

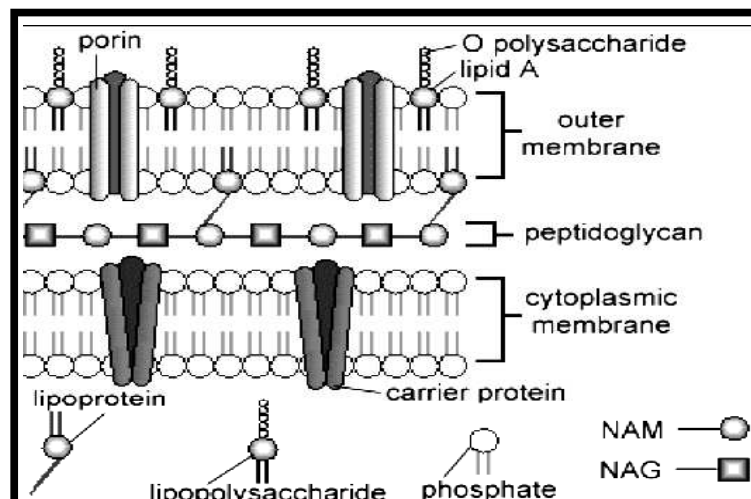
	<p><i>Ascorbic acid dynamics in the seriously ill and injured</i></p> <p>Jurnal:</p> <p><i>The Journal of Surgical Research</i>, Feb 2003</p>
Jameson, Shiji <i>et al</i> ¹⁷	<p>Pasien sepsis kadar konsentrasi vitamin C dalam plasma menurun sehingga perlu diberikan vitamin C untuk dapat melindungi sel dari kerusakan dan terjadinya kerusakan pada organ.</p> <p>Judul:</p> <p><i>Oxidative stress in sepsis in children</i></p> <p>Jurnal:</p> <p><i>Indian Journal of Medical Research</i>, Feb 2007</p>

BAB II

Tinjauan Pustaka

2.1. Lipopolisakarida

Endotoksin atau LPS adalah suatu komponen membran luar dari bakteri gram negatif yang merupakan inisiator awal syok septik. Patofisiologi syok septik sudah banyak diketahui tetapi terapi masih terbatas dan mortalitas pasien syok masih tinggi.^{1,2,11,18,19}



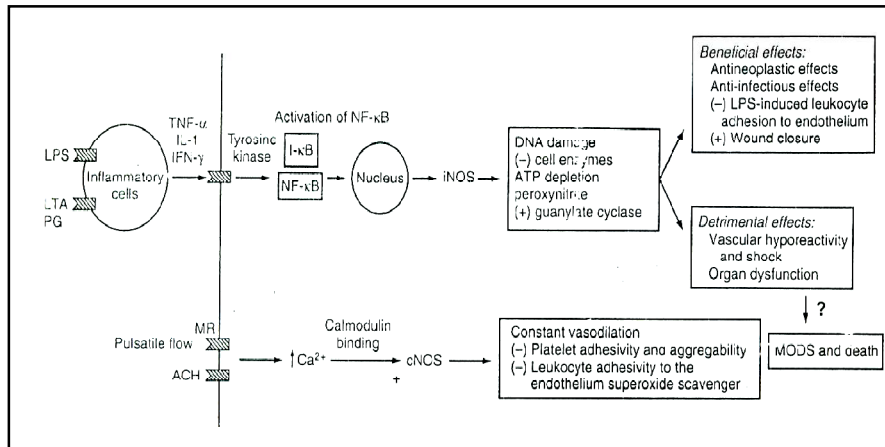
Gambar 1. Komponen membran luar gram negatif (LPS)
Dikutip dari <http://textbookofbacteriology.net/structure.html>

Toleransi terhadap endotoksin terjadi setelah pemberian berulang dosis kecil pada binatang dan ditandai oleh penurunan efek terhadap endotoksin dosis tinggi. Mekanisme dasar toleransi endotoksin kurang dimengerti tetapi toleransi endotoksin terjadi melalui dua fase. Toleransi fase awal terjadi dalam beberapa jam setelah terpapar endotoksin dan mekanismenya belum jelas. Toleransi fase

