memungkinkan kontak antara inti lipid yang sangat thrombogenik dan darah. Jumlah kolagen di *fibrosa cap* tergantung pada keseimbangan antara sintesis dan penghancuran matriks interseluler dan aktivasi sel inflamasi. Sel T yang menumpuk di lokasi pecahnya plak dan trombosis menghasilkan sitokin IFN- γ , yang menghambat sintesis kolagen. Kolagen yang sudah terbentuk terdegradasi oleh makrofag yang menghasilkan enzim proteolitik dan oleh MMPs, khususnya MMP-1, MMP-13, MMP-3 dan MMP-9. MMPs diinduksi oleh makrofag dan sel otot polos yang diturunkan dari sitokin seperti IL-1, *tumor necrosis factor* (TNF) dan CD154 atau TNF-alpha (Boudi, 2014).

Respon imun terhadap aterosklerosis berawal dari disfungsi endotel akibat produk lipid, sitokin inflamasi, stres hemodinamik, dan injuri lainnya. Disfungsi endotel akan meningkatkan ekspresi *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1), *Interleukin-8* (IL-8) pada permukaan endotel pembuluh darah. Kemokin ini akan menstimulasi migrasi sel-sel monosit dan leukosit ke intima. Monosit kemudian berdiferensiasi menjadi makrofag dan berkembang menjadi sel busa. Sedangkan peran limfosit T dalam aterogenesis adalah mengenali protein antigen yang dipresentasikan sebagai fragmen yang terikat pada molekul *Major Histocompatibility Complex class II* (MHC kelas II) oleh makrofag. Sel T CD4+ reaktif terhadap antigen bakteri patogen, OxLDL, dan sel terapoptosis

(Ludewig *et al.*, 2004). Sel limfosit B merupakan inhibitor yang efektif dalam proses pembentukan plak aterosklerosis. Peran dari natural antibody yang dihasilkan oleh sel B antara lain, pertama, mengikat fosfolipid yang teroksidasi pada OxLDL atau sel apoptosis dan menetralkan *proinflammatory properties*. Kedua, natural antibody menghambat uptake OxLDL oleh makrofag sehingga menghambat pembentukan sel foam. Ketiga, pembentukan imun kompleks, yang nantinya mengalami eliminasi melalui FcR atau aktivasi komplemen. Komplemen berfungsi mengeliminasi OxLDL, opsonisasi OxLDL dan juga berfungsi membentuk *membrane attack complex* (MAC) yang dapat melisiskan OxLDL (Ludewig *et al.*, 2004 Oskjoki, 2006; Bhatia *et al.*, 2007).

2.1.4 Faktor Resiko

Faktor resiko yang menyebabkan aterosklerosis diantaranya adalah hipertensi, dislipidemia, diabetes mellitus, obesitas, kebiasaan merokok dan riwayat penyakit keluarga. Faktor risiko yang tinggi juga pada wanita termasuk faktor-faktor psikososial seperti depresi dan penyakit autoimun seperti lupus eritematosus sistemik dan rheumatoid arthritis (Kannel, 2009).



Gambar 2.2 : Patogenesis Aterosklerosis dengan Faktor Resiko Diabetes Mellitus (Beckman, 2002)

2.2 Diabetes Mellitus

2.2.1 Definisi dan Epidemiologi Diabetes Mellitus

Diabetes adalah penyakit kronis yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan (WHO, 2014). Terdapat tiga tipe utama dari Diabetes Mellitus. Yaitu Diabetes Mellitus type 1, Diabetes Mellitus type 2, dan Gestasional diabetes. Gestasional diabetes adalah diabetes yang terjadi pada ibu yang sedang hamil, biasanya terjadi pada usia kehamilan 24 minggu. Diabetes Mellitus tipe 1 (juga disebut sebagai *juvenile-onset diabetes mellitus* dan *Insulin-dependent Diabetes Mellitus*) disebabkan oleh defisiensi insulin absolut, yaitu hilangnya kemampuan untuk menghasilkan insulin dari sel beta pankreas. Diabetes Mellitus tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin. Dengan demikian, diabetes mellitus selalu disebabkan oleh defisiensi insulin:

pada diabetes mellitus tipe 1, defisiensinya bersifat mutlak; pada diabetes mellitus tipe 2, defisiensinya bersifat relative (Cooke, 2008).

