

PERAN VITAMIN C PADA DISFUNGSI ENDOTEL SEBAGAI PENYEBAB ATEROSKLEROSIS

Maria Selvester Thadeus

Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UPN "Veteran" Jakarta
Jl. RS. Fatmawati Pondok Labu, Jakarta Selatan - 12450
Telp. 021 7656971

Abstract

The role of vitamin C or ascorbic acid has been proposed in the prevention of atherosclerosis. The possibility is discussed that the antioxidant effect of vitamin C might be protective against and possibly propitious to atherosclerosis. Some evidence suggests that oxidative modification of low density lipoprotein (LDL) may be of the particular importance in the pathogenesis of atherosclerosis because oxidized LDL exhibits proatherogenic effect. In addition to oxidative modification of LDL hypothesis, inflammatory process potentiated by cytokines also importantly contributes to the pathogenesis. These complex mechanisms presumably participate in endothelial injury resulting in impaired releasing factors, such as nitric oxide (NO) and prostanooids, taking part in abnormal vascular tone. Therefore, vasoactive substances produced from endothelium and their pathways may be modulated by both cytokines and oxidized LDL induced oxidative stress. Recently, antioxidants have been determined that can prevent LDL oxidation beneficial to the inhibition of atherosclerotic process. In animal models, vitamin C has been shown to attenuate the oxidation of LDL and atherosclerotic lesions. Population studies suggest an inverse relationship between vitamin C intake and the development of atherosclerosis, although the effect has not yet been proven in clinical research. A possible mechanism for the antiatherogenic effect of vitamin C is the prevention of oxidation of LDL. Furthermore, the potential effects of vitamin C on the metabolism of NO and prostanooids as well as in the defense on monocyte adherence might particularly improve endothelial function in atherosclerosis.

Key Words: atherosclerosis, endothelial dysfunction, ascorbic acid

PENDAHULUAN

Aterosklerosis timbul sebagai akibat dari disfungsi endotel yang merupakan manifestasi utama dari penyakit jantung koroner (PJK), dan menjadi penyebab utama *morbiditas* dan *mortalitas* di negara-negara barat. Sejak dua dekade terakhir terjadi penurunan *mortalitas* dan *morbiditas* PJK di Amerika dan sebagian besar negara Eropa. Hal ini terjadi berkat keberhasilan dalam upaya pencegahan baik primer maupun sekunder terhadap faktor risiko utama PJK yang dikenal seperti hipertensi, merokok dan *dislipidemia* dan juga berkat dipakainya obat-obat baru serta diterapkannya terapi intervensional oleh para klinikus. Namun demikian, di negara-negara Asia justru PJK meningkat, pada-

hal populasi Asia merupakan separuh populasi dunia. (Gale RC dkk, 2001) Selain berbagai hipotesis klasik, hipotesis-hipotesis baru aterosklerosis pada 10 tahun terakhir ini menyangkut peranan penting dari disfungsi endotel, inflamasi/infeksi, auto imun dan faktor genetik.

Proses inflamasi yang diperantarai oleh molekul adhesi, sitokin seperti IL-1 β , TNF- α , dan *eicosanoid* berperan pada kerusakan endotel yang menyebabkan disfungsi *vasodilator* endotel dalam aterosklerosis.

Sejak lebih dari 10 tahun yang lalu para peneliti membuktikan adanya peran inflamasi dan infeksi pada patofisiologi aterosklerosis dengan ditemukannya antibodi terhadap *Chlamyudia pneumonia* dan *Helicobacter pylori* secara serologik pada pen-

derita PJK dan sel T pada plak aterosklerosis. Penelitian selanjutnya membuktikan adanya peranan berbagai virus dari jenis herpes terutama *cytomegalovirus* sebagai faktor penyebab terjadinya proses aterosklerosis. Karena itu pada tahun-tahun terakhir dikembangkan konsep infeksi dan inflamasi dalam patogenesis aterosklerosis yang disebut sebagai hipotesis inflamasi atau auto imun patogenesis aterosklerosis. (Plotnick GD, dkk. 1997)

Modifikasi oksidasi pada hipotesis LDL juga telah dikaitkan sebagai penyebab aterosklerosis. Hasil dari ketidakseimbangan lipoprotein subendotel dan potensial oksidasi, hasil oksidasi, khususnya LDL yang teroksidasi (ox-LDL), terkumpul dan membentuk *cascade* dari siklus tidak terkendali yang dikaitkan dengan stres oksidatif mengawali pembentukan busa sel dan yang diikuti pembentukan plak aterosklerosis ateroma.

Mekanisme yang tepat dari *oxidative stress* yang terjadi karena pembentukan radikal bebas yang berlebihan sehingga kemampuan untuk memproteksi diri terhadap aterosklerotik dalam vaskuler tidak dimengerti dengan baik, tetapi mungkin disebabkan karena kontributor ganda. Radikal bebas yang memperantarai oksidasi merupakan mekanisme modifikasi LDL dalam dinding vaskuler dan membantu kerja makrofag melalui jalur *scavenger receptor*.

Ox-LDL dapat menyebabkan aterosklerosis melalui mekanisme kemoatraktif dari monosit dan sel otot polos, sitotoksitas terhadap endotel dan sel otot polos, inhibisi NO dan rangsangan proliferasi sel otot polos. Lebih lagi, perusakan radikal bebas dapat menyebabkan luka pada dinding arteri dan mempercepat proses penipisan antioksidan (seperti vitamin C atau *α-tocopherol*), protein peroksidasi dan aktivasi dari interaksi *fagosit-platelet-sel* endotel. Ox-LDL dan radikal bebas, keduanya dapat menginaktivasi NO. Dan ekspresi gen molekul adhesi sebagai akibat pengerahan lekosit mononuclear mungkin diinduksi oleh stres oksidatif sebagai sinyal penting intraseluler dalam patogenesis aterosklerosis. (Plotnick GD, dkk, 1997)

Konsep patogenesis yang banyak dianut para peneliti bidang aterosklerosis saat ini adalah hipotesis *response-to-injury* dengan disfungsi endotel sebagai pemeran utama ditambah dengan faktor lain seperti LDL-C (yang menjadi ox-LDL) dan infeksi. Karena itu konsep patofisiologi aterosklerosis merupakan konsep dengan mekanisme multifacet dan multifaktorial dan terus berkembang. Hipotesis pathogenesis aterosklerosis manapun yang akan dipakai, semua peneliti berpendapat sama bahwa disfungsi endotel tetap merupakan kelainan dini dan

pemicu utama pada proses aterosklerosis.

