

BAB 2

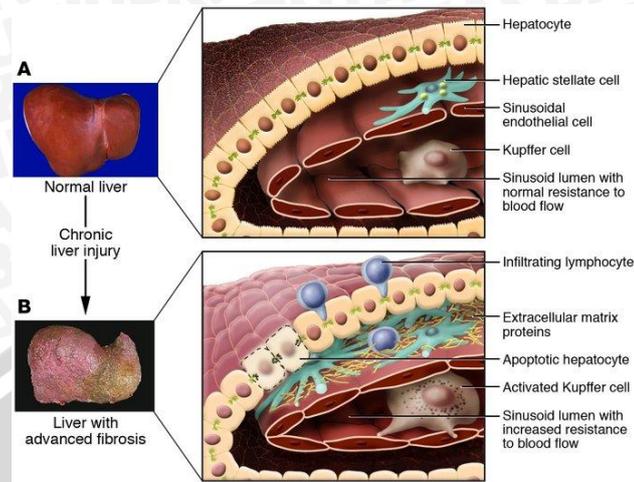
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fibrosis Hati

2.1.1 Pengertian Fibrosis Hati

Fibrosis hati adalah proses patofisiologi yang terjadi akibat injuri kronik pada hati, yang mempresentasikan mekanisme dasar pertahanan alami pada hati dan merupakan komplikasi klinik pada hampir seluruh penyakit hati kronik (Moreira, 2007). Sel kupffer dan sel HSC merupakan sel yang berperan penting dalam proses terjadinya fibrogenesis hati. Sel kupffer melekat pada sel endotel dan merupakan derivat sel monosit yang berfungsi untuk memfagosit sel hepatosit tua, debris sel, benda asing, sel tumor, dan berbagai mikroorganisme (Bataller dan Brenner, 2005). Sel kupffer juga memainkan peran utama dalam inflamasi hati dengan melepaskan *reactive oxygen species* (ROS) dan sitokin (Ramon dan Daud, 2005).

Fibrosis hati membentuk jaringan ikat yang merupakan respon terhadap cedera hati yang diawali oleh cedera hati kronis ditandai oleh aktivasi HSC dan produksi berlebih komponen *extracellular matrix* (ECM). Penumpukan protein matriks ekstraseluler yang berlebihan akan menyebabkan gangguan arsitektur hati sehingga terbentuk jaringan ikat yang diikuti regenerasi sel hepatosit. Fibrosis hati merupakan proses dinamis dan reversibel yang merupakan hasil keseimbangan dari fibrogenesis dan kerusakan dari degradasi matriks yang dihasilkan (Poynard *et al.*, 2011).



Gambar 2.1 Skema perubahan jaringan hati yang mengalami fibrosis. (Bataller dan Brenner, 2005)

2.1.2 Patogenesis Fibrosis Hati

Fibrosis hati merupakan respon terhadap penyembuhan luka pada lesi yang berulang. Setelah jejas hati akut (contoh: hepatitis virus), sel parenkim beregenerasi untuk menggantikan sel nekrotik atau apoptotik. Proses ini berhubungan dengan respon inflamasi dan deposisi terbatas dari ECM (walace et al.,2008). Sel hepatosit yang mengalami kerusakan dapat menyebabkan terjadinya kebocoran enzim lisosom dan pelepasan sitokin dari matriks ekstrasel. Sitokin ini bersama dengan debris sel yang mati akan mengaktifkan sel kupffer di sinusoid hati dan menarik sel inflamasi (granulosit, limfosit dan monosit) (friedman et al.,2006). Sel kupffer kemudian melepaskan berbagai faktor pertumbuhan, sitokin, faktor proinflamasi (TNF α , IL-1 β , dan IL-6) dan faktor profibrogenik terutama TGF- β (Seki et al., 2007).

