

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. *Endothelial Nitrite Oxide Synthase (e-NOS)*

Endothelial Nitrite Oxide Synthase (e-NOS) merupakan suatu isoenzim (Harrison & Scott, 2000). Jenis-jenis isoenzim NOS yang telah diketahui pada tubuh manusia terdapat 3 macam, yaitu *neuronal* 'n'NOS (NOS I), *inducible* 'i'NOS (NOS II), and *endothelial* 'e'NOS (NOS III). Gen e-NOS pada manusia telah teridentifikasi pada kromosom 7q (Zhao *et al.*, 2006). e-NOS paling banyak ditemukan pada sel endotel (Sessa & Fo, 2012) namun juga dapat ditemukan di *myocytes* jantung, *blood platelets*, jaringan seperti sel mast, epitel ginjal, eritrosit, leukosit, (Dudzinski & Michel, 2007) melanosit lapisan suprabasal dari epidermis, fibroblast pada dermis, dan mikrovaskuler pada sel endotel (Ikeyama & Denda, 2010).

Endothelial Nitrite Oxide Synthase (e-NOS) memiliki peran penting dalam sintesis *Nitric Oxide (NO)* oleh tubuh (Harrison & Scott, 2000). e-NOS telah diidentifikasi sebagai molekul utama dalam aktivasi dan proliferasi sel (Ying & Hofseth, 2007). *Nitrite Oxide Synthase (NOS)* memerlukan *L-arginin* sebagai bahan dasar, dan molekul oksigen serta reduksi *Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate (NADPH)* yang merupakan sumber oksigen reaktif pada endotel sebagai ko-faktor utama

(Sessa & Fo, 2012), yang selanjutnya akan diubah menjadi NO dan *L-citrulline* (Harrison & Scott, 2000)(Dhawan, 2014).



Reaksi kuat *Superoxide* (O_2^-) dengan NO pada pembuluh darah membentuk *peroxynitrite* (ONOO^-), yang mengarah pada oksidasi *tetrahydrobiopterin* (BH_4) sehingga meningkatkan produksi O_2^- oleh e-NOS yang disebut “e-NOS *uncoupling*”. *Uncoupled* e-NOS dapat terdeteksi pada keadaan yang berhubungan dengan stres oksidan, hipertensi, dan diabetes (Zhao *et al.*, 2006). *Uncoupled* e-NOS berperan dalam pembentukan ROS ketika terjadi defisiensi substrat L-arginine atau BH_4 . Keadaan ini juga dapat berubah dan e-NOS akan menghasilkan pembentukan O_2^- dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2) jika BH_4 maupun L-arginin yang berperan sebagai kofaktor kunci tidak ada (Elahi, Kong, & Matata, 2009). ROS dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Matsubara, Higaki, Matsubara, & Nawa, 2015).

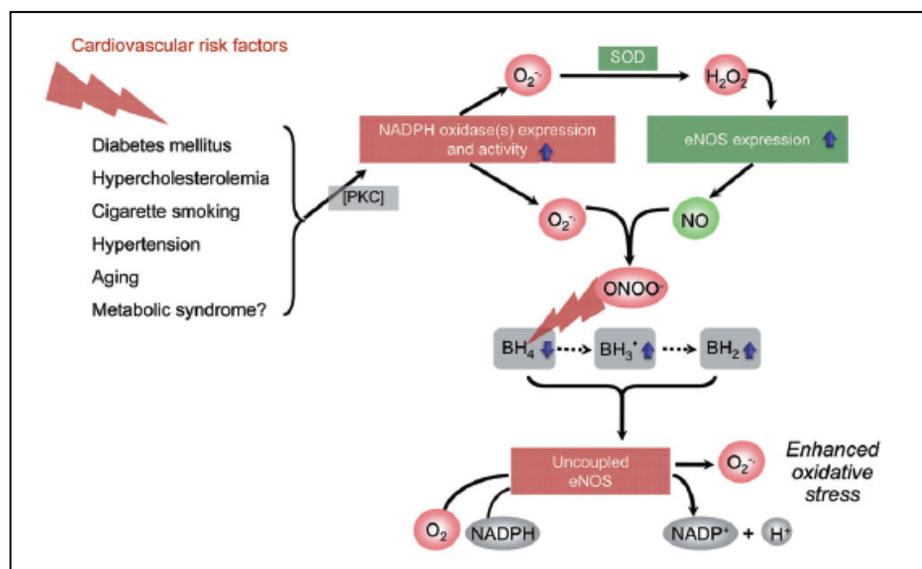
Kemampuan e-NOS untuk mengatur baik diam dan diaktifkannya endotel fenotipe, menjadikan isoenzim e-NOS memegang peran penting di pusat homeostasis endotel. Isoenzim ini juga dapat dipicu oleh molekul seperti bradykinin, ade-NOSine, *endothel vascular growths factor* dan serotonin yang dikeluarkan selama agregasi platelet (Deanfield, Halcox, & Rabelink, 2007). Keadaan ini menyebabkan hilangnya perlindungan pembuluh darah secara perlahan (Förstermann & Münzel, 2006).