Penelitian-penelitian sebelumnya mempunyai keterbatasan dalam mendukung hipotesis yang menyatakan bahwa diet dengan antioksidan vitamin C mungkin memperlambat progresi aterosklerosis. Secara klinis belum didapatkan keuntungan anti-aterogenik dari antioksidan vitamin C pada penyakit aterosklerosis manusia. (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000)

Pertanyaan klinis yang penting adalah apakah vitamin C dapat mencegah dan memperbaiki kerusakan akibat aterosklerosis. Hal ini perlu diklarifikasikan karena akan menjadi nilai informasi tentang pemasukan nutrisi optimal seperti juga antioksidan yang menjadi tambahan perlakuan terhadap aterosklerosis.

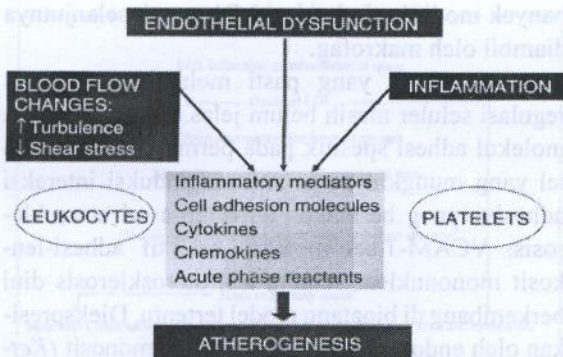
Dalam makalah ini dibatasi pembahasan mengenai peran vitamin C dalam pencegahan proses aterosklerosis, khususnya dalam memperbaiki disfungsi endotel.

PEMBAHASAN

Hipotesis klasik aterosklerosis.

Aterosklerosis adalah suatu proses penyakit yang bersifat *multifacet* dan multifaktorial, karena banyaknya faktor yang ikut berperan pada patogenesisnya. Alur terjadinya proses tersebut tidak mungkin sama untuk semua orang. Sebagai contoh patofisiologi aterosklerosis pada hipertensi akan sangat berbeda dengan aterosklerosis pada penderita *diabetes mellitus* (DM) atau *dislipidemia*. Karena perbedaan faktor risiko yang ada, bahkan patofisiologi aterosklerosis satu penderita DM akan berlainan dengan penderita DM lainnya. Hal ini disebabkan oleh ada atau tidaknya faktor genetik pada individu tersebut (seperti adanya ACE *polymorphisms* dan *human leucocyte antigen* (HLA)-DR genotip klas II yang dikenal sebagai *genetic markers* untuk aterosklerosis dan PJK).

Selain adanya disfungsi endotel, hal lain yang penting untuk terjadinya proses aterosklerosis adalah adanya perbedaan respons yang karakteristik dari satu arteri dengan lainnya misalnya pada arteri koronaria, serebral dan brakhial.) lebih dari satu abad yang lalu telah membuat hipotesis untuk menerangkan kelainan pada pembuluh darah yang kemudian dikenal sebagai *Triad Virchow*. Menurut Triad ini untuk terjadinya suatu kelainan pembuluh darah harus ada tiga unsur yang ikut berperan yaitu kelainan dinding arteri, aliran darah dan konstituen zat yang ada dalam darah.



Gambar 1. Proses aterosklerosis.
Sumber: Howard-Alpe G M et al. Br. J. Anaesth.2006

Penjabaran dari *Triad Virchow* masa kini antara lain adalah disfungsi endotel (merupakan kelainan dinding vaskuler), turbulensi aliran darah (hipertensi sebagai abnormalitas aliran darah yang menyebabkan jejas pada dinding arteri, efek toksik konstituen darah seperti gula darah, dan lainnya).

Hipotesis respons terhadap jejas

Menurut hipotesis ini kelainan dini pada patofisiologi aterosklerosis adalah adanya kerusakan endotel vaskuler berupa hilangnya lapisan endotel (*endothelial denudation*). Pada perkembangannya ternyata kelainan pada endotel ini bukan merupakan *denudasi* tetapi disfungsi endotel serta kelainan pada lapisan intima yang terjadi akibat penyakit atau kelainan metabolisme. Disfungsi endotel ini akan menyebabkan meningginya permeabilitas lapisan endotel, terjadi ekspresi glikoprotein adhesi ICAM-1 (*inter cellular adhesion molecules*) dan VCAM-1 (*vascular cells adhesion molecules*) dan protein kemotaktik. Akibatnya akan terjadi aktivasi agregasi platelet dan monosit. Monosit tersebut kemudian masuk ke lapisan sub endotel dari intima dan bertemu dengan sel otot polos (*smooth muscle cells/SMC*) yang migrasi dari lapisan media. Proses selanjutnya adalah pembentukan sel busa.

Apabila proses ini terus berlanjut, maka pada lesi aterosklerotik tersebut kemudian menjadi *fatty streaks*. Pada tahap berikutnya *fatty streaks* akan membentuk lapisan fibrotik di bagian lumen yang disebut *fibrous cap* yang sebenarnya merupakan mekanisme proteksi, dan bagian yang disebut *shoulder region* dengan penumpukan zat-zat extra cellular matrix (ECM) pada dinding vaskuler. Pada keadaan ini proses aterosklerosis sudah sampai pada tahap lanjut dan disebut sebagai plak aterosklerotik. *Shoulder region* dari plak aterosklerotik ini sangat rentan ruptur. Kejadiannya rupturnya plak itulah yang secara klinik dikenal sebagai *angina pectoris* atau infark jantung dan yang merupakan bagian dari *acute coronary syndromes*.

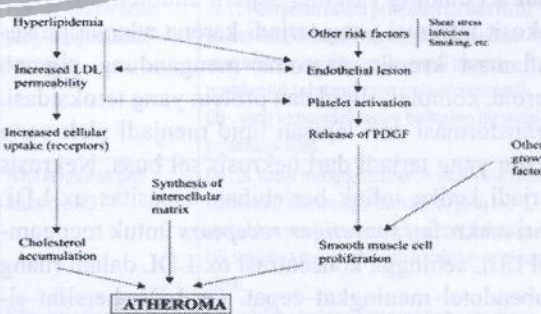
Hipotesis kelainan lipid atau lipoprotein

Yang dianggap sebagai pemicu dari pathogenesis aterosklerosis adalah kadar lemak abnormal dalam darah (*dislipidemia*) terutama LDL-C yang berubah sifat kimiawinya menjadi *oxidized LDL* (ox-LDL) yang kemudian akan membentuk *foam cell* (sel busa) pada lapisan intima setelah melalui beberapa tahap. Hipotesis ini belakangan berubah konsep, karena ternyata pada sirkulasi tidak ada ox-LDL. Yang ada hanya LDL-C yang utuh. LDL ini menembus lapisan endotel yang rusak, mengalami proses modifikasi dan kemudian menjadi bentuk ox-LDL. Ox-LDL ini bersifat kemoatraktan untuk sel monosit dan SMC. Sel-sel monosit akan menempel pada endotel dan kemudian menembus masuk ke dalam lapisan sub endotel, menjadi sel makrofag. Dengan perantara *scavenger reseptor* yang ada pada permukaan endotel dan *putative LDL receptors*, ox-LDL akan ditelan (proses internalization) oleh sel makrofag yang peroxides dan memfasilitasi akumulasi kolesterol ester, sehingga akhirnya terbentuklah sel busa.