Pada tahun 2013, *International Diabetes Federation* mengeluarkan data terbaru terkait epidemiology dari Diabetes Mellitus. Laporan tersebut menyatakan bahwa 381 juta orang di dunia mengidap Diabetes Mellitus. Di mana 90% dari kasus tersebut adalah Diabetes Mellitus type 2. Peningkatan jumlah penderita Diabetes Mellitus type 2 per tahun paling banyak terjadi di benua Asia dan Afrika, terutama di negara-negara berkembang. Di Asia Tenggara sendiri, 8,6% populasi atau sekitar 138,2 juta orang menderita Diabetes Mellitus type 2. Jumlah Kematian yang terjadi adalah 1,2 juta kematian per tahun. 55% dari angka kematian ini terjadi pada penduduk berusia dibawah 60 tahun. Untuk Indonesia sendiri menyumbang 6% angka penderita diabetes dari populasi penduduk Asia Tenggara atau sekitar 8,3 juta penduduk Indonesia.

2.2.2 Etiologi Diabetes Mellitus type 2

Etiologi dari Diabetes Mellitus type 2 melibatkan interaksi kompleks antara faktor lingkungan dan genetik. Namun dalam sebagian besar kasus yang terjadi hal ini muncul akibat pola hidup yang tidak ideal atau dikenal dengan gaya hidup diabetogenic (yaitu asupan kalori yang berlebihan, pengeluaran kalori yang tidak memadai, dan obesitas). Sekitar 90% dari pasien yang menderita Diabetes Mellitus type 2 mengalami obesitas. Berat badan yang berlebihan akan meningkatkan risiko terjadinya Diabetes Mellitus type 2. Hal ini bervariasi tergantung jenis rasnya. Diabetes Mellitus type 2 akan lebih mudah terjadi pada orang – orang keturunan Asia dengan kenaikan berat badan bila dibandingkan dengan orang-orang keturunan Eropa (Khardori, 2014).

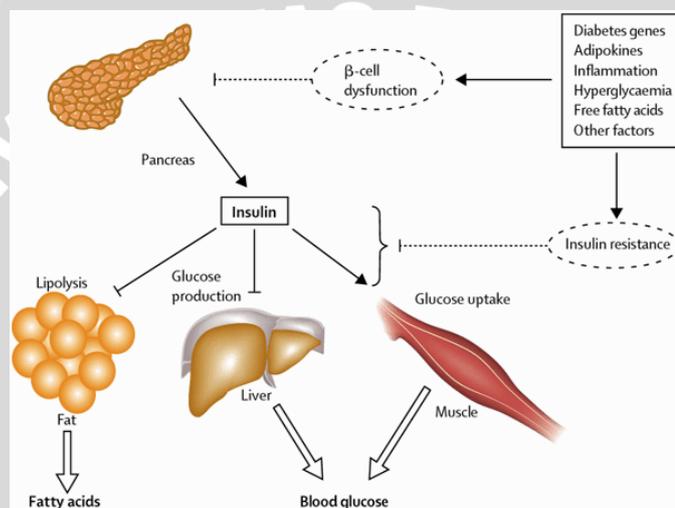
2.2.3 Patogenesis Diabetes Mellitus type 2

Diabetes Mellitus tipe 2 merupakan kelainan metabolik yang dicirikan dengan adanya kombinasi dari resistensi insulin perifer dan sekresi insulin yang tidak memadai oleh sel beta pankreas. Diabetes Mellitus Tipe 2 terjadi akibat terjadinya resistensi insulin dan kurangnya sekresi insulin pada saat yang sama. Diabetes Mellitus type 2 rentan terjadi pada individu yang tidak mampu menghasilkan sekresi insulin yang adekuat untuk mengimbangi resistensi insulinnya. Resistensi insulin berkaitan dengan peningkatan kadar asam lemak bebas dan sitokin pro inflamasi dalam plasma. Kedua hal ini akan menyebabkan penurunan transpor glukosa ke dalam sel otot, produksi glukosa hepatic meningkat, dan peningkatan pemecahan lemak (khardori, 2014).