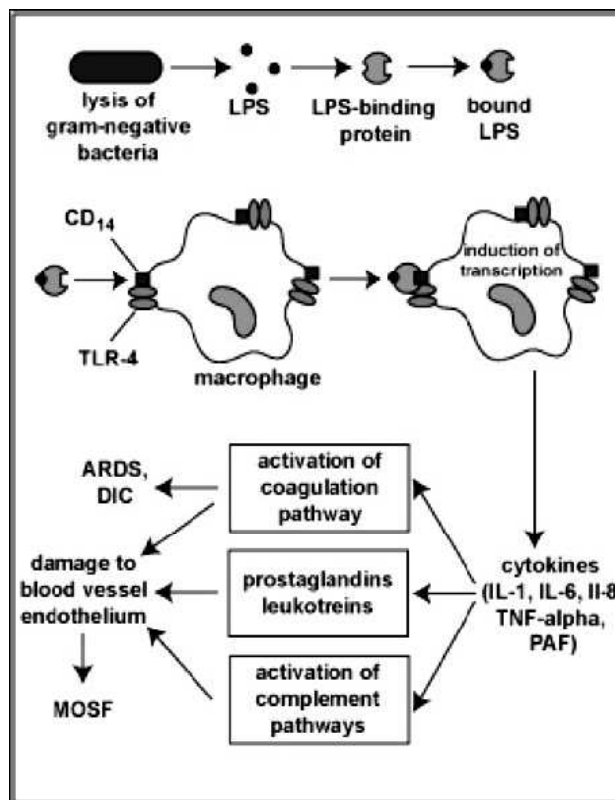
lambat terjadi beberapa minggu setelah paparan awal terhadap endotoksin dan dihubungkan dengan produksi antigen-antibodi endotoksin.¹⁸⁻²⁰

2.1.1. Hubungan LPS dengan produksi sitokin

Lipopolisakarida (LPS) merupakan faktor patogenik utama pada sepsis gram-negatif, yang ditandai dengan syok, koagulopati, dan disfungsi multiorgan. Respons terhadap paparan LPS sistemik, sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , dan interferon- γ diproduksi oleh *host*. Produksi sitokin proinflamasi dan induksi mediator yang lebih distal seperti *nitric oxide*, *platelet activation factor* (PAF), dan prostaglandin menyebabkan hipotensi, perfusi organ inadkuat, dan kematian sel yang berhubungan dengan *multiple organs dysfunction syndrome* (MODS). Status proinflamasi ini didefinisikan sebagai *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS). Induksi sistem imunitas innate secara besar-besaran ini dapat dan seringkali menimbulkan efek katastrofik pada pasien dengan sindroma sepsis.^{1,4,7,10,20}



Gambar 2. Respons terhadap paparan LPS sistemik
 Dikutip dari Lorente AJ, Landin L, Esteban A.²¹