Hipotesis monoklonal

Nama lain hipotesis ini adalah *monoclonal SMC proliferation hypothesis* yang beranggapan terjadinya proses aterosklerosis akibat adanya perubahan *genetic* pada SMC sehingga mampu berproliferasi. Perubahan *genetic* ini dapat ditimbulkan oleh infeksi virus, bakteri atau zat yang bersifat toksik termasuk kolesterol dan lainnya. Teori ini tidak banyak diminati bahkan sudah ditinggalkan.

Multifactorial Theory on the Origin of Atherosclerosis



Gambar 2. Histopatologi dan Patogenesis Ateroma
Sumber: Zaman, A.G., dkk, 1999

Patogenesis Aterosklerosis

Aterogenesis dimulai ketika terjadi jejas pada endotel arteri. Pada lesi dini aterosklerosis, bentuk sel endotel dan fungsinya masih normal. Di bawah endotel terdapat tudung jaringan yang terdiri atas sebagian besar kolagen ekstraseluler, fibrin, elas-

tin, dan proteoglicans, kadang-kadang sel busa dan modifikasi SCM. Lapisan lebih dalam di antara dinding pembuluh di bawah tudung fibrous (*fibrous cap*) terdapat beberapa lapisan dari SMC selang-seling dengan makrofag dan sel busa. Makrofag yang berproses dan lipid ekstraseluler dalam LDL diaktifkan dan dirubah menjadi sel busa yang sering terakumulasi dan kemudian mengawali lapisan lemak. Maka terbentuklah lesi pertama aterosklerosis yang mungkin berfungsi sebagai prekursor plak aterosklerosis. (*Enrique Caballero, dkk, 2006*).

Paparan jejas pada endotel, memicu berbagai mekanisme yang menginduksi dan mempromosi lesi aterosklerotik, yaitu mekanisme 1) untuk menghasilkan efek sitopatik pada sel endotel dan miosit, 2) pembentukan toksin yang bersirkulasi atau kompleks imun yang berdeposit pada dinding pembuluh darah, 3) untuk menimbulkan respon inflamasi, 4) untuk menginduksi perubahan prostaglandin serum dan metabolisme lipid, atau 5) untuk menimbulkan keadaan hiperkoagulan yang dapat meningkatkan risiko thrombosis. (<http://www.americanheart.org/>)

Studi invitro menunjukkan bahwa *native LDL (unmodified)* tidak ikut berkontribusi terhadap perkembangan lesi aterosklerosis. Lipoprotein ini bisa ditransformasikan menjadi agen aterogenik melalui beberapa mekanisme, antara lain asetilasi, glikasi *nonenzimatik* dan oksidasi. Hal ini disebabkan karena modifikasi oksidatif dari LDL mungkin lebih bermakna dan banyak aterogenik dari *native LDL* diproses melalui berbagai cara sebab modifikasi oksidatif diambil secara cepat oleh makrofag (*Jacob RA, 1996*).

Ateroma adalah kelompokan sel yang terdiri dari sel dinding vaskuler seperti endotel. SMC dan lekosit infiltrasi yang terjadi karena adanya proses inflamasi kronik. Ateroma mengandung pigmen ceroid, kompleks lipid dan protein yang teroksidasi. Transformasi dari lapisan lipid menjadi plak yang matur yang terjadi dari nekrosis sel busa. Nekrosis terjadi ketika influk berlebihan kapasitas ox-LDL dari makrofag *scavenger receptors* untuk mengambil LDL sehingga konsentrasi ox-LDL dalam ruang subendotel meningkat cepat. Ox-LDL bersifat sitotoksik terhadap makrofag, SMS dan sel endotel. Sebagai racun sel busa, sel nekrosis melepaskan ox-LDL intraseluler dan enzim lisosomal serta radikal bebas yang selanjutnya melukai perbatasan sel dan komponen interstitial, baik secara langsung maupun induksi respon inflamasi. (*lihat gambar 2*).

Ox-LDL menyebabkan kerusakan endotel, agregasi platelet, adhesi dan aktivasi. Degranulasi platelet melepaskan PGRF (*platelet-derived growth factor*) dan menghasilkan sekresi yang memper-

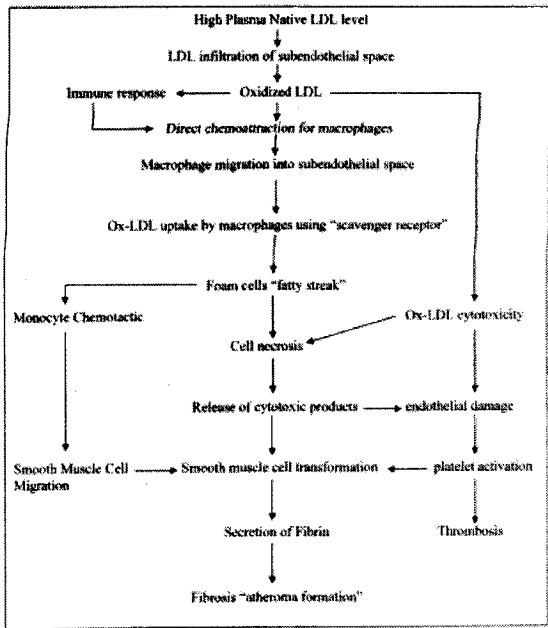
banyak modifikasi oksidasi LDL untuk selanjutnya diambil oleh makrofag.

Mekanisme yang pasti melalui perantaraan regulasi seluler masih belum jelas. Tampak adanya molekul adhesi spesifik pada permukaan sel endotel yang mungkin berperan menginduksi interaksi adhesive yang bermakna terhadap awal aterosklerosis. VCAM-1, sel molekul selektif adhesi-leukosit mononuklear selama lesi aterosklerosis dini berkembang di binatang model tertentu. Diekspresikan oleh endotel melalui pengerahan monosit (*Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000*).