Sel HSC adalah sel penghasil ECM utama. Pada hati normal, HSC berada di dalam ruang Disse (subendotel) dan merupakan tempat cadangan utama vitamin A. Pada jejas kronik, HSC menjadi aktif atau bertransdiferensiasi menjadi sel seperti miofibroblas. Proses ini memerlukan bahan-bahan kontraktile,

proinflamasi, dan fibrogenik. HSC aktif bermigrasi dan berakumulasi pada sisi perbaikan jaringan, mensekresikan sejumlah besar ECM dan mengatur degradasi ECM (Bataller et al., 2005). HSC yang mensekresikan ECM mengalami gangguan pada kualitas dan komposisi ECM, pada fibrogenesis terjadi peningkatan 6 kali lebih banyak produksi ECM dibandingkan dengan hati normal. Termasuk dalam hal ini kolagen (I, III, IV), asam fibronektin, undulin, elastin, laminin, hialuronat, proteoglikan. Terjadinya pembentukan jaringan parut diakibatkan oleh sintesis matrik yang berlebihan dan penurunan degradasi ECM yang diatur oleh HSC sebagai sel penghasil ECM utama pada hati yang cedera (walace et al., 2008; friedman et al., 2006). Pola yang berbeda pada patogenesis molekuler fibrosis hati terjadi akibat penyebab, lokasi injuri, sumber sel *fibrogenous* yang berbeda pula, serta mekanisme fibrogenik lebih dominan (Mormone et al., 2011)

Berikut ini adalah beberapa patogenesis molekuler fibrosis hati :

1. Interaksi sel dengan sel serta interaksi sel dengan matriks.

Proses terjadinya fibrosis hati tidak terlepas dari terganggunya interaksi yang normal antarsel, serta antara sel dengan matriks. Interaksi baru akan muncul dipicu oleh interaksi yang terganggu akibat nekrosis hepatosit atau invasi dari sel-sel inflamasi yang mencetuskan respon fibrogenik. Pada fibrosis hati, terdapat perubahan yang secara kuantitatif dan kualitatif signifikan pada komposisi matriks ekstraseluler di area periportal dan perisinusoidal. Kerusakan akibat interaksi yang terganggu tersebut terdiri dari kolagen fibrillar tipe I dan III, proteoglikan, asam hialuronat dan fibronektin yang pada akhirnya dapat menimbulkan perubahan fisiologi hati, terutama pada *space of disse*, dimana densitas

elektron yang rendah dari matriks ekstraseluler tergantikan oleh zat yang kaya kolagen fibrillar dan fibronektin. Hal ini dapat memicu hilangnya celah yang menyebabkan hubungan antarsel endotel mengganggu fungsi hepatosit dan kerusakan pada sel-sel lain selain sel non-parenkimal. (Mormone *et al.*, 2011).

2. Stres Oksidatif

Infeksi kronis dari virus hepatitis B dan konsumsi alkohol dalam jangka waktu yang panjang dapat memicu kerusakan sel melalui peningkatan produksi ROS, sehingga dapat menyebabkan nekrosis dan atau apoptosis hepatosit. ROS dihasilkan terutama dari rantai transpor elektron di mitokondria atau melalui aktivasi sitokrom P450, oksidasi NADPH, oksidasi xantin, atau kerusakan dari mitokondria. ROS dapat memengaruhi sifat HSC dan miofibroblas. Sel-sel inilah yang berperan dalam produksi matriks ekstraseluler sehingga memicu terjadinya fibrosis (Mormone *et al.*, 2011).