Disfungsi sel beta merupakan faktor predisposisi yang utama dalam patogenesis dari Diabetes Mellitus. Pada tahun 2010, studi yang dilakukan oleh Bacha et al terhadap remaja yang mengalami obesitas mengungkapkan bahwa disfungsi sel beta pankreas berkembang di awal proses patologis dan tidak selalu mengikuti tahap resistensi insulin. Hal yang sama rupanya juga terjadi pada orang dewasa (Khardori, 2014). Kerusakan sel beta dipicu oleh berbagai hal, antara lain reaksi inflamasi yang diinduksi oleh sitokin, obesitas dan resistensi insulin, dan konsumsi lemak jenuh dan asam lemak bebas yang berlebihan. Penurunan fungsi sel beta secara progresif akan mengakibatkan kematian sel beta (Ferrannini, 2010; Talchai et al, 2012.). penurunan fungsi sel beta merupakan kunci penting terhadap perkembangan patogenesis Diabetes Mellitus type 1 dan type 2 (Stoffers, 2004).

Resistensi insulin terjadi setelah adanya disfungsi sel beta pankreas. Pada awal terjadinya resistensi insulin, hal yang pertama kali meningkat adalah kadar gula darah postprandial. Peningkatan kadar gula darah puasa

terjadi kemudian sebagai respon dari kegagalan gluconeogenesis hepar. Selama proses induksi resistensi insulin (seperti yang terjadi dengan diet tinggi kalori, pemberian steroid, atau rendahnya aktivitas fisik), peningkatan kadar glukagon dan peningkatan kadar *glucose-dependent insulinotropic polypeptide* (GIP) akan terjadi beriringan dengan intoleransi glukosa. Namun, respon dari *glucagon-like peptide 1* (GLP-1) postprandial tidak berubah (Khurdori, 2014).



Gambar 2.3 : Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2.

Proses diawali dengan 2 kondisi utama, yaitu resistensi insulin dan disfungsi sel- β pankreas yang mempengaruhi kadar insulin dalam darah serta reseptor insulin di jaringan adiposa, hepar, dan otot (Stumvoll, 2005).

2.2.4 Faktor resiko

Diabetes Mellitus type 2 memiliki faktor resiko yang luas. Pola hidup yang buruk adalah salah satu faktor resiko yang luas beredar di masyarakat. Namun pada tahun 2014, Khurdori et al mengungkapkan ada 8 faktor resiko utama untuk Diabetes Mellitus type 2. Yaitu usia lebih dari 45 tahun, berat badan lebih tinggi dari 120% dari berat badan ideal, riwayat keluarga terdekat (misal orang tua atau saudara kandung) yang terdiagnosa mengalami Diabetes Mellitus tipe 2, ras hispanik, ras penduduk asli Amerika, ras afrika-amerika, ras asia-amerika, atau keturunan warga kepulauan pasifik, riwayat

pernah mengalami *Impaired glucose tolerance* (IGT) atau *Impaired Fasting Glucose* (IFG), mengalami hipertensi (> 140/90 mmHg) atau dislipidemia (kadar kolesterol HDL <40 mg/dL atau kadar trigliserida > 150 mg/dL), riwayat pernah mengalami diabetes gestasional atau melahirkan bayi dengan berat lahir lebih dari 4,1 kg, dan mengalami sindrom ovarium polikistik (yang berakibat pada terjadinya resistensi insulin).

2.3 Oxidized Low-Density Lipoprotein (Ox-LDL)

Mekanisme oksidasi LDL diperantarai oleh enzim-enzim *NADPH oxidase*, *myeloperoxidase*, *cytochrome P450*, *mitochondrial electron transportchain*, *peroxynitrite*, *xanthine oxidase*, *caeruloplasmin*, *lipooxygenase*, ROS yang dihasilkan oleh makrofag, sel otot polos, dan sel endotel di dalam lesi aterosklerosis (Anitra, 2000). Oksidasi LDL oleh enzim-enzim tersebut menyebabkan LDL mengalami proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid ini berawal dari modifikasi *poly unsaturated fatty acids* (PUFA), bagian dari fosfolipid LDL menjadi *lipid hydroperoxide*. Lipid hydroperoxide ini mengalami degradasi menjadi fragmen-fragmen seperti *malondialdehyde* (MDA) yang selanjutnya berinteraksi dengan derivat lysine dari degradasi Apolipoprotein B (ApoB), yang merupakan komponen protein utama dari LDL. Interaksi inilah yang membentuk *epitope* pada ApoB yang dapat dikenali oleh *scavenger receptors* (SR) makrofag dan sel-sel imun lainnya (Tsimikas, 2005).