Ditambah dengan peran sitokin sebagai protein mediator inflamasi dan imunitas yang berhubungan dengan regulasi dari banyak aspek patologi vaskuler pada aterosklerosis. Contoh sitokin yang mengetahui lokasi ateroma pada manusia adalah TNF- α dan IL- β diturunkan dari SMC dan sel endotel yang mengawali respons imun lokal dan inflamasi sama baiknya dengan ekspresi dari molekul adhesi, sitokin kemoatraktan seperti IL-8 atau IL-1 sendiri yang kemudian dapat mengerahkan fagosit. Jadi baik ox-LDL dan mediator inflamasi menyebabkan ekspresi sel endotel dari protein adhesi yang menangkap leukosit dan mengerahkan lekosit ke sisi awal lesi aterosklerosis.

Komponen inflamasi juga berperan dalam aterosklerosis, antara lain prostanooids khususnya golongan prostaglandin seperti PG12, produk major dalam sel endotel, yang juga mengatur irama vaskular melalui aksi dari SMC, endotel, platelet dan leukosit. Karena PG12 adalah inhibitor yang potensial dari agregasi platelet, aktivasi leukosit dan adhesi, kontraksi SMC dan migrasi serta pertumbuhan dan akumulasi ester kolesterol dalam sel vaskuler, ikut serta dalam hipersensitivitas dan berfungsi dalam proses protrombotik dan proaterosklerosis.

Oleh karena itu perubahan fungsi endotel sangat penting dalam proses aterosklerosis karena endotel meregulasi irama vaskuler dengan melepaskan mediator vasoaktif major termasuk PG12, ET-1 dan NO termasuk dalam relaksasi dan kontraksi dalam koagulasi dan pembentukan thrombus dan dalam inhibisi pertumbuhan dan stimulasi. Hal ini dikarenakan perusakan sel endotel dan berikutnya pembentukan kerusakan dari mediator vasoaktif memperburuk regulasi dari irama vasomotor dalam *coronary artery disease*.



Gambar 3. Postulated Pathway of Atherogenesis
Sumber: Kertawatsakul U, dan Akarasereenont P, 2000

Oksidasi dan Aterosklerosis

Tubuh manusia mempunyai berbagai macam pertahanan yang berbeda terhadap antioksidan. Namun demikian tidak ada pertahanan antioksidan yang efektif 100%. Akibat berkurangnya pertahanan terhadap antioksidan dan atau peningkatan hasil *reactive oxygen species* (ROS) dapat menyeimbangkan ROS-antioksidan dan menyebabkan stres oksidatif, yang mungkin menghasilkan luka jaringan, termasuk kerusakan DNA, lipid dan protein di tubuh manusia. ROS merupakan gabungan yang tidak hanya terdiri dari radikal oksigen saja seperti O_2^- dan OH^- , tetapi juga beberapa turunan nonradikal oksigen seperti H_2O_2 , *hypochlorous acid* (HOCl) dan O^\bullet (Jacob RA, 1996).

Kerusakan terhadap target molekul yang berbeda dalam menghasilkan sel luka oleh stress oksidatif juga tergantung pada tingkat mekanisme stres oksidatifnya, untuk berapa lama dan alamiahnya dari sistem stres. Contoh lipid peroksidasi pada dinding arteri yang luka menimbulkan stress oksidatif. Bagaimanapun juga semua sel mempunyai kemampuan untuk mentolerir stress oksidatif ringan, yang sering meningkatkan sintesis dari pertahanan terhadap sistem antioksidan (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000).

Modifikasi Oksidasi Dari Lipoprotein

Reaksi rantai radikal bebas dari oksidasi LDL berperan penting dalam progresi aterosklerosis (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000). Walaupun hipotesis oksidasi aterosklerosis masih

belum terbukti, kejadian oksidasi yang mengacu ke aterosklerosis semakin kuat, karena ox-LDL ditemukan pada lesi aterosklerosis manusia, dan terdapat peningkatan titer *autoantibody* terhadap ox-LDL dalam plasma pasien dengan aterosklerosis. Penelitian yang menggunakan antioksidan memberikan gambaran yang mendukung.

Ada dalil yang mengatakan bahwa ox-LDL dapat menghambat relaksasi endotel dan meningkatkan kontraksi endotel, sehingga menghasilkan irama vaskuler yang mengakibatkan *vasospasme* dan pembentukan thrombus yang umumnya ditemukan pada pasien dengan *coronary artery disease*. Menariknya peroksida dan ox-LDL teroksidasi menghasilkan *cyclooxygenase* (COX) dan reaksi *lipoxygenase catalyzed* di endotel, mengacu pada pembentukan eicosanoids. Eicosanoids, terutama metabolit *cyclooxygenase* dari asam arakhidonat juga berperan dalam pathogenesis aterosklerosis. Jadi stres oksidatif yang disebabkan oleh ox-LDL dapat berefek pada fungsi vaskuler oleh berbagai mekanisme termasuk ketidak-seimbangan prostaglandin.

Tabel 1. Sifat-sifat potensial aterogenik dari ox-LDL.

| | |
|---|---|
| Pembentukan sel busa | Akumulasi ox-LDL di makrofag yang mempunyai <i>scavenger receptor</i> berlebihan untuk LDL dan mengakibatkan pembentukan sel busa. |
| Kerja kemotaktik dan aktivitas sitotoksik | Ox-LDL menstimulasi monosit untuk masuk ke dalam ruang sub endotel pada dinding arteri secara langsung, dan tidak langsung dengan memperantarai ekspresi VCAM-1 pada endotel. ox-LDL memacu akumulasi monosit dan SMC, selain itu sifatnya yang sitotoksik mengakibatkan kerusakan endotel dan SMC. |
| Produksi radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan | Ox-LDL berperan dalam pelepasan O_2 dan H_2O_2 ekstraselular oleh sel endotel, yang kemudian akan berinteraksi dengan ion metal transisi, membentuk substansi yang merusak seperti OH^- , yang kemudian secara bermakna memulai peroksidasi lipid. |
| Hasil kerusakan dan inaktivasi NO | Ox-LDL dapat mengganggu keberadaan L-arginin intraseluler dan menginaktivasi NO yang menyebabkan perubahan respon endotel terhadap NO, sehingga mengakibatkan hambatan relaksasi arteri. |
| Stimulasi sekresi ET-1 | ET-1 adalah vasokonstriktor penting yang mungkin berperan dalam berbagai jenis penyakit kardiovaskuler. Ekspresi mRNA ET-1 dapat diinduksi oleh ox-LDL pada kultur sel endotel aorta. |

Sumber: Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P, 2000

Fungsi Normal Endotel

Lapisan endotel letaknya sangat strategis, sebagai lapisan pembatas antara dinding pembuluh darah dengan sirkulasi darah. Lapisan endotel yang merupakan organ autokrin, parakrin dan endokrin,

bukan merupakan lapisan yang tidak berfungsi, tetapi justru berfungsi sangat penting sebagai mediator yang memodulasi kontraksi dan relaksasi otot polos pembuluh darah, trombogenesis, perombakan zat-zat lemak, reaksi inflamasi dan pertumbuhan pembuluh darah, adhesi molekuler (ICAM dan VCAM) dan agregasi trombosit serta adhesi leukosit (Perticone F, dkk, 2001).