2.1.3 Aktivasi sel HSC

Fibrosis tidak lepas dari adanya faktor HSC yang merupakan sel pengasil ECM utama saat hati mengalami cedera (walace *et al.*, 2008). Aktivasi HSC terbagi dalam dua fase utama, yaitu fase inisiasi (fase pre-inflamasi) dan fase persuasi yang akan diikuti dengan fase resolusi apabila injuri segera ditangani, prosesnya juga berjalan secara simultan dan tumpang tindih (Bemion dan Arthur, 2001). Berikut fase dalam aktivasi sel HSC :

1. Fase Inisiasi (pre-inflamasi)

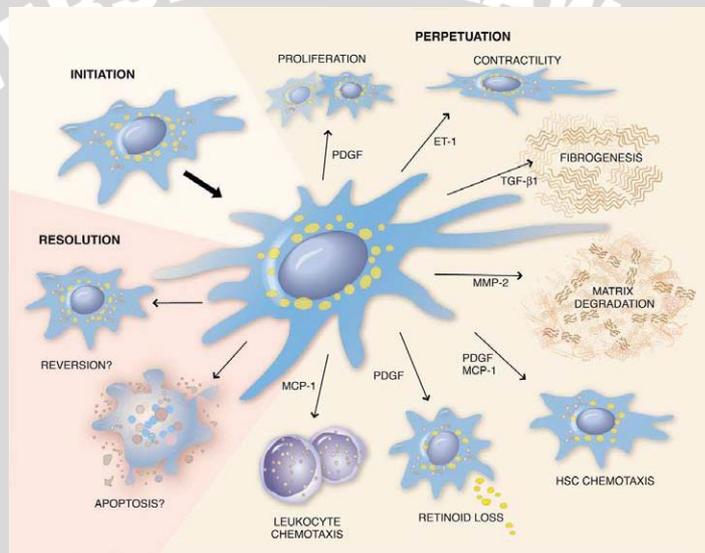
Aktifasi dari HSC menjadi miofibroblas yang bersifat proliferasif, fibrogenik dan kontraktif. Induksi ini berjalan cepat akibat adanya rangsangan dari parakrin yang bersal dari sel-sel inflamasi, hepatosit yang rusak, sel-sel duktus biliaris serta perubahan awal komposisi ECM. Perubahan tersebut menyebabkan HSC responsif terhadap berbagai sitokin dan stimulasi lokal lainnya. Pada tahap ini terjadi stimulasi terhadap HSC oleh sel-sel yang berdekatan dengan HSC seperti sel hepatosit, sel kupffer, platelet dan leukosit yang menginfiltrasi cedera hati. Stimulasi parakrin bisa berupa oksidasi, terutama oleh ROS dan peroksidasi lipid yang dihasilkan oleh neutrofil dan sel kupffer. Hal ini dapat meningkatkan sintesis kolagen oleh HSC. Stimulasi juga dapat disebabkan oleh pelepasan dan aktifitas berbagai *growth factors* yang terutama dihasilkan oleh sel kupffer (Bemion dan Arthur, 2001).

2. Fase Persuasi

Pada fase ini terjadi respon seluler akibat dari proses inisiasi. Terjadi berbagai reaksi yang menguatkan fenotip sel aktif melalui peningkatan ekspresi berbagai faktor pertumbuhan, serta akselerasi *remodeling* ECM. Fase persuasi ini merupakan hasil stimulasi parakrin dan autokrin yang meliputi beberapa tahap, yaitu proliferasi, fibrogenesis, peningkatan kontraktifitas, pelepasan sitokin proinflamasi, kemotaksis, *retinoid loss* dan degradasi matriks. Tahap akhir dari fase ini yaitu degradasi matriks, yang diatur oleh *matrix metalloproteinase* (MMP) dan antagonisnya *tissue inhibitor metalloproteinase* (TIMP) (Bemion dan Arthur, 2001).

3. Fase Resolusi

Fase ini merupakan fase lanjutan dari fase persuasi bila injuri hati ditangani. Pada fase resolusi ini jumlah HSC yang aktif berkurang dan integritas jaringan kembali normal. Terjadi perubahan dimana HSC yang aktif menjadi inaktif dan apoptosis. Pada cedera hati, apoptosis dihambat oleh berbagai faktor dan komponen matriks yang terlibat dalam inflamasi (IGF-1 dan TNF- γ) (Benion dan Arthur, 2001).