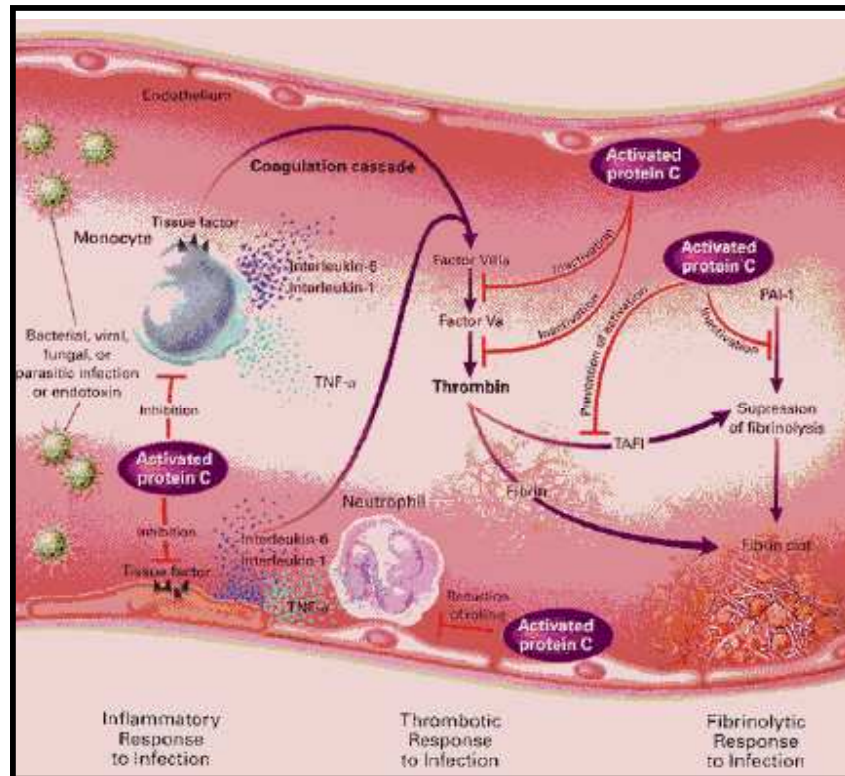


Gambar 3. Efek paparan LPS terhadap pembuluh darah
 Dikutip dari Lorente AJ, Landin L, Esteban A.²¹

2.1.2. Hubungan LPS dengan stress oksidatif

Stress oksidatif diduga mendasari patofisiologi penyakit-penyakit kritis, khususnya terjadi kegagalan organ. *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen-oxygen species* (RNOS) sudah jelas memegang peranan dalam modulasi *cell signaling*, proliferasi, apoptosis, dan proteksi sel. ROS dan RNOS juga berperan dalam melawan protein, polisakarida, asam nukleat, dan asam lemak tak tersaturasi yang mengakibatkan kerusakan sel dan disfungsi jaringan. Pada penyakit kritis, ROS dapat diproduksi dari disfungsi mitokondria, seperti yang klasik terjadi pada syok septik, enzim oksidase *nikotinamida adenine dinukleotida phospat hidrogenase* (NADPH) dari stimulasi neutrofil dan makrofag, dan konversi xanthin dehidrogenase menjadi xanthin oksidase yang teraktivasi selama iskemia dan trauma reperfusi. Selbihnya, ROS/RNOS dapat memacu pelepasan sitokin dari sel imun, mengaktivasi kaskade inflamasi, dan meningkatkan ekspresi adhesi molekul, yang diperantarai melalui peningkatan ekspresi *Nuclear Factor kappa B* (NFkB) sehingga inflamasi dan trauma jaringan berakibat akumulasi granulosit pada organ yang mengakibatkan terjadi peningkatan generasi ROS dan respons inflamasi berlipat ganda serta memperparah kerusakan jaringan. Jalur dan lingkaran ini merupakan sentral yang mendasari patofisiologi penyakit kritis dengan respons inflamasi sistemik dan disfungsi multiorgan.^{6,10,21}

Syok septik terjadi saat komponen bakteri dari agen infeksius seperti endotoksin menyebabkan regulasi komponen inflamasi dalam jumlah berlebihan. Monosit terpapar endotoksin dalam sirkulasi akan melepaskan sitokin seperti TNF-alfa dan IL-1 bersamaan dengan mediator-mediator lainnya. Sitokin-sitokin ini dapat bekerja baik secara lokal setelah dilepaskan dari monosit, atau masuk ke dalam sirkulasi, dan menyebabkan adhesi sel endotel-leukosit, pelepasan metabolit protease dan asam arakhidonat, aktivasi pembekuan, dan produksi NO dalam jumlah sangat besar. Pada tingkat makrosirkulasi, gangguan tersebut menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler dan maldistribusi aliran darah yang menjadi penyebab dari perfusi jaringan yang tidak adekuat dan kerusakan jaringan. Disfungsi seluler terjadi karena iskemia, disrupsi metabolisme seluler karena pengaruh dari mediator inflamasi, dan efek toksik dari radikal bebas. Aktivasi kaspase dan pemicuan *protein heat-shock* dapat memacu pada kematian sel apoptotik.^{10,22,23}