Dalam keadaan fisiologi normal, endotel membentuk NO dan prostasiklin yang bersifat vasodilator yang sebelumnya dikenal sebagai *endothelial derived relaxing factor* (EDRF). NO dibentuk dari L-arginin oleh enzim katalitik *nitric oxide synthase* (NOS) yang ada dalam sel endotel (eNOS).

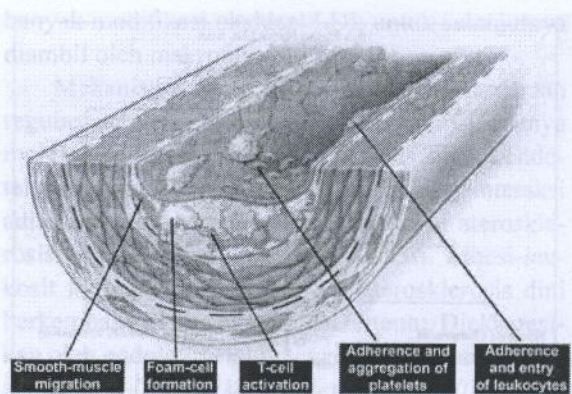
NO adalah radikal bebas yang bekerja cepat dan singkat dengan waktu paruh hanya beberapa detik. NO mengakibatkan vasodilatasi lokal dengan cara mengaktifkan *guanilat siklase* sel otot polos, yang selanjutnya akan meningkatkan produksi *cyclic-3', 5'-guanosin monofosfat* (cGMP). Sel endotel juga melepaskan prostasiklin dan EDRF sebagai respon terhadap rangsang yang sama dengan yang menyebabkan pelepasan NO. Faktor-faktor ini masing-masing mengaktifkan *cyclic-3', 5'-adenosin monofosfat* (cAMP) dan saluran kalium yang sensitif terhadap ATP.

Prostasiklin terutama berperan dalam inaktivasi trombosit, walaupun efek penghambatannya secara sinergis diperkuat oleh NO. Keberadaan EDRF diketahui karena sel otot polos pembuluh darah mengalami hiperpolarisasi selama relaksasi yang tidak tergantung pada NO. Faktor hiperpolarisasi merupakan metabolit asam arakhidonat yang labil.

Zat vasokonstriktor yang dibentuk oleh sel endotel adalah *Endotelin-1* (ET-1) yang merupakan vasokonstriktor yang paling kuat, tromboksan A2 dan prostaglandin H2. ET-1 dapat merangsang proliferasi SMC vaskuler dan secara tidak langsung dapat mempengaruhi fungsi trombosit, sedangkan tromboksan A2 (TXA2) dan prostaglandin H2 (PGH2) mampu secara langsung mengaktifkan trombosit (Gambar 2).

Pada keadaan normal, endotel mempunyai bermacam fungsi yaitu: 1) mencegah adhesi sel darah, 2) menjaga permukaan pembuluh darah tetap *non* trombotik, 3) modulasi tonus pembuluh darah untuk tetap dalam keadaan dilatasi, dan 4) menghambat proliferasi SMC.

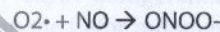
Jejas dengan penyebab apapun pada lapisan endotel sehingga mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel, mengakibatkan semua fungsi tersebut berubah sehingga terjadilah vasokonstriksi, adhesi trombosit dan monosit yang disertai dengan proliferasi SMC vaskuler.



Gambar 4. Kelainan dini pada pathogenesis aterosklerosis
Sumber: webmaster@gladstone.ucsf.edu

Nitric Oxide (NO) inaktif

Pada disfungsi vaskuler endotel atau pada keadaan stress oksidatif didapatkan NO inaktif oleh anion superoksida (O_2^-) yang hampir semuanya diproduksi oleh fagosit dan selanjutnya menghasilkan anion peroksinitrit ($ONOO^-$)



O_2^- dapat juga berperan sebagai vasokonstriktor dan $ONOO^-$ mungkin tidak hanya toksik tetapi juga dapat mengalami dekomposisi dan menghasilkan OH^\bullet . Akibatnya penurunan *bioavailabilitas* dari NO mungkin terjadi karena penurunan produksi karena kerusakan endotel atau penambahan degradasi oleh radikal bebas turunan oksigen khususnya O_2^- .

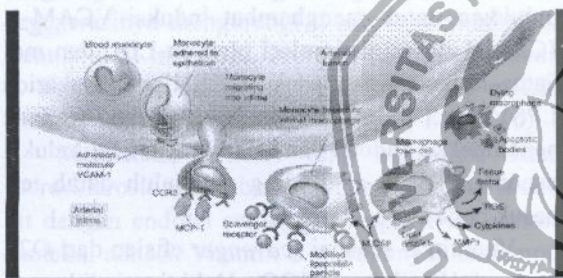
Dalam penelitian sebelumnya, ox-LDL, sitokin seperti IL-1 β dan TNF- α menyebabkan stress oksidatif, mungkin dengan menginduksi sintesis radikal oksigen dalam sel limfoid dan sel *non* limfoid, mengakibatkan jejas karena oksigen menjadi radikal pada endotel vaskuler. Telah terbukti bahwa stres oksidatif yang diinduksi sitokin mungkin mengatur sinyal regulator interseluler melalui sinyal transduksi yang sensitif redoks, terlibat dalam aterosklerosis. Dengan penambahan terhadap oksidatif endotel dapat mensensitisasi jaringan vaskuler, mengakibatkan ekspresi molekul adhesi VCAM-1 yang meningkat (Bowie AG and O'Neill.L.A.J., 2000).

Peran Disfungsi Endotel Pada Proses Aterosklerosis

Kelainan dini pada endotel sebagai reaksi terhadap setiap gangguan faktor risiko tersebut di atas adalah meningginya permeabilitas endotel, produksi NO berkurang atau cepat dirombak dan

produksi ET-1 yang meninggi. Peninggian premeabilitas tersebut segera diikuti oleh ekspresi protein adhesi ICAM-1 dan VCAM-1, serta lepasnya berbagai *growth factor* antara lain PDGF (*platelet derived growth factor*) dan TGF-1 (*transforming growth factor-1*), dan ekspresi protein *chemoattractants* MCP-1 (*monocyte chemoattractants protein-1*). Monosit yang ada pada sirkulasi tertarik oleh MCP-1 dan menempel akibat ICAM-1 dan VCAM-1.