Uptake Ox-LDL oleh makrofag dapat melalui beberapa cara yaitu, melalui *scavenger receptor* (SR), makropinocytosis, kompleks OxLDL-Ig dan reseptor Fc (FcR), serta aggregated LDL dan LDLR. Sekitar 75% - 90% uptake Ox-LDL oleh makrofag melalui SR (CD-36). Ox-LDL dibawa ke lisosom dalam bentuk cholesteryl ester (CE), kemudian CE dihidrolisis menjadi *free*

cholesterol (FC) oleh *Neutral Cholesteryl Ester Hydrolase* (NCEH). Sebagian FC dibawa dari lisosom untuk structural elemen ke membrane sel. Sisa dari FC akan dibawa oleh ABCA 1 dari sel ke aseptor *High Density Lipoprotein* (HDL) yaitu Apolipoprotein A1 (Apo A1). Ketika jumlah acceptor sedikit dan jumlah FC meningkat, kelebihan FC akan diubah lagi menjadi CE oleh *Acyl Coenzyme Aracyl cholesterol Trasferase* (ACAT), menjadi lipid droplet di dalam makrofag yang nantinya berkembang. Metabolisme ox-LDL di dalam makrofag hingga terbentuknya foam cell ini menyebabkan upregulasi dari SR, ekspresi factor jaringan, sekresi ROS, sekresi proinflamatory cytokine (TNF- α , IL-1, IL-6), kematian sel, sekresi molekul adhesi, sekresi chemokine, inhibisi NO, sekresi *growth factor*, dan penurunan hidrolisis CE (Su, 2009).

2.4 Darapladib

Darapladib merupakan inhibitor reversibel enzim Lp-PLA₂ (Lipoprotein-associated Phospholipase A₂), sehingga tidak terjadi hidrolisis PAF, 1-myristoyl-2-(4-nitrophenylsuccinyl) PC, dan lainnya (Rosenson et Stafforini, 2014). Lp-PLA₂ merupakan enzim yang diproduksi dan disekresi oleh sel inflamasi pada kejadian aterosklerosis, berikatan dengan apolipoprotein B, dan diekspresikan sangat banyak dari inti nekrosis aterosklerosis. Enzim ini, secara cepat mendegradasi fosfolipid secara oksidatif di kolesterol LDL, sehingga menyebabkan pembentukan produk proinflamasi dan sitokinin (Serruys, 2008).

Darapladib memiliki kemampuan untuk menghambat hidrolisis substrat eksogen dari Lp-PLA₂ pada plasma dan LDL pada studi *in vitro*. Darapladib juga merupakan lipofilik yang memiliki permeabilitas yang baik. Darapladib dapat menghambat hidrolisis substrat Lp-PLA₂ (seperti PAF, 1-myristoyl-2-(4-nitrophenylsuccinyl) PC, dan lainnya). Studi *in*

vivomenunjukkan bahwa pengobatan darapladib dapat menurunkan Lyso-PC pada lesi aterosklerosis di babi, dengan menghambat hidrolisis gliserofosfolipid endogen. Lalu, pada penelitian dimana perlakuan hewan model *diabetic-hypercholesterolemic* (DM-HC) menunjukkan adanya penurunan lyso-PC. Darapladib juga mampu menurunkan *caspase-3* dan *caspase-8* dan juga menghambat apoptosis makrofag yang diinduksi oleh ox-LDL (Rosenson *et* Stafforini, 2014).