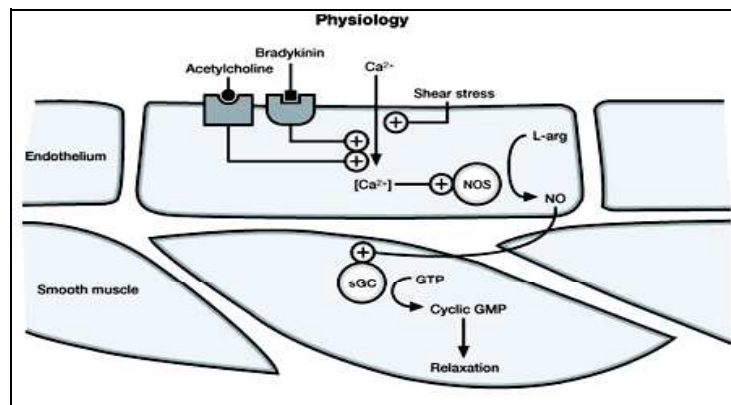


Gambar 4. Mediator kimia dan efek terhadap sirkulasi pembuluh darah
Dikutip dari Tsuchiya M, Asada A, Maeda K, et al.²³

2.2. Nitric Oxide (NO)

NO merupakan *endothelium-derived relaxing factors* (EDRFs) terpenting yang terbentuk dari transformasi asam amino L-arginin menjadi sitrulin melalui jalur *L-arginine-nitric oxide* dengan bantuan enzim NO sintase (NOS). NO diproduksi atas pengaruh asetilkolin, bradikinin, serotonin, dan bertindak sebagai reseptor endotel spesifik. NOS diaktivasi oleh adanya robekan pada pembuluh darah dan estrogen, sebaliknya aktivasi NOS dihambat oleh asam amino dalam sirkulasi dan oleh ADMA (*asymmetrical dimethylarginine*). Sintesa NO

mempengaruhi tonus pembuluh darah sehingga berperan pada pengaturan tekanan darah, NO pada sistem saraf pusat merupakan neurotransmitter yang menjalankan beberapa fungsi termasuk pembentukan ingatan.^{5,6,21,24,25}

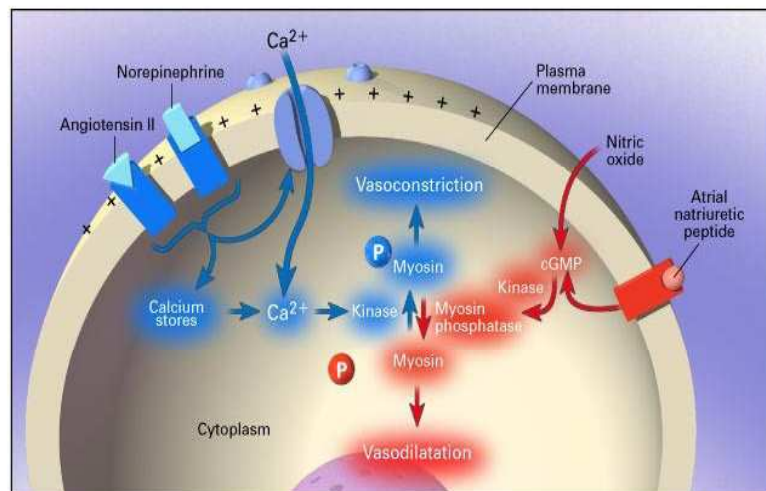


Gambar 5. Pengaruh mediator kimia terhadap produksi NO
Dikutip dari Moncada S, Higgs A.⁵