Sementara itu LDL-C tertarik dan menempel pada lapisan endotel, lalu menembus sela-sela sel endotel masuk ke dalam lapisan sub-endotel dengan mediator *scavenger receptor* yang ada pada endotel, lalu oleh radikal bebas peroksida, LDL-C akan dimodifikasi menjadi ox-LDL. Pada plak aterosklerotik ox-LDL merupakan komponen penting. Ox-LDL ini kemudian ditelan (proses *internalization*) oleh monosit yang sudah masuk ke dalam lapisan sub-endotel yang sudah berubah menjadi makrofag dengan mediator TGF-1. dengan mekanisme ini terbentuklah sel busa.



Gambar 5. Proses Aterosklerosis
Sumber: Maximilian and Gerhard, 2005

Di samping itu dengan berkurangnya NO, terjadi ekspresi molekul-molekul adhesi leukosit seperti sitokin IL-1 (interleukin-1) dan E-selectin. Kedua sitokin ini akan menyebabkan makin banyaknya sel-sel leukosit yang berkumpul pada dinding pembuluh darah.

Pada saat yang sama terjadi proliferasi SMC yang dirangsang oleh PDGF, TGF-1 dan fGF (*fibroblast growth factor*) yang kemudian migrasi dari lapisan media ke dalam intima. Apabila penyebab disfungsi endotel pada proses aterosklerosis ini adalah inflamasi atau infeksi, maka yang berperan penting adalah mediator inflamasi seperti TNF- α (*tumour necrosis factor-alpha*), IL-1 dan MCSF (*macrophage colony stimulating factor*) yang akan mengikat LDL pada endotel.

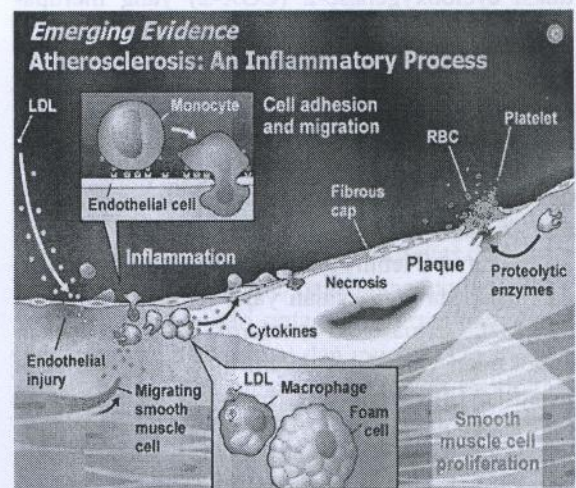
Proses pathogenesis aterosklerosis pada hipertensi menempuh jalur tersendiri. Tekanan darah yang tinggi merupakan ancaman terjadi jejas pada endotel yang menyebabkan disfungsi endotel. Selain

itu Angiotensin II yang biasanya meninggi pada hipertensi merupakan vasokonstriktor yang kuat, juga mempunyai kontribusi pada aterosclerosis karena dapat merangsang proliferasi SMC. Di samping itu angiotensin II dengan *reseptor* yang spesifik dapat menyebabkan bertambahnya penumpukan Ca⁺⁺ intraseluler, dan menimbulkan hipertrofi SMC. Selain itu hipertensi mempunyai kemampuan *pro-inflamasi*, sehingga dapat meningkatkan pembentukan *hydrogen peroksida* dan radikal bebas seperti anion superoksida dan radikal hidroksi yang semuanya dapat menyebabkan menurunnya pembentukan NO, meningkatkan adhesi leukosit dan resistensi pelifer (*Perticone F, 2001*).

Tahapan berikut patofisiologi adalah pembentukan *fatty streaks* yang berasal dari *foam cell*. Yang ikut berperan pada proses ini adalah migrasi SMC, aktivasi sel T dengan mediator TMF- α , IL-1 dan MSCF (*Ross.R, 1999*).

Tahapan Lanjut Proses Aterosklerosis

Setelah terjadi pembentukan *fatty streaks*, proses aterosclerosis terus berlanjut. Sementara itu disfungsi endotel tetap berjalan dengan segala untai reaksi ikutannya. NO makin berkurang ET-1 makin bertambah, ox-LDL makin banyak masuk ke dalam makrofag disertai proliferasi dan migrasi SMC yang makin bertambah. *Fatty streaks* yang sudah terbentuk makin berlanjut menjadi lesi aterosklerotik dan kemudian menjadi lesi lanjut. *Fatty streaks* yang makin membesar pada bagian lumen akan membentuk lapisan fibrotik yang dikenal sebagai *cap* yang merupakan campuran leukosit, lipid dan zat-zat sisa (*debris*) dan kemudian membentuk inti yang nekrotik. *Fibrous cap* dibentuk akibat meningkatnya aktivitas PDGF, TGF-1, IL-1, TNF- α , dan berkurangnya degradasi jaringan ikat.

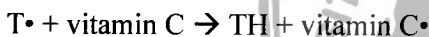


Gambar 6. Aterosklerosis suatu proses inflamasi
Sumber: Enrique Caballero, dkk, 2006

Lesi ini akan makin lebih luas dimulai dari bagian tepi dengan makin banyaknya adhesi leukosit serta berbagai mekanisme seperti pada pembentukan *fatty streaks*. Faktor utama yang menyebabkan akumulasi makrofag adalah MCSF, MCP-1 dan ox-LDL. Sedangkan inti yang nekrotik merupakan akibat apoptosis dan nekrosis, meningkatnya aktivitas proteolitik dan akumulasi lipid.

Vitamin (Asam Askorbat) Sebagai Pertahanan Antioksidan

Asam askorbat atau vitamin C, adalah antioksidan yang larut dalam air telah diketahui sebagai satu-satunya antioksidan endogen (antiaterogen) di plasma yang dapat menghambat secara sempurna modifikasi ox-LDL oleh radikal peroksida dan membantu mempertahankan α -tokoferol (vitamin E) dalam lipoprotein. Agen reduksi yang kuat ini sangat efektif untuk melindungi lipid di plasma manusia melawan perusakan peroksida oleh turunan oksigen radikal bebas. Interaksi sinergis antara vitamin C dan α -tokoferol dapat dihasilkan kembali dari hubungan radikal (T•) oleh vitamin C (Levine GN, Frei B, Koulouris SN, dkk. 1996).



Radikal bebas vitamin C, semidehidro-askorbat, agak stabil. 2 molekul dari radikal bebas vitamin C dikonversikan dengan disproporsi menjadi askorbat dan dehidroaskorbat. Jadi propagasi reaksi radikal bebas dihentikan tanpa racun radikal bebas yang tersisa. Vitamin C dipakai sebagai kompensasi untuk mengurangi tingkat antioksidan lipofilik.

