

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aterosklerosis merupakan penyebab utama penyakit jantung koroner dan telah mengakibatkan tingginya angka morbiditas dan mortalitas yang cukup signifikan pada negara maju dan berkembang.^{1,2} Penyakit kardiovaskuler, terutama yang disebabkan aterosklerosis, menjadi penyebab kematian utama di Indonesia dengan angka kematian 37% tahun 2013. Pada tahun 2030 WHO memprediksi bahwa penyakit kardiovaskuler akan menyebabkan 24,2 juta kematian per tahunnya, dengan penyakit jantung koroner dan stroke menempati peringkat pertama kematian akibat penyakit kardiovaskuler. Mayoritas kematian akan terjadi pada negara berkembang.³ Penelitian Maharani dkk. di Malang, Jawa Timur, menyimpulkan sebanyak 29,2% pasien dengan faktor risiko penyakit kardiovaskuler yang berusia di atas 40 tahun memiliki penyakit aterosklerosis berupa penyakit arteri koroner dan stroke.⁴ Aterosklerosis tidak hanya menjadi dasar patologi terjadinya penyakit kardiovaskuler, tetapi juga menjadi kondisi pra-gejala seluruh penyakit kardiovaskuler sehingga penelitian menggunakan hewan coba dapat memberikan banyak informasi mengenai proses patofisiologi aterosklerosis, pencegahan, dan pengobatannya.^{5,6}

Penelitian dengan menggunakan model aterosklerosis secara *in vitro* tidak bisa diterjemahkan dengan baik pada penelitian *in vivo* di hewan karena kompleksnya proses dan lingkungan fisiologi pada hewan yang tidak ada pada penelitian *in vitro*.⁷ Penggunaan model hewan coba pada aterosklerosis menjadi hal yang penting untuk meningkatkan pemahaman mengenai mekanisme pembentukan plak aterosklerosis dan apa saja yang bisa mencegah komplikasinya, atau malah menjadikan plak mengalami regresi.⁸

Bukti ilmiah mengenai keberhasilan induksi hewan coba aterosklerosis yang pertama dilakukan adalah oleh Ignatowski pada tahun 1908 pada kelinci yang diberi makanan tinggi protein hewani (terutama daging, susu, dan kuning telur). Sejak itu para ilmuwan bereksperimen menginduksi aterosklerosis pada berbagai kelompok hewan, seperti mencit, tikus, babi, hamster, burung, anjing, dan kera. Kebutuhan penelitian pada hewan coba yang lazim adalah kemiripannya dengan anatomi dan fisiologi manusia, potensi penerjemahan penelitian antar spesies dari hewan ke manusia, perawatan yang relatif mudah, dan biaya pemeliharaan yang masih terjangkau. Model hewan pengerat telah menjadi pilihan favorit peneliti untuk mengembangkan model aterosklerosis sejak tahun 1960-an. Kelinci adalah model hewan coba aterosklerosis yang sering digunakan dalam penelitian. Namun demikian, jenis dietnya yang hanya berasal dari tumbuh-tumbuhan mencerminkan perbedaan metabolisme lemak yang jauh berbeda dengan manusia. Hal ini menimbulkan asumsi mengenai ketidakcocokan penerjemahan hasil penelitian untuk direfleksikan pada aterosklerosis manusia.¹¹⁰

Tikus dan mencit adalah model hewan coba yang paling sering digunakan dalam seluruh penelitian eksperimen, termasuk pada aterosklerosis.¹¹¹ Tikus sebagai model hewan coba untuk aterosklerosis memiliki keunggulan berupa kemudahan dalam pemeliharaan selama perlakuan penelitian, mudah dikembangbiakkan, relatif murah, terjangkau untuk para peneliti yang sedang mencari terapi farmakologi intervensi.^{8,9,10}

Kebanyakan metode induksi aterosklerosis yang dilakukan selama ini pada hewan coba tikus dan mencit di antaranya adalah dengan memberikan diet tinggi lemak dan kolesterol atau dengan memodifikasi genetiknya untuk mengubah jalur metabolisme kolesterolnya. Diet tinggi lemak yang biasa digunakan adalah campuran antara lemak hewani, kolesterol, dan asam kolat.¹¹¹