Inducible nitric oxide synthase (iNOS) merupakan anggota dari famili *nitric oxide synthase*, yang juga terdiri dari *endothelial specific nitric oxide synthase (eNOS)* dan *neural specific nitric oxide synthase (nNOS)*. Pada kondisi infeksi bakterial dan inflamasi kronis, ekspresi iNOS dipacu oleh sitokin inflamasi, paling banyak pada sel makrofag. Tingginya kadar *nitric oxide (NO)* yang diproduksi oleh iNOS dapat berfungsi sebagai bakterisidal dan juga efek anti-apoptosis.^{5,6,21,24,25}

Produksi NO melalui iNOS memiliki peranan penting dalam patogenesis syok septik. Sel pejamu merespons LPS dan sitokin dengan mengeluarkan

berbagai sitokin proinflamasi dan terjadi peningkatan ekspresi iNOS yang menghasilkan kuantitas besar NO. Produksi NO pada paru dan hepar menyebabkan hipotensi sistemik dan depresi miokard yang merupakan ciri khas syok septik.^{8,11}

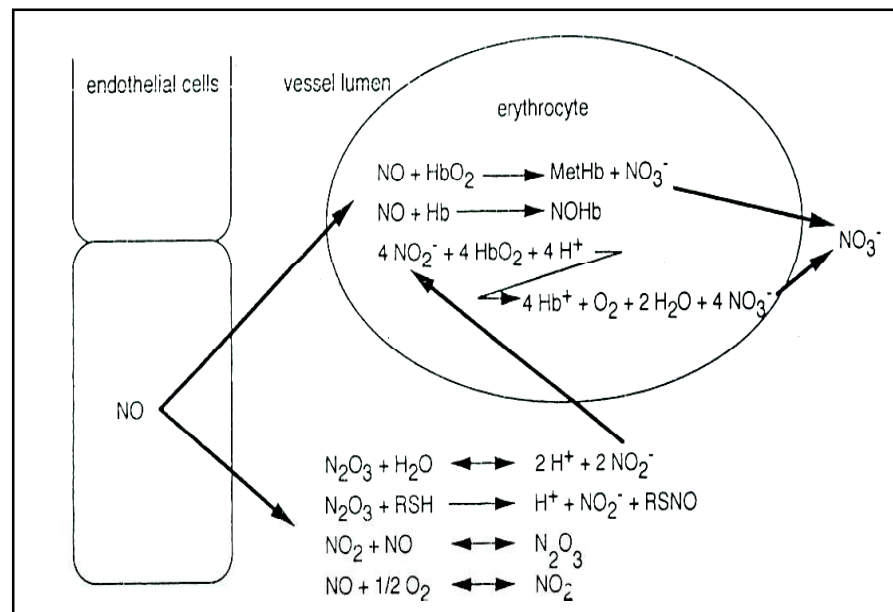


Gambar 6. Peran NO pada syok septik
Dikutip dari Landry WD, Oliver AJ.²⁶

2.2.1. Pelepasan NO Patologis

Isoform calcium-independent NOS dapat terinduksi dalam dinding pembuluh darah oleh sitokin dan oleh endotoksin lipopolisakarida, yang bekerja melalui pelepasan sitokin. Hal ini terjadi baik pada endotel maupun sel otot polos, yang menyebabkan relaksasi vaskuler yang resisten terhadap obat-obat vasokonstriktor dan dapat dicegah dengan terapi glukokortikoid dan NOS inhibitor. Syok endotoksin pada binatang terjadi peningkatan jumlah *nitric oxide* secara langsung berhubungan dengan derajat hipotensi. Pelepasan *nitric oxide*