Pada pathogenesis aterosklerosis sesuai dengan mekanisme pada inisiasi yaitu bertambahnya interaksi monosit dengan sel endotel dan juga menginduksi cyclooxygenase-2 (COX-2) yang merupakan produksi abnormal prostanoid, maka vitamin C sebagai antioksidan menghambat IL-1 β dengan menginduksi ekspresi COX-2 pada *human umbilical vein endothelial cell* (HUVEC) dan juga menghambat induksi TNF dan VCAM-1 sehingga adhesi monosit dalam endotel dirusak (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000).

Vitamin C lebih efektif mencegah lipid peroksidasi daripada antioksidan yang lainnya di plasma dan LDL, termasuk α -tokoferol, yang merupakan antioksidan yang larut dalam lipid yang ada pada manusia. Efek vitamin C mungkin menyebabkan interferens dengan ox-LDL atau proses yang diinduksi ox-LDL (Halliwell B, 1997).

Sejumlah kecil vitamin C di dinding arteri mungkin mempengaruhi LDL terhadap oksidasi,

yang dapat memacu terjadinya aterosklerosis. Terdapat hasil dari beberapa studi epidemiologi yang mendukung peran dari sejumlah kecil vitamin C di plasma dengan aterosklerosis. Hubungan terbalik yang bermakna juga ditemukan antara plasma dengan *mortalitas* pada penyakit arteri koroner pada orang dengan tingkat vitamin C rendah dalam plasma, dilaporkan tingkat lipid peroksida dalam plasma lebih tinggi dari pada tingkat vitamin C-nya, dan ada penelitian lebih lanjut yang menunjukkan bahwa vitamin C dapat memperbaiki disfungsi vasomotor endotel pada pasien *hiperkolesterolemia* (Halliwell B, 1996).

Vitamin C menurunkan kadar radikal superoksida dan ox-LDL teroksidasi, di mana keduanya dapat bereaksi dengan NO inaktif. Vitamin C juga dapat mencegah aktivitas prooksidan dari α -tokoferol melalui reduksi radikal α -tokoferol yang kemudian berperan sebagai suatu antioksidan dan menghambat oksidasi LDL (Carr AC, Zhu BZ, Frei B, 2000).

Menurut Halliwell B, sel endotel manusia menstimulasi pembentukan radikal, vitamin C ditunjukkan untuk menghambat induksi VCAM-1. VCAM-1 dapat distimulasi oleh ox-LDL dan mediator inflamasi termasuk IL-1 β lipopolisakarida (LPS) dan TNF- α sehingga merangsang monosit menempel ke endotel dan selanjutnya menginduksi respon inflamasi di dinding pembuluh darah termasuk pada aterosklerosis.

Vitamin C sebagai *scavenger* efisien dari O₂•, termasuk HOCl dan ONOO-. Hal ini terjadi karena anion superoksida mempunyai kemampuan untuk bereaksi cepat dengan NO dan keterbatasan dari aktivitas biologi dari NO (Plotnick.G.D, 1997). Superoksida anion mempunyai kemampuan untuk bereaksi secara cepat dengan NO dan membatasi aktivitas biologis dari *endothelium derived relaxing factor* (EDRF). Superoksida vascular dikaitkan dengan penyakit gangguan fungsi endotel, termasuk hiperkolesterolemia dan diabetes.

Vitamin C memperbaiki fungsi endotel dengan meregulasi redoks interseluler dengan *glutation* intraseluler dari degradasi oksidasi. Glutation merupakan sumber penting dari intraseluler untuk mereduksi thiol dan dapat didegradasi oleh oksidasi. Jika stress oksidatif meningkat, maka akan terjadi deplesi reduksi thiol dengan penurunan sintesis NO dalam kultur endotel. Jadi pencegahan oksidasi glutathion dan penambahan avabilitas dari reduksi thiol oleh vitamin C intraseluler dapat memperbaiki NO (Levine GN, 1996).

Pengaruh Vitamin C Terhadap Aterosklerosis

Vitamin C adalah antioksidan yang larut dalam air, yang paling efektif dalam menghambat lipid peroksidasi di dalam plasma manusia dan juga sangat efektif dalam modifikasi oksidatif LDL. Konsentrasi fisiologis dari vitamin C efektif menghambat oksidasi LDL dalam berbagai bentuk kondisi oksidasi, termasuk pembuluh darah. Hal ini tampak di dalam kultur sel endotel (aorta kelinci, makrofag manusia dan makrofag mencit), ternyata netrofil manusia terstimulasi. Sehingga pengobatan dengan vitamin C menyebabkan resistensi LDL meningkat ke oksidasi *in vitro* pada tikus yang mempunyai zat besi, sebab vitamin C sebagai penghambat efek oksidasi LDL yang diperantarai oleh ion metal seperti ion *copper*. Vitamin C juga menguatkan antioksidan lipofilik endogen di antara partikel LDL (α dan γ -tokoferol dan β -karoten) selama oksidasi dengan *copper* (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000).

Vitamin C mempunyai efek penghambat terhadap oksidasi LDL oleh radikal peroksida secara langsung atau aksi sinergis dengan α -tokoferol dan regenerasinya mengurangi α -tokoferol kembali ke bentuk aktif tokoferol. Proteksi LDL oleh vitamin C diambil dan didegradasi oleh makrofag melalui mekanisme *scavenger receptor* (Carr SC, 2000).

Mekanisme inisiasi yang mencolok dalam aterosklerosis adalah bertambahnya interaksi monosit dengan endotel sehingga mengaktivasi sintesis molekul adhesi. Vitamin C mempunyai kemampuan untuk menghambat induksi VCAM-1 dan adhesi monosit dalam endotel manusia yang rusak di mana vitamin C mempengaruhi permukaan sel endotel dalam respon terhadap radikal. Sel endotel yang teraktivasi mengekspresikan gen VCAM-1 oleh rangsangan sitokin dan *non* sitokin yang diatur oleh jalur transduksi sinyal sensitif redoks yang peka untuk menghambat antioksidan (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000).

Vitamin C juga memperbaiki fungsi endotel dengan peranannya dalam regulasi interseluler redoks, oleh interseluler glutathion dari degradasi oksidasi. Glutathion merupakan sumber penting dari interseluler yang mereduksi thiol dan dapat didegradasi oleh oksidasi terhadap disulfide glutathion. Di bawah kondisi stress oksidatif yang meningkat, deplesi reduksi thiol mengacu pada penurunan sintesis NO dalam kultur sel endotel. Sehingga oksidasi glutathion dan reduksi thiol oleh vitamin C interseluler dapat memperbaiki NO (Levine GN, 1996).