Tikus pada umumnya tidak merespon baik terhadap diet kolesterol karena kadar HDL plasma alamiahnya yang lebih tinggi. Secara alami tikus merupakan hewan yang sebenarnya resisten terhadap aterosklerosis kecuali diberi diet tinggi lemak dalam kadar ekstrim, injeksi vitamin D3 dosis tinggi yang akan menyebabkan kalsifikasi vaskuler, atau dipapar faktor risiko aterosklerosis lainnya, seperti diabetes melitus, hiperkortisolemia, asap rokok, diet tinggi garam, diet tinggi purin, atau dengan penambahan propiltiourasil.¹¹⁻¹⁷ Anatomi normal pada tikus tidak memiliki kandung empedu sehingga terjadi penyerapan kolesterol yang sangat sedikit pada tikus. Hal ini menjadikan profil lipid fisiologis pada tikus berbeda dengan manusia. Maka dari itu, dibutuhkan penambahan faktor risiko lain selain diet tinggi lemak untuk menimbulkan jejas endotel yang menjadi proses kunci terjadinya aterosklerosis.¹¹³ Kolat yang ditambahkan dalam diet tinggi lemak

adalah sejenis asam empedu yang fungsi aslinya adalah untuk membantu mencerna dan menyerap lemak yang didapat dari makanan. Akan tetapi, penggunaannya tidak alami dan tidak ideal karena bisa menimbulkan toksisitas yang nonspesifik. Metode induksi aterosklerosis pada tikus dengan pemberian kolat diduga akan menimbulkan proses aterogenesis yang tidak sama dengan yang terjadi pada manusia sehingga akan didapati kesulitan dalam menerjemahkan hasil penelitian nantinya.¹¹²

Pada penelitian preklinis yang akan menginduksi aterosklerosis, biasanya diperlukan kombinasi faktor risiko diet tinggi kolesterol dan pemicu terjadinya jejas endotel sehingga dapat mempercepat proses terjadinya plak. Jejas endotel yang bisa dilakukan diantaranya adalah injeksi kolesterol ester dan partikel oxLDL manusia secara intramural perkutaneus, melalui perlukaan yang ditimbulkan prosedur yang menggunakan *guidewire*, inflasi arteri dengan menggunakan balon, atau ligasi parsial vaskuler yang membutuhkan keahlian khusus dari operator, disamping metodenya yang tidak berupa faktor risiko alamiah aterosklerosis.¹¹⁴⁻¹¹⁶

Prasetyo (2002) berhasil menimbulkan lesi aterosklerotik awal pada tikus yang diberi injeksi adrenalin inisial dan dilanjutkan dengan diet kuning telur selama 14 hari. Adrenalin memicu terjadinya jejas endotel yang menjadi patomekanisme dari aterosklerosis, sedangkan diet kuning telur memastikan terjadinya kondisi hiperlipidemia. Penelitian tersebut membuktikan bahwa aterosklerosis terjadi sebagai suatu respon inflamasi dan bukan merupakan akibat sederhana dari akumulasi lipid.²² Pada manusia, aktivasi sistem saraf simpatis pada kondisi stres fisik maupun psikologis akan melepaskan adrenalin dan noradrenalin yang

meningkatkan proses lipolisis untuk diubah menjadi energi dan asam lemak bebas dalam darah.^{23,24} Peningkatan asam lemak bebas dalam darah akan menyebabkan terjadinya proses beta oksidasi yang akan menghasilkan stres ribosom pada sel sehingga terjadi stres oksidatif.^{25,26}

Terdapat metode induksi aterosklerosis dengan modifikasi genetik pada tikus yang akan dijadikan hewan coba aterosklerosis supaya memiliki jenis plak ateroma yang bisa mirip dengan yang ada pada manusia. Pada tikus hasil modifikasi diperkirakan 15% gen yang dimodifikasi berupa *knockout* biasanya akan berkembang menjadi letal dan merubah embrio tikus sehingga tidak bisa tumbuh menjadi tikus dewasa. Tikus modifikasi genetik sulit didapatkan di Indonesia, relatif mahal, dan dibutuhkan fasilitas khusus laboratorium yang bersertifikasi. Hal ini menyulitkan proses penerjemahan dan penerapan hasil penelitian dari hewan ke manusia karena tidak melalui tahapan faktor risiko yang seharusnya.^{18,19} Beberapa gen pada tikus yang telah dapat dimodifikasi untuk menghasilkan plak aterosklerosis juga menimbulkan masalah berupa plak yang terlalu rapuh akibat adanya fragmentasi serat elastika pada pembuluh darah. Hal ini berakibat pada kondisi tikus yang menjadi terlalu rentan untuk mengalami ruptur plak, trombosis, emboli, stroke, perdarahan intraplak, dan kematian yang mendadak. Model hewan coba yang demikian kemungkinan akan cukup berguna untuk mempelajari mengenai terapi pencegahan ruptur plak, tetapi kurang tepat untuk mempelajari mengenai proses aterosklerosis itu sendiri.^{108,109}