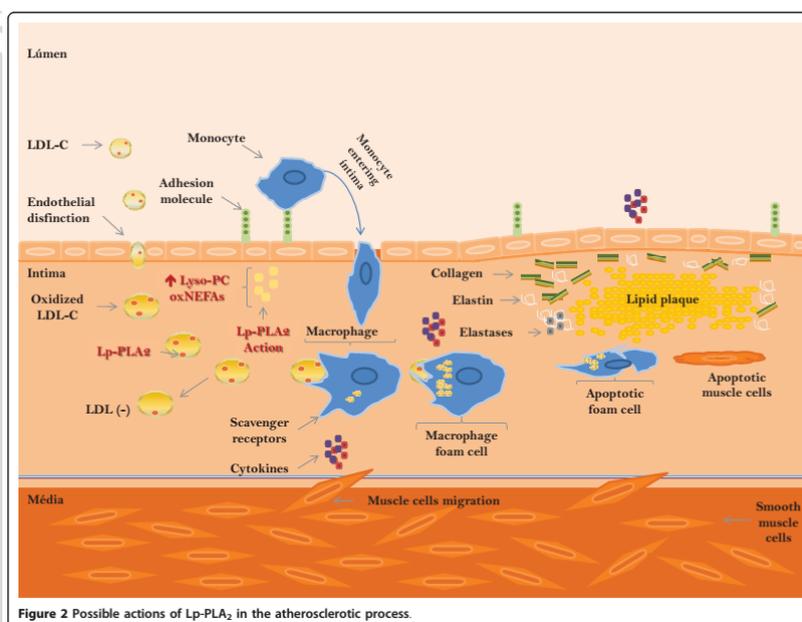
Berbagai studi telah menunjukkan hasil dari pengobatan Darapladib terhadap overekspresi Lp-PLA₂ pada aterosklerosis secara *in vivo*. Efek pemberiannya adalah adanya penurunan sel inflamasi, penurunan area plak, dan meningkatnya kerja anti inflamasi. Kemudian terdapat juga perubahan marker inflamasi dari pemberian darapladib terhadap tikus model HFD yaitu penurunan aktivitas serum Lp-PLA₂, penurunan sel proinflamasi (Hs-CRP, IL-6, MCP-1, VCAM-1, dan TNF α), dan penurunan makrofag pada lesi aterosklerosis (Rosenson *et* Srafforini, 2014).

2.5 Lipoprotein Associated phospholipase A2

Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) termasuk dalam golongan *Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH)*, yaitu enzim yang bekerja untuk memecah *platelet-activating factor (PAF)*. Lp-PLA₂ memiliki berat molekul 45-kDa dengan 441 asam amino. Berbeda dengan enzim fosfolipase A2 lainnya, Lp-PLA₂ bekerja lebih kepada fosfolipid polar larut air dengan pemotongan ranti sn-2 secara oksidatif. Selain itu Lp-PLA₂ juga bersifat *calcium-independent* (Zalewski, 2005).

Lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) merupakan enzim yang dibentuk oleh berbagai sel inflamasi dan non-inflamasi yang merupakan pecahan dari PAF dan sisa asam lemak teroksidasi. Lp-PLA₂

dikenal sebagai penanda berpotensi untuk mengetahui risiko penyakit kardiovaskular. Lp-PLA₂ termasuk dalam keluarga fosfolipase (PLA₂), walaupun memiliki komposisi paling berbeda disbanding PLA₂ lainnya. Lp-PLA₂ didistribusi secara intrasel maupun ekstrasel. Pada intrasel, Lp-PLA₂ menunjukkan dua variabel I dan II, sementara jaringan otak memiliki Lp-PLA₂ -Ib. Lp-PLA₂ tipe II memiliki 40 kDa rantai polipeptida yang berhubungan dengan kemampuan antioksidan. Lp-PLA₂ ekstrasel dibawa dalam bentuk plasma, dalam sirkulasi berpasangan dengan LDL (80-85%) dan sedikit pada HDL (15-20%), yang aktivitasnya berhubungan kuat dengan konsentrasi kolesterol (Silva, *et al*, 2011).



Gambar 2.4 : Mekanisme Lp-PLA₂ pada Proses Aterosklerosis (Silva, et al, 2011)

Ketika Lp-PLA₂ menghidrolisis lipid bioaktif, maka akan mengurangi aktivitas biologi lipid tersebut, dan meninggalkan residu berupa Lyso-PC. Lyso-PC ini turut serta dalam proses aterosklerosis dan juga dapat merusak Lp-PLA₂ itu sendiri. Lisofosfolipid dihasilkan oleh *phospholipase A₂* ketika adanya aktivasi, jejas, atau apoptosis sel dan juga dapat dihasilkan oleh

phospholipase A₁ melalui *lechitin-cholesterol acyltransferase* (LCAT) atau lipase endotelial (Silva, *et al*, 2011).

2.6 Pembuatan Model DM type 2

Pembuatan model diabetes mellitus tipe 2 dilakukan dengan menggunakan galur tikus yang sesuai dan bahan-bahan yang sesuai

2.6.1 Pemilihan Hewan Coba

Berbagai hewan coba yang digunakan dalam model diabetes mellitus tipe 2 memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing.