Nitrit Oxide (NO) telah diketahui memiliki peran penting pada homeostasis pembuluh darah, neurotransmisi, dan mekanisme pertahanan tubuh (Bryan & Grisham, 2007). Penurunan *bioavailability* NO merupakan mekanisme utama yang berperan dalam inisiasi dan progresi dari disfungsi endotel pada penyakit vaskuler (Uscio *et al.*, 2007). Kadar NO juga berperan sebagai biomarker atau penanda semakin buruknya perkembangan fungsi endotel. NO merupakan gas hasil sintesis isoenzim e-NOS adalah zat anti-aterosklerotik yang disekresikan pada sel endotel. Dalam kadar yang sesuai, keadaan fisiologis akan merangsang produksi dan pelepasan NO sehingga nantinya akan berdifusi pada sekeliling jaringan dan sel, sebagai proteksi, melemaskan sel-sel otot halus, mencegah perlekatan dan migrasi leukosit ke dinding arteri, proliferasi sel otot, adhesi dan agregasi platelet, dan pengeluaran molekul adhesi (Versari *et al.*, 2009). Pertahanan utama sel endotel terhadap kerusakan pembuluh darah adalah e-NOS (Zhao *et al.*, 2006). Hasil penelitian dari (Sessa & Fo, 2012) telah diketahui beberapa fungsi dari e-NOS pada sistem kardiovaskule, yaitu memiliki efek:

- a. Vasodilatasi dan Inhibisi agregasi dan adhesi platelet
- b. Mencegah adhesi leukosit dan inflamasi vaskular
- c. Mengendalikan proliferasi otot polos pembuluh darah
- d. Menstimulasi angiogenesis melalui e-NOS *derivate* NO
- e. Aktifasi progenitor sel endotel melalui NOS *derivate* NO.

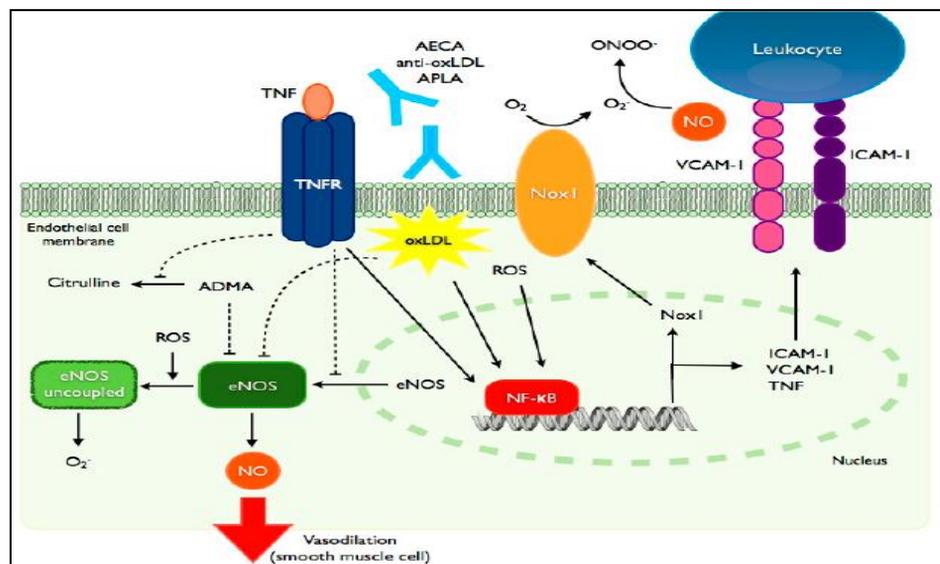
Kehilangan NO merupakan mekanisme utama pada patogenesis gangguan vaskuler yang berpengaruh pada pembuluh darah otak maupun pembuluh darah tepi. Keadaan ini menyebabkan terjadinya perubahan yang merusak fungsi vaskuler, termasuk kecenderungan terhadap vasokonstriksi, meningkatnya tekanan darah arteri, dan perkembangan aterosklerosis. Hilangnya NO pada endotel juga menyebabkan proliferasi sel-sel otot, agregasi platelet, adhesi sel darah putih, dan inflamasi yang memegang peran penting pada inisiasi dan perkembangan penyakit vaskuler (Katusic & Austin, 2014).

Meningkatnya kadar e-NOS, dapat menjadi salah satu pemicu terjadinya gangguan vaskuler. Mekanisme meningkatnya e-NOS lebih dipengaruhi oleh proses yang melibatkan hydrogen peroxide (H_2O_2) (Förstermann & Li, 2011).



