

Efek Inhibitor Proteasom Terhadap Gambaran Histopatologi Jantung pada Tikus yang diinduksi Aterosklerosis

Ihhami Romus¹, Ismawati^{2*}, Indah Putri Arwandi³

ABSTRACT

Proteasome inhibitors are compounds that can inhibit the proteasome pathway in carrying out its functions. Proteasome inhibitors have a beneficial effect due to their anti-inflammatory properties. The proteasome inhibitor used in this study was bortezomib. This study aimed to analyze the effect of proteasome inhibitors on cardiac histopathology in atherosclerosis-induced rats. This study used male *Rattus novergicus* Wistar strain which was divided into 3 groups, namely the control group, the atherosclerosis-induced group and the atherosclerosis-induced group and given bortezomib. The results obtained the mean scores of edema, inflammation and necrosis in the atherosclerosis group were given bortezomib at a dose of 50 g/kgBW were less than the atherosclerosis group. These difference were statistically significant ($p < 0.05$). This study concluded that the administration of bortezomib can reduce the impact of atherosclerotic lesions on the heart muscle.

Keywords: *Atherosclerosis, Bortezomib, Histopathology, Heart*

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit tidak menular penyebab kematian nomor satu setiap tahunnya disebabkan karena adanya gangguan pada fungsi jantung dan pembuluh darah seperti penyakit jantung koroner, penyakit gagal jantung, hipertensi dan stroke.¹ Menurut data dari World Health Organization (WHO) terhitung 31% dari 56,5 juta kematian di seluruh dunia yaitu lebih dari 17 juta orang di seluruh dunia telah meninggal karena penyakit kardiovaskular. Kematian di dunia banyak diakibatkan oleh penyakit kardiovaskular, salah satu yang terbanyak yaitu disebabkan oleh Penyakit Jantung Koroner (PJK) yaitu 7,4 juta (42,3%). Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2018, di Indonesia prevalensi Penyakit Jantung Koroner (PJK) yaitu sebesar 1,5% yang mana 15 dari 1000 penduduk di Indonesia menderita Penyakit Jantung Koroner (PJK).² Salah satu penyebab dari Penyakit Jantung Koroner (PJK) adalah aterosklerosis.³

Aterosklerosis adalah penyakit inflamasi kronis yang ditandai dengan akumulasi lipid pada dinding pembuluh darah arteri sebagai akibat dari hiperlipidemia dan oksidasi lipid. Aterosklerosis ditandai dengan adanya plak ateromatosa atau plak aterosklerotik. Plak aterosklerotik dapat menjadi tidak stabil, terkikis atau pecah sehingga menyebabkan gangguan pada kardiovaskular.^{4,5} Jika aterosklerosis mengenai pembuluh darah di jantung maka dapat menimbulkan berbagai penyakit salah satunya yaitu penyakit jantung koroner, yang mengakibatkan terjadinya iskemia dan infark pada jantung. Pada penelitian ini akan dilakukan penilaian pada otot jantung yang menjadi salah satu akibat aterosklerosis.^{6,7}

Dalam tahap pembentukan aterosklerosis, terdapat tiga mekanisme utama yaitu mekanisme inflamasi, proliferasi dan apoptosis. Proteasom memegang peranan penting dalam ketiga proses tersebut.⁸ Jalur proteasom dapat dihambat oleh suatu senyawa yang disebut dengan inhibitor proteasom.⁹

METODE

Penelitian ini telah mendapatkan surat keterangan lolos kaji etik oleh Panitia Tetap

* Corresponding Author: ismawati75@yahoo.com

¹ KJFD Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

² KJFD Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

³ Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

Etik Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau dengan nomor: B/046/UN.19.5.1.1.8/UEPKK/2021. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test-only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui efek pemberian inhibitor proteasom terhadap gambaran histopatologi jantung pada *Rattus novergicus* strain Wistar jantan yang diinduksi aterosklerosis. Inhibitor proteasom yang digunakan adalah Bortezomib yang diberikan dengan intra peritoneal dengan dosis 50 µg/kgBB / hari. Penelitian ini menggunakan *Rattus novergicus* strain Wistar jantan berusia 10-12 minggu yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok yang diinduksi aterosklerosis dan kelompok yang diinduksi aterosklerosis serta diberikan bortezomib. Masing - masing kelompok terdiri dari 5 hewan coba. Induksi aterosklerosis dilakukan dengan pemberian vitamin D3 (700.000 IU/kg) peroral dengan cara intubasi lambung pada hari 1 dan pakan aterogenik berupa (kolesterol 2%, lemak kambing 5%, asam kolat 0,2%) dilanjutkan sampai 4 hari. Setelah 4 hari dilakukan terminasi dengan melakukan pembusuan tikus dengan uap eter, selanjutnya dilakukan pengambilan organ jantung dan dilanjutkan proses pembuatan preparat HE dan pemeriksaan gambaran histopatologi jantung yang terdiri dari edema, inflamasi dan nekrosis. Masing - masing dinilai dalam 5 lapang pandang besar (400X) dengan skor 0 jika tidak terdapat perubahan gambaran histopatologi (normal). Skor 1 jika terdapat edema, inflamasi, nekrosis yang fokal / setempat. Skor 2 jika terdapat edema, inflamasi, nekrosis multifokal / beberapa tempat. Perbedaan rerata skor tiap kelompok dianalisis dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