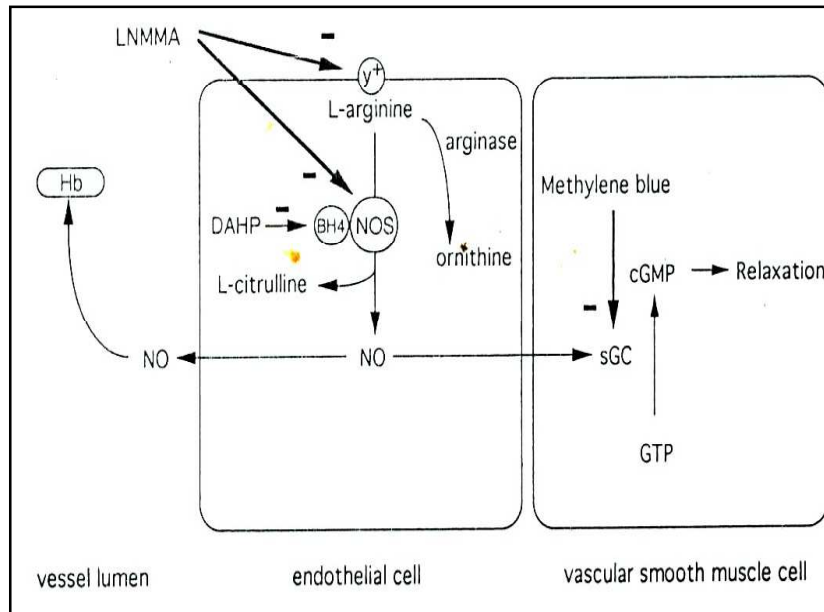
oxide oleh enzim iNOS sebanding dengan vasodilatasi dan resisten terhadap vasokonstriktor menjadi gejala khas pada syok septik.^{5,18,23}



Gambar 7. Proses kimia NO pada pembuluh darah
Dikutip dari Lorente AJ, Landin L, Esteban A.²¹

Inhibitor iNOS dapat mencegah dan memperbaiki hipotensi pada binatang yang disebabkan LPS. Pada pasien dengan syok septik, dosis rendah N-monomethyl L-arginine, ditambahkan dalam terapi standar, akan memperbaiki kondisi hipotensi. Percobaan pada binatang membuktikan bahwa derajat inhibisi NOS merupakan hal penting bagi *outcome* terapi, tetapi pada dosis besar akan mengakibatkan vasokonstriksi, kerusakan *end-organ*, dan mempercepat kematian. Hasil ini tidak mengejutkan pada kondisi seperti syok septik, dimana hipotensi tetap terjadi dalam kondisi saat kadar vasokonstriktor dalam darah meningkat. Salah satu solusi masalah ini mungkin dengan

menghambat generasi *endogenous NO* secara menyeluruh dan pada saat yang sama vasodilator nitrat digunakan untuk menghilangkan efek hipertensi sehingga keadaan hemostasis tetap terjaga.^{5,21,24}



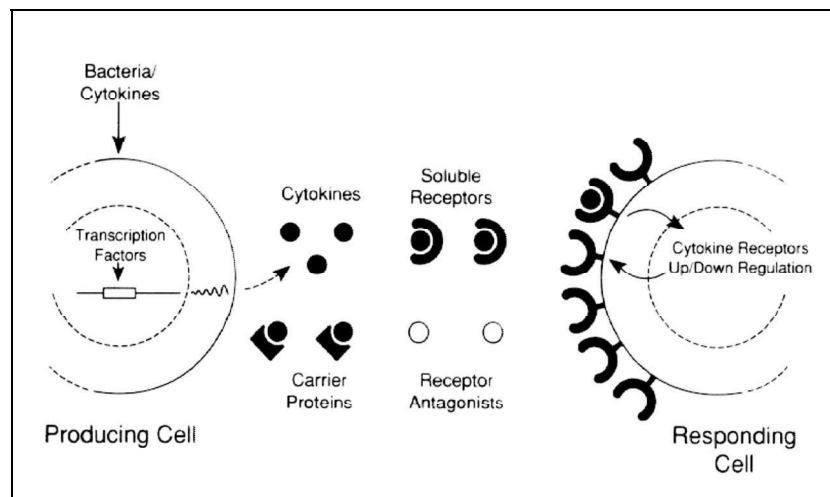
Gambar 8. Efek inhibitor iNOS terhadap NO pada pembuluh darah
Dikutip dari Lorente AJ, Landin L, Esteban A.²¹