Gambar 1. Mekanisme terjadinya aterosklerosis dan penyakit kardiovaskular yang berkaitan dengan regulasi e-NOS (Förstermann & Li, 2011)

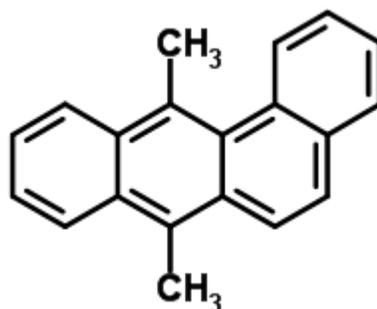
Mekanisme menurunnya ekspresi dari e-NOS telah diketahui dapat disebabkan oleh berbagai faktor *endogenous*. TNF- α (*tumor necrosis factor- α*) mengeluarkan efek pada endotel melalui reseptor TNFR. Pengikatan TNFR oleh TNF- α dapat menyebabkan menurunnya e-NOS. TNFR menekan aktivitas e-NOS dengan cara mencegah pemecahan dari *inhibitor endogenous* yaitu, ADMA (*asymmetric dimethylarginine*). TNFR mampu merangsang faktor transkripsi NF- κ B sehingga meningkatkan ekspresi dari molekul adhesi interselular (ICAM-1: *intercellular adhesion molecule-1*; VCAM-1: *vascular cell adhesion molecule-1*), TNF- α dan Nox1 (NADPH-oxidase-1). NF- κ B *induction* juga dimediasi oleh oxLDL, ROS, dan ikatan berbagai antibodi (AECA: *anti-endothelial cell antibodies*; APLA: *antiphospholipid antibodies*; anti-oxLDL: *anti-oxidized LDL antibodies*) Oksidasi LDL juga mampu menghambat aktivitas e-NOS (Steyers & Miller, 2014).



Gambar 2. Mediator dari disfungsi endotel pada penyakit inflamasi (Steyers & Miller, 2014).

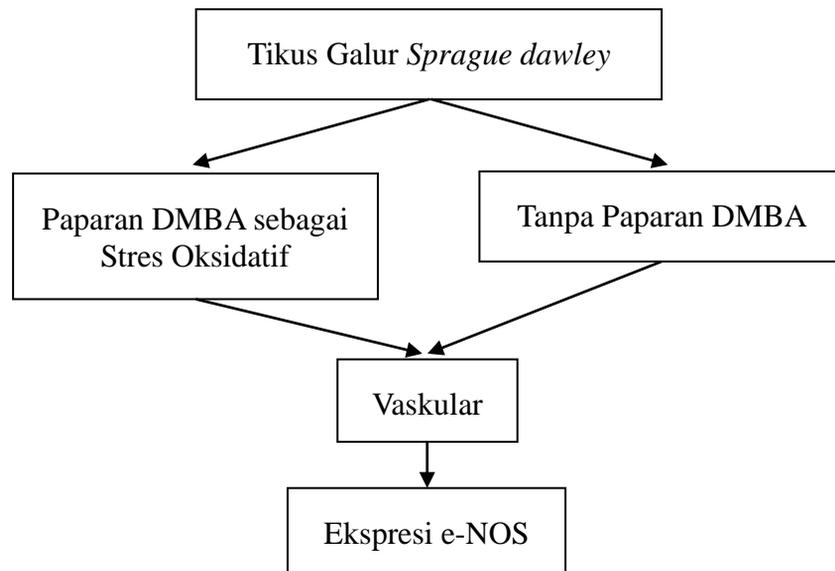
2. 7,12-Dimetilbenz[*a*]antrasena (DMBA)

7,12-Dimetilbenz[*a*]antrasena (DMBA) merupakan senyawa kimia yang memiliki cincin aromatik. Terdapatnya ikatan cincin aromatik ini menjadikan DMBA termasuk salah satu *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) dan dapat ditemukan dalam polutan yang terdapat di lingkungan sekitar (Panee, 2009). DMBA termasuk dalam salah satu oksidatif kuat, zat karsinogenik, dan zat mutagenik faktor (Yu, 2013). DMBA dapat menjadi salah satu stres oksidatif untuk endotel. Zat oksidatif kuat ini dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara pembentukan ROS dan penguraian ROS yang seharusnya sangat terkontrol. Zat oksidatif menyebabkan meningkatnya produksi ROS sehingga sistem antioksidan alami di dalam tubuh tidak mampu lagi mengkompensasi. Keadaan ini merupakan salah satu mekanisme yang menyebabkan terjadinya kondisi patologis (Le, 2014) pada sistem pertahanan endotel yaitu e-NOS maupun NO.



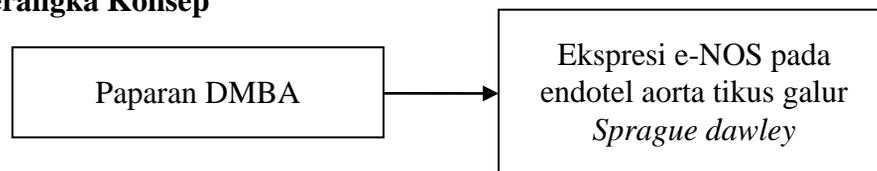
Gambar 3. Struktur kimia DMBA, memiliki 4 cincin aromatik yang berikatan khas struktur PAH dengan tiga atau lebih cincin aromatik dan 2 substituen metil (Zhang & Jiang, 2011).

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Bagan kerangka teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 5. Bagan kerangka konsep

D. Keterangan Empiris

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh gambaran perbandingan dari ekspresi e-NOS pada endotel tikus galur *Sprague dawley* yang terpapar dan tidak terpapar *7,12-Dimetilbenz[α]antrasena* (DMBA) berdasarkan persen area.