Stres oksidatif dapat dihambat dengan pelepasan *reactive oxidative intermediates* (ROI) dari endotel yang rusak, yang dapat diinduksi oleh si-

tokin dan ox-LDL, oleh karena ini peran vitamin C pada aterosklerosis tidak hanya dalam ox-LDL, tetapi juga pada luka dengan stimulasi endotel menggunakan sitokin. Hubungan potensial molekular antara jalur sinyal modulasi redoks sel endotel vascular dan ekspresi abnormal dari gen yang bertanggungjawab untuk inflamasi seperti VCAM-1, COX-2 dan *inactivating NO* (iNOS) yang merupakan sinyal regulator intraseluler yang nampak dalam kerusakan dini endotel dalam pathogenesis aterosklerosis. Vitamin C menjadi faktor regulator spesifik yang mentransduksi sinyal metabolik menjadi sinyal regulator nuklear yang mungkin dapat dipertimbangkan dalam terapi aterosklerosis (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000).

Vitamin C adalah antioksidan yang efektif memiliki aksi antioksidan yang potensial pada plasma manusia. Di antara antioksidan tersebut, vitamin C menunjukkan mampu menjadi pembersih yang efisien dari berbagai spesies oksigen yang reaktif, termasuk anion superoksida. Kemampuan ini memberikan penjelasan tentang efek penting vitamin C terhadap fungsi endotel.

Levine GN dan kawan-kawan, menyimpulkan bahwa vitamin C dapat meningkatkan fungsi vasomotor endotel pada pasien aterosklerotik melalui percobaan dengan memberikan vitamin C atau placebo pada pasien dengan penyakit arteri koroner. Hasil penelitian mendapatkan bahwa antioksidan vitamin C mengubah fungsi vasomotor endotel pada pasien-pasien tersebut.

Pemberian Vitamin C

Dianjutkan pemberian vitamin C sebesar 30–100 mg/hari, yang mana dapat mencapai tingkat plasma vitamin C \pm 30–150 $\mu\text{mol/L}$ berdasarkan pada pemeliharaan tubuh yang mempunyai gejala skorbutik. Perokok menerima sampai dengan 1,5 gram/hari dari suplemen vitamin C, sehingga serum lipidnya terjaga dari oksidasi. Beberapa studi epidemiologi menyimpulkan bahwa konsentrasi plasma dari vitamin C \pm 50 $\mu\text{mol/L}$ berhubungan dengan penurunan risiko penyakit kardiovaskular. Konsentrasi tersebut mudah dicapai dengan diet dan menghambat kuat modifikasi LDL. Sama dengan antioksidan lain, kecil angka kejadian toksisitas dari dosis harian vitamin C. Namun bagaimanapun juga dosis yang lebih besar dari antara 1–5 gram/hari dapat menimbulkan diare, mual dan muntah. Dosis yang sangat besar juga dapat menyebabkan presipitasi oksalat, sistein atau urat pada penyakit batu ginjal (Ketsawatsakul U dan Akarasereenont P. 2000).

Meskipun pemakaian vitamin C direkombinasikan untuk kelompok tertentu seperti perokok dan

berbagai keadaan stres, data yang ada menunjukkan bahwa proteksi anti oksidan paling baik didapatkan dari berbagai substansi antioksidan yang ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan.

SIMPULAN

Disfungsi endotel merupakan pemicu terjadinya proses aterosklerosis yang menyebabkan penyakit arteri koroner serta tetap terjadi selama proses aterosklerosis tersebut sebelum dihambat dengan intervensi pengobatan. Semua faktor penyakit arteri koroner merupakan penyebab terjadinya disfungsi endotel.

Disfungsi endotel terjadi tidak bergantung dari adanya faktor risiko lainnya, dalam bentuk berkurangnya bioavailabilitas NO, menurunnya produksi NO serta vasokonstriksi pembuluh darah, sehingga timbul stress oksidatif yang menyebabkan modifikasi oksidatif ox-LDL yang dipacu oleh proses inflamasi melalui peningkatan sitokin.

Vitamin C mempunyai efek antiaterogenik yang bermanfaat untuk mencegah ox-LDL sehingga dapat menghambat aterosklerosis. Efek vitamin C digunakan pada metabolisme NO dan prostanoid untuk mencegah adhesi monosit sehingga dapat memperbaiki fungsi endotel pada aterosklerosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Bowie. A.G and O'Neill.L.A.J. 2000, *Vitamin C inhibit NF- κ B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase*. The Journal Immunology; 165:7180-88
- Carr.A.C., Zhu.B.Z., Frei.B. 2000, *Potential antiantherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E)*. Circ Res; 87:349-354
- Enrique Caballero, MD; Paul S. Jellinger, MD. 2006, *Type 2 Diabetes: Reducing Insulin Resistance and Cardiovascular Risk*. Authors and Disclosures. Published: 10/23/2006
- Gale. R.C., Ashurst.E.H., Powers.H.J., Martyn.C.N. 2001, *Antioxidant vitamin status and carotid atherosclerosis in the elderly*. Am J Clin Nutr; 74:402-8
- Halliwel B. 1996, *Antioxidants in human health and disease*. Annu Rev Nutr; 16:33-50
- Halliwel B. 1997, *Ascorbic acid: hupe, hoax or healer?* Am J Clin Nutr; 65:1891-1892
- Howard-Alpe GM et al. 2006, *Methods of detecting atherosclerosis in noncardiac surgical patients; the role of biochemical markers*. Br. J. Anaesth; 97:758-769
- Jacob RA, Burri BJ. 1996, *Oxidative Damage and Defence*. Am J Clin Nutr: 63:S985-S990
- Ketsawatsakul U and Akaraseenont P. 2000, *Ascorbic acid and atherosclerosis*. Thai J Pharmacol; 22.
- Levine GN, Frei B, Koulouris SN, et al. 1996, *Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease*. Circulation; 93:1107-1113
- Maximilian L. Buja, MD and Gerhard R.F. Kruege, 2005, *Netter's Illustrated Human Pathology Ed. I*, Philadelphia Saunders, Elsevier.
- Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, et.al. 2001, *Prognostic Significance of Endothelial Dysfunction in hypertensive patients*. Circulation; 104:191-196
- Plotnick GD, Correti MC, Vogel RA. 1997, *Effect of antioxidant vitamin on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal*. JAMA; 278:1682-86
- Ross. R. 1999, *Mechanisms of disease. Atherosclerosis-an inflammatory disease*. N.Engl J Med; 340:115-126
- Stary HC.et al. *A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis*. AHA.<http://www.americanheart.org/>
- Zaman, A.G., et al. 1999, *Histopathology and pathogenesis of plaque instability and thrombus formation*. Drugs Today, 35(8):641