Penelitian sebelumnya memberikan kesimpulan bahwa perilaku merokok merupakan faktor risiko independen yang turut menjadi faktor resiko utama

aterosklerosis pada pembuluh darah arteri. Proses aterosklerosis terutama terjadi dengan didahului adanya disfungsi endotel terlebih dahulu. Disfungsi endotel menjadikan endotel tunika intima arteri tidak dapat menghasilkan Nitrit oksida (NO) sebagai antioksidan pembuluh darah sekaligus vasorelaksasi. Disfungsi endotel juga memiliki kenaikan ekspresi molekul adhesi dari leukosit yang ke pembuluh darah sehingga terjadi pengendapan sel sel radang ke lapisan subendotel arteri. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa terdapat lebih dari 60% kematian yang disebabkan penyakit jantung koroner pada pasien perokok dibandingkan pada populasi yang bukan perokok. Hampir separuh dari seluruh perokok rutin akan mengalami kejadian infark miokardium yang berat.¹¹⁹ Paparan asap rokok dapat mempengaruhi sistem kardiovaskuler dengan dua cara: secara langsung memberikan efek zat ROS terhadap sistem vaskuler atau menghambat kerja antioksidan alami pada sel yang normalnya bekerja secara optimal untuk mencegah kerusakan yang dapat disebabkan aktivitas ROS.¹¹⁸ Popoola dkk. Melaporkan adanya penyempitan lumen aorta pada kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 14 dan 28 hari.¹¹⁹ Anazawa dkk. Dalam penelitiannya melaporkan bahwa terdapat kenaikan rasio ketebalan tunika intima-media secara signifikan pada tikus yang dipaparkan asap rokok. Penebalan tunika intima-media arteri ini diduga dipicu oleh peningkatan ekspresi iNOS dan rangsangan proliferasi sel otot polos. Pada pemeriksaan preparat jaringan tikus yang mendapatkan paparan asap rokok dengan menggunakan mikroskop elektron, tampak sel-sel endotel yang tak beraturan dengan beberapa tonjolan kecil yang keluar dari sel. Didapati juga adanya sel sel leukosit dan trombosit yang ikut mengendap pada tunika intima.¹¹⁷

Paparan asap rokok, hiperlipidemia, dan hipertensi merupakan faktor risiko kuat terjadinya aterosklerosis yang bisa diadaptasikan pada hewan coba. Namun demikian, baik metode induksi aterosklerosis berupa paparan asap rokok, diet tinggi lemak, maupun hipertensi masing-masing belum mampu menghasilkan plak tipe lanjut pada waktu yang relatif singkat.

Induksi aterosklerosis dengan injeksi adrenalin, diet tinggi lemak, dan merokok akan menjadikan tubuh mengalami stress oksidatif. Stress oksidatif yang berlebih akan meningkatkan kadar MDA darah.²⁷ Molekul ROS yang dihasilkan dalam jumlah tinggi saat stres oksidatif dapat merusak semua biomolekul sel dari lipid, gula, protein, dan polinukleotida.³¹ Meskipun ROS dalam jumlah kecil bermanfaat untuk kelangsungan hidup setiap sel dalam organisme termasuk fungsi vaskulernya, produksi ROS berlebihan akan berdampak pada onset dan progresivitas penyakit kardiovaskuler. Peningkatan kadar ROS yang ditandai oleh peningkatan kadar MDA plasma darah merupakan proses awal yang akan menyebabkan disfungsi endotel.³²⁻³⁶

Modifikasi partikel LDL pada celah subendotel dipercayai sebagai faktor kunci terjadinya progresivitas aterosklerosis. Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya korelasi klinis yang signifikan antara kadar MDA sebagai salah satu penanda oksidasi lipid dengan progresivitas plak aterosklerosis.¹²⁰ Terdapat bukti yang menyatakan bahwa baik MDA maupun oxLDL sama-sama ada pada lesi aterosklerosis.¹²¹ Kadar MDA dapat digunakan sebagai salah satu *biomarker* terhadap terjadinya proses aterosklerosis karena sebagian besar hasil uji statistiknya berbeda secara bermakna.^{28,29,30}

Sejauh ini, belum diketahui metode induksi aterosklerosis mana yang paling berpengaruh untuk menimbulkan plak pada model hewan coba tikus non modifikasi genetik. Oleh karena itu, penting dilakukan penelitian mengenai perbedaan pengaruh metode induksi aterosklerosis terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA pada aorta dan jantung tikus wistar. Induksi aterosklerosis dengan menggunakan paparan asap rokok mengacu pada *OECD Guidline* no. 412 tentang toksisitas inhalasi subakut, yakni selama 28 hari, sedangkan induksi dengan menggunakan injeksi adrenalin inisial diikuti diet kuning telur intermitten dilakukan selama 28 hari dengan mengacu pada saran penelitian sebelumnya, yakni dengan memperpanjang masa perlakuan induksinya.^{22,175}