Gambar 2.2 aktivasi sel HSC (Benion dan Arthur, 2001)

Meskipun sirosis dianggap irreversibel, bukti klinis saat ini menunjukkan bahwa fibrosis, bahkan pada tahap yang lanjut, bersifat reversibel. Fibrosis dapat mengalami regresi apabila stimulus pemicu fibrosis dihentikan (Arthur, 2002). Pada manusia, resolusi spontan dapat dicapai dengan mengobati penyakit yang mendasari terjadinya fibrosis (Issa, et al., 2004). Mekanisme utama yang mendasari resolusi fibrosis adalah peningkatan aktivitas kolagenolitik (Arthur, 2002). Degradasi kolagen fibriler dan perubahan interaksi antara HSC yang teraktivasi dan matriks ekstraseluler memberikan sinyal apoptosis HSC, sehingga

pada akhirnya terjadi kematian HSC dan penurunan produksi matriks ekstraseluler. Oleh karena itu, degradasi matriks dan apoptosis HSC diperlukan untuk resolusi fibrosis yang adekuat (Iredale, et al. 1998; Issa et al., 2004).

2.2 TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA

2.2.1 Pengertian TGF- β

TGF- β adalah protein yang disekresikan untuk mengatur proliferasi, diferensiasi dan kematian dari berbagai jenis sel, yaitu sel kekebalan, termasuk sel B, sel T dan sel dendritik serta makrofag mensekresi TGF- β yang mengatur proliferasi, diferensiasi dan aktivasi oleh sitokin lain. TGF- β adalah immunosuppressor utama yang berhubungan dengan autoimun, peradangan dan kanker. TGF- β merupakan protein sekresi yang terdiri dari tiga isoform yaitu TGF- β 1, TGF- β 2 dan TGF- β 3 (Gressner *et al.*, 2002).

TGF- β 1 merupakan sitokin polipeptida yang disekresi oleh berbagai jenis sel dalam tubuh (Abbas, 2012). TGF- β 1 disekresi oleh sel T yang teraktivasi, limfosit, makrofag atau sel kupffer pada jaringan hati, serta sel-sel dendritik. TGF- β 1 memiliki peran sebagai sitokin proinflamasi, namun dapat pula berperan sebagai sitokin antiinflamasi, tergantung pada konsentrasinya. Sitokin adalah protein dengan berat molekul kecil yang diproduksi dan dilepas berbagai jenis sel. Sitokin berperan utama dalam induksi dan regulasi interaksi seluler yang melibatkan sel inflamasi imun dan sistem hematopoietik. Sitokin hanya bekerja terhadap sel yang mengekspresikan reseptor terhadapnya (baratawidjaja dan rengganis, 2014). TGF- β 1 yang pertama kali ditemukan pada trombosit manusia memiliki beberapa fungsi, yaitu fungsi pertumbuhan sel, proliferasi sel, differensiasi sel, pembentukan jaringan ikat, apoptosis dan fungsi penyembuhan

luka. Bila terjadi jejas dalam jaringan hati, maka akan terdapat peningkatan TGF- β 1 yang akan merangsang pembentukan jaringan ikat sehingga terjadi fibrosis hati. Dan juga dapat berperan sebagai penghambat sekresi molekul adhesi sel T dan netrofil pada sel-sel endothelial, dan juga penghambat aktivasi makrofag serta pengatur ekspresi MHC kelas II pada makrofag (Letterio dan Roberts, 1998). Jejas kronik pada hepar akan meningkatkan aktivitas sel HSC, TGF- β 1, *platelet-derived growth factor* (PDGF), dan TIMP-2. TGF- β adalah polipeptida *growth factor* yang stabil. TGF- β mempunyai banyak fungsi, antara lain sebagai regulator yang kuat dari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, mengatur sintesis matriks dari jaringan ikat. TGF- β juga penting dalam proses penyembuhan luka, karena TGF- β memicu pembentukan jaringan parut (Albert *et al.*, 2002). TGF- β dapat dilihat gambaran secara langsung dengan imunohistokimia yang mengukur bintik coklat, Adanya bintik berwarna coklat ini merupakan gambaran dari ekspresi TGF- β yang diakibatkan adanya ikatan antara antigen jaringan dengan antibodi yang diberikan dalam proses pembuatan preparat imunohistokimia untuk mengamati ekspresi TGF- β . Kadar TGF- β plasma untuk mengetahui kadar TGF- β yang diproduksi oleh sel darah putih, sedangkan kadar TGF- β serum maka yang diukur tidak hanya produksi TGF- β monosit, makrofag dan sel T (Pepper, 1997).