HASIL

Penelitian ini menilai dampak aterosklerosis serta efek pemberian bortezomib sebagai inhibitor proteasom terhadap gambaran histopatologi jantung tikus yang terdiri dari adanya edema, inflamasi dan nekrosis. Gambaran histopatologi jantung normal terdiri dari berkas - berkas otot jantung dengan bentuk dan ukuran yang seragam tersusun rapi, sitoplasma cukup dan inti tidak membesar dapat dilihat pada gambar 1a. Proses edema berupa terjadinya degenerasi hidrofik pada sel otot jantung dapat dilihat pada gambar 1b. Proses inflamasi dinilai apabila terdapat infiltrasi sel radang akut maupun kronis terdiri dari leukosit PMN maupun leukosit mononuklear dapat dilihat pada gambar 1c. Proses nekrosis yaitu terjadinya kematian sel otot jantung yang secara mikroskopik akan tampak lisis sitoplasma dan inti sel sehingga memberikan gambaran masa amorf eusinofilik dapat dilihat pada gambar 1d. Gambaran histopatologi dinilai dalam 5 lapangan pandang besar untuk setiap preparat HE sampel masing - masing kelompok (Kelompok kontrol 5 sampel, kelompok aterosklerosis 5 sampel, kelompok aterosklerosis ditambah bortezomib 5 sampel). Kemudian dihitung rerata skor tiap sampel dan dilanjutkan penghitungan rerata skor tiap kelompok yang dapat dilihat pada tabel 1. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan rerata skor edema, inflamasi dan nekrosis pada kelompok kontrol, aterosklerosis dan aterosklerosis ditambah bortezomib dosis 50 µg/kgBB pada dua kali pemberian yaitu hari ke-1 dan ke-3.

Tabel 1. Hasil rerata skor kerusakan otot jantung *Rattus novergicus* strain Wistar jantan pada semua kelompok perlakuan

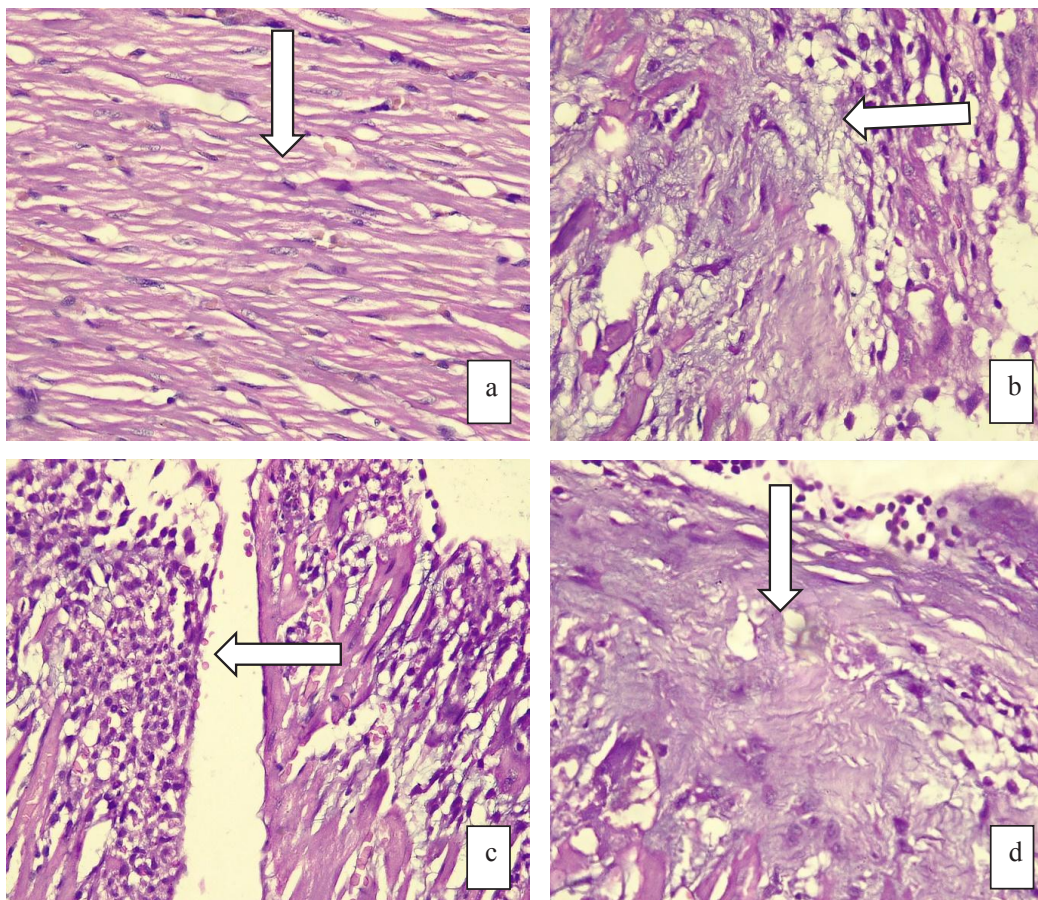
Kelompok Tikus	Skor rata-rata ± Simpangan baku		
	Edema	Inflamasi	Nekrosis
Kontrol	0,00±0,000	0,00±0,000	0,00±0,000
Aterosklerosis	2,04±0,384	1,88±0,481	2,00±0,734
Aterosklerosis + Bortezomib	0,68±0,609	0,76±0,726	0,60±0,565
	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 1, memperlihatkan rerata kerusakan otot jantung pada *Rattus novergicus* strain Wistar jantan. Pada