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

Apakah ada perbedaan pengaruh metode induksi aterosklerosis terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA aorta dan jantung ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA aorta dan jantung tikus wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Membuktikan pengaruh metode induksi aterosklerosis dengan diet kuning telur disertai injeksi adrenalin selama 28 hari terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA aorta dan jantung tikus wistar
- 1.3.2.2 Membuktikan pengaruh metode induksi aterosklerosis dengan paparan asap rokok sebanyak 4 batang per jam 5 kali sehari 5 hari per minggu selama 28 hari terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA aorta dan jantung tikus wistar
- 1.3.2.3 Membuktikan pengaruh gabungan metode induksi aterosklerosis diet kuning telur, injeksi adrenalin, dan paparan asap rokok selama 28 hari terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA aorta dan jantung tikus wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk Pendidikan

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menambah ilmu pengetahuan mengenai perbedaan pengaruh metode induksi aterosklerosis terhadap gambaran histopatologi aorta dan kadar MDA aorta dan jantung tikus wistar.

1.4.2 Manfaat Untuk Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menunjang penelitian selanjutnya dalam mempertimbangkan pemilihan metode induksi aterosklerosis pada hewan coba tikus yang akan diberi perlakuan pencegahan atau terapi aterosklerosis.

1.4.3 Manfaat Untuk Pelayanan Kesehatan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan oleh klinisi untuk mempertimbangkan stratifikasi risiko dan pencegahan pasien dengan aterosklerosis yang memiliki kebiasaan merokok, diet tinggi lemak, atau kondisi yang menunjang adanya hiperadrenalinemia seperti stress psikis, hipertensi, atau adanya penyakit pada kelenjar suprarenalis.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Berdasarkan penelusuran pustaka dengan menggunakan kata kunci: *atherosclerosis*, *aterosklerosis*, *histopatologi aorta*, dan *malondialdehyde*, yang dilakukan pada database PUBMED *National Library of Medicine Institute of Health* (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), dan www.scholar.google.com tidak didapatkan penelitian yang sama persis, namun ada beberapa penelitian yang memiliki kemiripan (Tabel 1).

Metode induksi aterosklerosis yang sering dilakukan di antaranya adalah diet tinggi lemak, diet tinggi lemak disertai injeksi adrenalin inisial, paparan asap rokok, diet tinggi purin, injeksi streptozotocin, dan injeksi vitamin D3. Data epidemiologi menunjukkan bahwa aterosklerosis yang terjadi pada manusia paling sering dipicu oleh faktor risiko hipertensi, obesitas, dan merokok. Sejauh ini belum ada penelitian yang memeriksa perbandingan metode induksi aterosklerosis berupa injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok pada tikus wistar.

Tabel 1. Keaslian Penelitian

| No. | Peneliti, Judul Penelitian | Desain, Variabel | Hasil |
|-----|--|-------------------------------|--|
| 1. | Penulis: Awal Prasetyo, Pudjadi Sarjadi Jurnal: Media Medika Indosiana Tahun: 2000 | Desain: penelitian eksperimen | Injeksi adrenalin inisial dan diet kuning telur selama 15 hari |

Judul: Pengaruh Injeksi Inisial Subyek: 20 tikus meningkatkan Adrenalin dan Diet Kuning Telur wistar jantan dibagi jumlah kadar lipid terhadap kadar lipid, jumlah sel dalam lima darah, sel busa busa, dan ketebalan dinding aorta kelompok aorta abdominalis, abdominalis tikus wistar²² Variabel bebas: dan ketebalan injeksi adrenalin dinding aorta inisial, diet kuning abdominalis, serta telur menurunkan kadar HDL darah tikus

Variabel terikat:
kadar lipid, jumlah sel busa, dan ketebalan dinding aorta

2. Peneliti: Nazlyza Lapatta, Lily Loho, Poppy Lintong
Jurnal: eBiomedik
Tahun: 2013
Judul: Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Wistar yang Terpapar Asap Rokok²⁰
- Desain: Tikus wistar yang eksperimental, post dipajan dengan asap rokok selama 20-30 hari
- test only
- Subyek: 10 tikus menunjukkan wistar yang dibagi adanya sel busa dalam tiga pada tunika intima kelompok dan media
-