2.2.2 Peran TGF- β 1 pada fibrosis hati

TGF- β 1 merupakan sitokin polipeptida multifungsional yang disekresikan oleh berbagai sel dalam tubuh termasuk makrofag, sel *natural killer* (sel NK), *lymphokine activated killer cells*, sel B, sel CD4 dan sel CD8 (Gressner, 1996).

Pada penyakit hati kronis, sel HSC teraktifkan dan mengalami transdiferensiasi menjadi myofibroblast yang merupakan tipe sel utama menghasilkan ECM protein (kolagen tipe I, III dan IV). Produksi yang berlebihan dan deposisi protein ECM menyebabkan fibrosis hati. TGF- β dan PDGF adalah dua mediator yang penting untuk mengaktifkan HSC. Dalam hati, sel Kupffer (makrofag residen hati) adalah sumber utama sitokin inflamasi dan fibrogenik (TNF- α , IL-6, MCP-1, IL-1, dan TGF- β). HSC aktif juga mengekspresikan sitokin dan kemokin. Mediator inflamasi dan fibrogenik ini berpartisipasi dalam aktivasi dan migrasi HSC dan sel Kupffer (Wynn, 2008). Selain berperan dalam proses fibrogenesis, TGF- β sebagai sitokin pada imunitas spesifik juga berperan menghambat proliferasi dan fungsi efektor sel T, menghambat proliferasi sel B, promosi pengalihan isotip ke IgA dan menghambat makrofag (baratawidjaja dan rengganis, 2014).

2.2.3 TGF- β Jaringan Hati

Pada hati yang normal dan fibrosis, TGF- β dihasilkan. TGF- β 1 adalah isoform yang paling banyak dihasilkan. TGF- β 1 dihasilkan paling banyak oleh sel kupffer dan dalam jumlah tertentu oleh HSC. TGF- β 2 paling banyak ditemukan pada HSC. TGF- β 3 juga dihasilkan oleh HSC. Pada hati yang mengalami fibrosis TGF- β meningkat secara spesifik pada HSC dan sel endotel, namun tidak berubah jumlahnya pada sel kupffer (De Bleser *et al.*, 1997).

Pada hati, terdapat TGF- β dalam bentuk laten dan aktif. TGF- β laten diperoleh, disimpan, dan dimetabolisme oleh sel parenkim hati (Roth-Eichhorn *et al.*, 1998). Bentuk aktif TGF- β , yang akan berfungsi dalam sinyal seluler, dapat dihasilkan oleh hepatosit yang mengaktifkan TGF- β laten intraseluler (Roth *et al.*,

1998). Di ekstraseluler, TGF- β laten diaktifkan oleh aksi enzim proteolitik, yakni plasmin (Grande, 1997) Sel hati nonparenkim menghasilkan faktor-faktor yang mengatur aktivitas plasminogen/plasmin dan memodulasi bioaktivitas TGF- β (Leyland *et al.*,1996).