pengamatan edema jantung, kelompok kontrol memiliki rerata 0,00±0,000, kelompok aterosklerosis memiliki rerata 2,04±0,384, dan kelompok

aterosklerosis + bortezomib memiliki rerata $0,68 \pm 0,609$. Pada pengamatan inflamasi jantung, kelompok kontrol memiliki rerata $0,00 \pm 0,000$, kelompok aterosklerosis memiliki rerata $1,88 \pm 0,481$, dan kelompok aterosklerosis + bortezomib memiliki rerata $0,76 \pm 0,726$. Pada pengamatan nekrosis jantung, kelompok kontrol memiliki rerata

$0,00 \pm 0,000$, kelompok aterosklerosis memiliki rerata $2,00 \pm 0,734$, dan kelompok aterosklerosis + bortezomib memiliki rerata $0,60 \pm 0,565$. Perbedaan rerata skor tiap kelompok dianalisis dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji statistik memberikan nilai $p < 0,05$ untuk setiap kelompok baik pada penilaian adanya edema, inflamasi dan aterosklerosis.



Gambar 1. Gambaran histopatologi jantung tikus (HE, 400x). (a) otot jantung normal, (b) otot jantung mengalami edema, (c) otot jantung terdapat infiltrasi sel radang (inflamasi), (d) otot jantung mengalami nekrosis.

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini yaitu, gambaran histopatologi jantung pada tikus kontrol tidak ditemukannya edema, infiltrasi sel radang sebagai tanda adanya inflamasi serta tidak ditemukan adanya nekrosis. Pada kelompok aterosklerosis ditemukan adanya edema, inflamasi dan nekrosis pada otot jantung tikus. Pada kelompok aterosklerosis yang diberikan tambahan bortezomib terdapat adanya edema, inflamasi dan nekrosis yang lebih ringan dibandingkan kelompok aterosklerosis.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pemberian vitamin D3 dan diet aterogenik untuk induksi aterosklerosis. Fungsi vitamin D3 adalah untuk menstimulasi proliferasi sel otot polos dan meningkatkan kalsifikasi pada pembuluh darah, sedangkan pemberian diet aterogenik mempengaruhi penurunan pada HDL dan peningkatan pada LDL. Kondisi hiperkolesterolemia mengakibatkan produksi LDL meningkat yang dipengaruhi oleh kandungan kolesterol dan lemak kambing pada pakan aterogenik. Asam folat

berperan dalam mengubah gambaran lipoprotein dengan meningkatkan LDL dan menurunkan kadar HDL. Kondisi ini mengakibatkan kerusakan pada endotel yang berakibat terbentuknya lesi aterosklerosis.¹⁰ Pada penelitian ini tikus yang diinduksi aterosklerosis didapatkan hasil yang diinginkan yaitu didapatkan adanya edema, infiltrasi sel radang (inflamasi), dan nekrosis.