1. Tikus *Sprague-dawley* adalah tikus yang berasal Madison, wisconsin, Amerika Serikat. Tikus jenis ini mulai dikembangkan pada tahun 1925. Tikus ini memiliki fenotip albino dengan masa hidup hingga 25 bulan. Tikus ini cenderung memiliki sifat yang jinak sehingga lebih mudah saat akan diberikan perlakuan. Tikus SD tumbuh lebih perlahan dibandingkan tikus jenis wistar (Mary, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Levin *et al* pada 1983 menunjukkan bahwa obesitas yang diinduksi oleh diet terjadi pada 50-60% tikus sprague-dawley jantan yang diberi diet yang relatif tinggi kalori selama 90 hari. Sehingga tikus ini lebih mudah mengalami kondisi penyakit metabolik.
2. Tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar. Sprague-Dawley merupakan galur turunan dari tikus jenis ini. Sri Murwani *dkk* (2011) mengembangkan diet aterogenik pada tikus putih ini dan dapat dilakukan (Nitbani, 2014).

2.6.2 High Fat Diet

Deskripsi *high fat diet* (HFD) pertama kali dikenalkan dapat menginduksi obesitas dengan mengintervensi nutrisi pada 1959 oleh Masek

et Fabry. Keadaan dari obesitas, resistensi insulin, hipertensi, dan dislipidemia adalah hal yang biasa disebut dengan sindrom metabolik. HFD pada tikus model telah berkontribusi secara signifikan dalam analisis patofisiologi sindrom resistensi insulin, namun fenotip bervariasi dalam beberapa studi.

Komposisi HFD berdasarkan penelitian oleh Buettner, *et al*/pada 2006 menemukan komposisi efektif pada HFD dengan berbagai macam sumber asam lemak yaitu: (1) lemak babi (HF-L); (2) minyak zaitun (HF-O); (3) minyak kelapa (HF-C); (4) minyak ikan (HF-F); dan (5) pakan standar sebagai kontrol (SC). Ditemukan bahwa urutan paling efektif sampai tidak efektif adalah minyak babi (HF-L), minyak kelapa (HF-C), minyak zaitun (HF-O), minyak ikan (HF-F), dan pakan standar (SC) (Buettner *et al*, 2006). Namun pada penelitian ini kami menggunakan korsvet, korsvet merupakan suatu lemak yang diambil dari daerah perut sapi/kambing yang diolah sedemikian rupa dan dibekukan.

Model hewan coba Diabetes Mellitus type 2 diberikan pakan yang memiliki sifat pro-aterogenik, yaitu diet tinggi lemak (*High fat diet*). Komposisi diet tinggi lemak yang umum digunakan dalam penelitian terkait patogenesis aterosklerosis adalah diet dengan kalori dari lemak sebesar 30-60% (Gajda, 2008). Komposisi *high fat diet* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 42% lemak, 46% karbohidrat, dan 12% protein.

2.6.3 Streptozotocin

Pada penelitian ini untuk menginduksi DM dengan cara yang simpel, tidak mahal, mudah, dan dapat dilakukan adalah mengubah sel Langerhans pada pankreas. Ada beberapa metode dalam menginduksinya, konsepnya adalah mengeluarkan pankreas dari tubuh atau membuat pankreas tidak berfungsi. Setidaknya untuk menginduksi DM, 90-95% dari pankreas harus dihilangkan dari tubuh. Metode kedua untuk membuat diabetes dengan

menginjeksi obat *alloxan* dan *streptozotocin* (STZ) *low dose* (35 mg/KgBB).

Streptozotocin adalah suatu senyawa yang memiliki sifat toxic terhadap sel beta pankreas yang menghasilkan insulin di mamalia. Dahulu streptozotocin disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) Amerika Serikat sebagai agen terapi metastate kanker dari sel islet pankreas. Namun karena membawa risiko toksisitas yang besar dan jarang memberikan prognosis yang jelas pada kanker, penggunaannya terbatas pada pasien yang kankernya tidak dapat dihilangkan melalui pembedahan. Pada pasien seperti ini, streptozotocin dapat mengurangi ukuran tumor dan mengurangi gejala yang ada (terutama gejala hipoglikemia karena sekresi insulin yang berlebihan akibat insulinoma) (Brentjens,2001).