2.3 Karbon Tetraklorida (CCl₄)

2.3.1 Definisi Karbon Tetraklorida

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan xenobiotik yang lazim digunakan untuk menginduksi peroksidasi lipid dan keracunan. Dalam endoplasmik retikulum hati CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) menjadi radikal bebas triklorometil (CCl₃) (Lin *et al.*, 1998). Triklorometil dengan oksigen akan membentuk radikal triklorometilperoksi yang dapat menyerang lipid membran endoplasmik retikulum dengan kecepatan yang melebihi radikal bebas triklorometil. Selanjutnya triklorometilperoksi menyebabkan peroksidasi lipid sehingga mengganggu homeostasis Ca²⁺, dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Shanmugasundaram, 2006). CCl₄ Merupakan zat volatil yang tidak berwarna, terasa panas, dan berbau seperti klorofom. CCl₄ tidak dapat larut dalam air, namun dapat larut dalam alkohol, kloroform, ether dan minyak volatil (Winaya dan Suarsana, 2005). Pemberian CCl₄ dalam dosis tinggi dapat merusak endoplasmik retikulum, mengakumulasi lipid, mengurangi sintesis protein, mengacaukan proses oksidasi, menurunkan bobot badan, menyebabkan pembengkakan hati sehingga bobot hati menjadi bertambah, dan pemberian jangka panjang dapat menyebabkan nekrosis sentrilobular serta degenerasi lemak di hati (Delgado JN, 1991).

2.3.2 Hepatotoksisitas

Karbon tetraklorida adalah hepatotoksin yang sangat poten. Hepatotoksik yang ditimbulkan oleh CCl₄ disebabkan oleh senyawa hasil metabolisme yang bersifat radikal bebas. Kerusakan sel hati sendiri juga memicu aktivasi sel kupffer. Sel kupffer yang teraktivasi dapat melepaskan berbagai mediator pro-inflamasi, yang dapat memperberat kerusakan hepatosit, dan mediator antiinflamasi yang bersifat hepatoprotektor. Selain itu, sel kupffer juga dapat melepaskan ROS yang juga memperberat kerusakan hepatosit.

kerusakan jaringan hati juga dapat diamati dengan melihat gambaran sediaan histologi jaringan hati tersebut. Derajat kerusakan hati oleh CCl₄ tergantung kepada dosis, rute pemberian, dan juga lama paparan (Hidayati, 2007).

2.3.3 Fibrosis Hati Akibat Induksi CCl₄

Karbon tetraklorida dalam dosis tunggal dapat mengakibatkan nekrosis sentrizonal dan steatosis. Karbon tertraklorida juga merusak hepatosit dengan cara mengubah permeabilitas dari membran plasma, lisosom, dan mitokondria (wiliam dan burk, 1990). Karbon tertraklorida merupakan pemicu dari radikal bebas yang menyebabkan gangguan integritas membran hepatosit yang dapat menyebabkan keluarnya berbagai enzim dari hepatosit. Enzim yang dikeluarkan oleh sel hepatosit akan meningkat kadarnya dalam serum dan dapat menjadi indikator kerusakan hati (Handoko, 2005).

2.4 Kurkumin

2.4.1 Definisi Kurkumin

Kurkumin (*diferuloylmethane*), zat pewarna kuning yang berada dalam rimpang *Curcuma longa* Linn (*Zingiberaceae*), yang juga merupakan salah satu bumbu dapur yang telah banyak diteliti untuk dipakai sebagai obat dari berbagai penyakit. Secara komersial kurkumin terdiri dari tiga curcuminoid utama, antara lain: *curcumin* (~ 77%), *curcumin demetoksi* (~ 17%) dan *bis-demetoksicurcumin* (~ 3%). (Goel et al., 2008)

Kurkumin memodulasi jalur sinyal kunci penting dalam proses seluler. Berbagai mekanisme kerja Kurkumin antara lain: mencegah angiogenesis, proliferasi dan metastasis; sebagai pro-apoptosis, menghambat siklus sel, sebagai imuno-modulator, efek pro-inflamasi, antioksidan dll. Akibat efek tersebut, kurkumin saat ini banyak diteliti untuk penyakit-penyakit dibidang gastrointestinal dan hepatologi, diantaranya kolitis, gastropati, *fatty liver*, kanker usus besar, dll (Alrawaiq dan Abdullah, 2014 ; irving *et al.*, 2011).