Pada penelitian Wilck *et al* (2012), pemberian inhibitor proteasom dosis rendah yaitu pemberian bortezomib 50 µg/kg dalam 2 kali seminggu selama 6 minggu pada mencit LDLR -/- dapat menekan pembentukan lesi aterosklerosis awal.¹¹ Namun, pada penelitian Wilck *et al* (2017), lebih lanjut, pemberian inhibitor proteasom dengan dosis yang sama yaitu dengan bortezomib 50µg/kg BB dua kali seminggu pada mencit LDLR -/- ternyata tidak memberikan efek terapi pada lesi aterosklerosis lanjut.¹² Pada penelitian Ismawati dkk (2020) mengenai efek pemberian inhibitor proteasom terhadap histopatologi arteri koronaria pada tikus model aterosklerosis, didapatkan bahwa dengan pemberian Bortezomib 50µg/kgBB/hari pada hari ke-1 dan ke-3 secara bermakna dapat menghambat pembentukan lesi aterosklerosis.¹⁰ Efek yang ditemukan pada inhibitor proteasom cukup beragam, tergantung durasi pemberian, dosis pemberian, lingkungan, serta jenis sel dan organ yang dipelajari, dimana efek yang timbul ada yang menguntungkan dan ada juga yang merugikan.¹³

Pada kelompok aterosklerosis yang diberikan bortezomib terdapat penurunan rerata skor jika dibandingkan dengan kelompok aterosklerosis yaitu edema dengan rerata skor 0,68, inflamasi dengan rerata skor 0,76 dan nekrosis dengan rerata skor 0,60. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ismawati dkk (2020) pemberian bortezomib dapat menghambat pembentukan lesi aterosklerosis secara bermakna.¹⁰

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan terdapat perubahan gambaran histopatologi otot jantung yaitu berupa edema, proses inflamasi dan nekrosis pada kelompok tikus yang diinduksi aterosklerosis dibandingkan kelompok kontrol dengan gambaran histologi otot jantung dalam batas normal. Pemberian bortezomib dengan dosis 50 µg/kgBB sebagai

inhibitor proteasom dapat mengurangi dampak lesi aterosklerosis pada otot jantung tikus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Riau yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Bidang Ilmu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI. Situasi kesehatan jantung. Pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan RI [Internet]. 2014;3. Available from: <http://www.depkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-jantung.pdf>
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Direktorat pencegahan dan pengendalian penyakit tidak menular Ditjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Kementerian Kesehatan RI. 2020;(September).
3. Meidayanti D. Manfaat likopen dalam tomat sebagai pencegahan terhadap timbulnya aterosklerosis. *J Med Utama* Vol 02 No 03. 2020;02(01):402–6.
4. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med*. 2014;5(8):927–46.
5. Kobiyama K, Ley K. Atherosclerosis a chronic inflammatory disease with an autoimmune component. *Circ Res*. 2018;123(10):1118–20.
6. Rahman A, Limantoro C, Purwoko Y. Faktor – faktor risiko mayor aterosklerosis pada berbagai penyakit aterosklerosis di Rsup Dr. Kariadi Semarang [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 2]. Available from: <http://eprints.undip.ac.id/37389/>
7. Sargowo D dr. SPSJ (K). Patogenesis aterosklerosis. UB Press. 2015. 165–180 p.
8. Ismawati, Oenzil F, Yanwirasti, Yerizel E. Changes in expression of proteasome in rats at different stages of atherosclerosis. *Anat Cell Biol*. 2016;49(2):99–106.
9. Ismawati, Romus I, Mukhyarjon, Salsabilqis J, Wulandari N. Effect of proteasome inhibitor on serum 8-OHdG and aortic SOD2 in a rat model

- of atherosclerosis. *Bali Med J.* 2022;11(1):391–6.
10. Ismawati I, Romus I, Utami EA. Efek inhibitor proteasom terhadap histopatologi arteri koronaria pada tikus model aterosklerosis. *J Kedokt dan Kesehat [Internet].* 2020;16(2):135–42. Available from: <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK/article/view/6062>
 11. Wilck N, Fechner M, Dreger H, Hewing B, Arias A, Meiners S, et al. Attenuation of early atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by proteasome inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(6):1418–26.
 12. Wilck N, Fechner M, Dan C, Stangl V, Stangl K, Ludwig A. The effect of low-dose proteasome inhibition on pre-existing atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4).
 13. Herrmann J, Lerman LO, Lerman A. On to the road to degradation: Atherosclerosis and the proteasome. *Cardiovasc Res.* 2010;85(2):291–302.