2.4.2 Peran Kurkumin pada Fibrosis hati

Sebagai antioksidan, kurkumin dapat juga berperan sebagai pro-oksidan. Hal tersebut tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Efek radikal bebas dari kurkumin diduga terpusat pada dua kelompok fenolik, yakni bentuk enol di bagian diketon dan struktur terkonjugasi kepanjangannya. Mekanisme yang memungkinkan kurkumin bekerja sebagai perangkap dan penangkal radikal melalui banyak jalur yang kompleks. Salah satunya adalah melalui aktivitas atom hidrogen dari kelompok fenol (OH). Kurkumin menginaktivasi NF-kB, suatu faktor transkripsi yang penting dalam mengatur aktivitas seluler, khususnya yang

berkaitan dengan stres dan injuri. Inaktivasi NF-Kb menyebabkan berkurangnya ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) (Irving *et al.*, 2011; Shang *et al.*, 2010).

kurkumin juga mempunyai efek antifibrosis. Pemberian kurkumin pada fibrosis hati tikus yang diinduksi dengan CCl₄ secara signifikan mengurangi aktivitas serum aspartat aminotransferase, alanine aminotransferase, alkali fosfatase, dan memperbaiki arsitektur histologis jaringan hati. Mekanisme yang mendasari perbaikan tersebut adalah akibat menurunnya stres oksidatif, meningkatnya glutation hati dan menurunnya kadar hidroperoksida lipid. Pemberian kurkumin juga dilaporkan dapat menekan peradangan dengan mengurangi kadar sitokin inflamasi, antara lain interferon- γ , tumor necrosis factor- α , dan interleukin-6, serta menghambat aktivasi HSC melalui peningkatan kadar PPAR- γ . (Fu *et al.*, 2008).

2.4.3 Metabolisme kurkumin

Kurkumin yang diberikan peroral mengalami eliminasi presistemik. Setelah kurkumin diabsorpsi, lalu akan dikongjugasi oleh sulfat dan glukoronida. Aktivitas enzim kongjugasi dari glukoronida dan sulfat pada kurkumin terjadi pada hati, ginjal, mukosa usus. Pemberian kurkumin peroral yang diabsorpsi disaluran cerna menyebabkan sebagian besar kurkumin mengalami metabolisme menjadi bentuk kongjugat sulfat dan glukoronida kemudian masuk ke sirkulasi darah. Organ yang memetabolisme kurkumin adalah hati (anand *et al.*, 2008). Produk degradasi *vanillin*, asam ferulat, *feruloyl methane*, dan *trans-6-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-5-hexenal* diperkirakan berkontribusi terhadap efek farmakologik kurkumin (Shen dan Ji, 2012). Sebanyak 75% kurkumin diekskresi ke feses dan sangat sedikit ditemukan dalam urin (Holder *et al.*, 1978).

2.4.4 Peran kurkumin dalam apoptosis HSC

Kurkumin memiliki berbagai target molekul yang diantaranya transkripsi dan faktor pertumbuhan, sitokin, enzim dan gen yang mengatur proliferasi sel dan apoptosis. Faktor transkripsi yang sangat dihambat oleh kurkumin, termasuk *nuclear factor-kB* (NF-kB), sinyal transduser dan aktivasi protein transkripsi, β -catenin dan *peroksisom proliferasi-aktivasi reseptor-gamma* (PPAR- γ) (Shishodia *et al.*, 2007). Faktor transkripsi ini mengatur ekspresi gen yang berkontribusi terhadap inflamasi, pembentukan tumor, angiogenesis, proliferasi sel dan invasi (Goel *et al.*, 2008).