2.2.2. Peran NO dalam syok septik

Pada sepsis, kejadian yang kompleks dapat menyebabkan terjadinya proses apoptosis sehingga mengakibatkan kegagalan multiorgan sebagai respons adaptif seluler. Radiasi ultraviolet, asap rokok, ozon, lipopolisakarida dapat mengaktivasi NF-kB (*Nuclear Factor kappa B*) untuk terjadinya apoptosis. NF-kB merupakan faktor transkripsi sensitif stress oksidasi yang mengatur ekspresi bermacam-macam gen penting dalam respons seluler, termasuk inflamasi, imunitas *innate* dan pertumbuhan. Antioksidan dapat

melemahkan efek paparan dari lipopolisakarida dan memblokir produksi NF- κ B.^{4,9,10}

Aktivitas iNOS selama respons inflamasi sebagian besar diregulasi pada tingkat transkripsi, meski dapat juga terjadi pada tingkat post transkripsi dan post translasi. Sejumlah faktor transkripsi, seperti NF- κ B, IRF-1, Stat1 α , dan Oct-1, diinduksi dan diaktivasi oleh LPS dan sitokin, berperan sebagai promotor gen iNOS untuk mengaktifasi transkripsi.^{9,11,25}



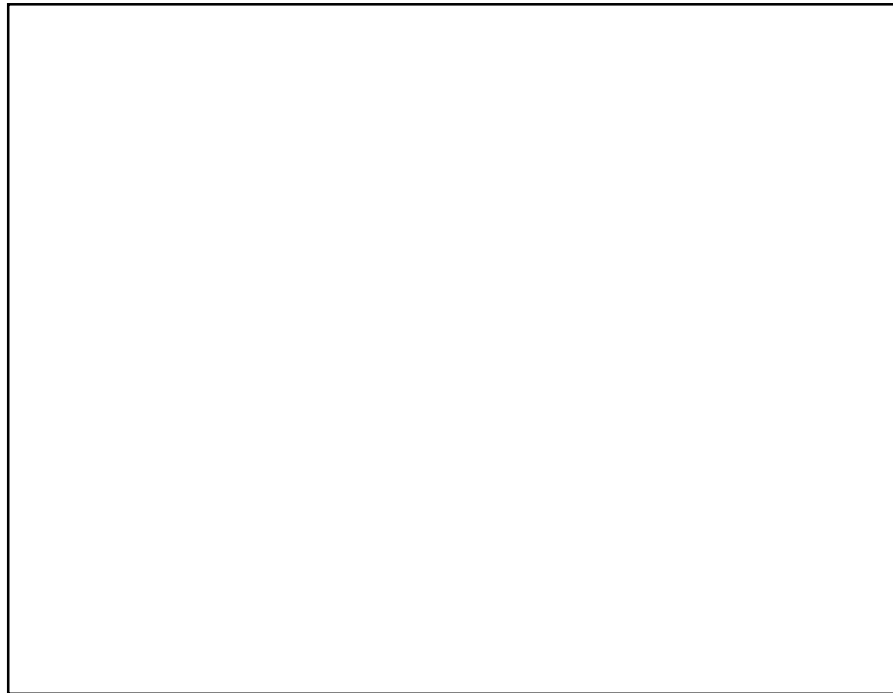
Gambar 9. Aktivitas sitokin pada tingkat transkripsi
Dikutip dari Natanson C, Hoffman DW, Suffredini FA, et al.¹⁹

NO memegang peranan penting dalam kerusakan sel, baik untuk sitostatik maupun sitotoksik yang tidak hanya untuk menyerang mikroorganisme tetapi juga untuk sel yang memproduksi dan untuk sel disekitarnya. Didapatkan laporan bahwa inhibitor NOS maupun donor NOS

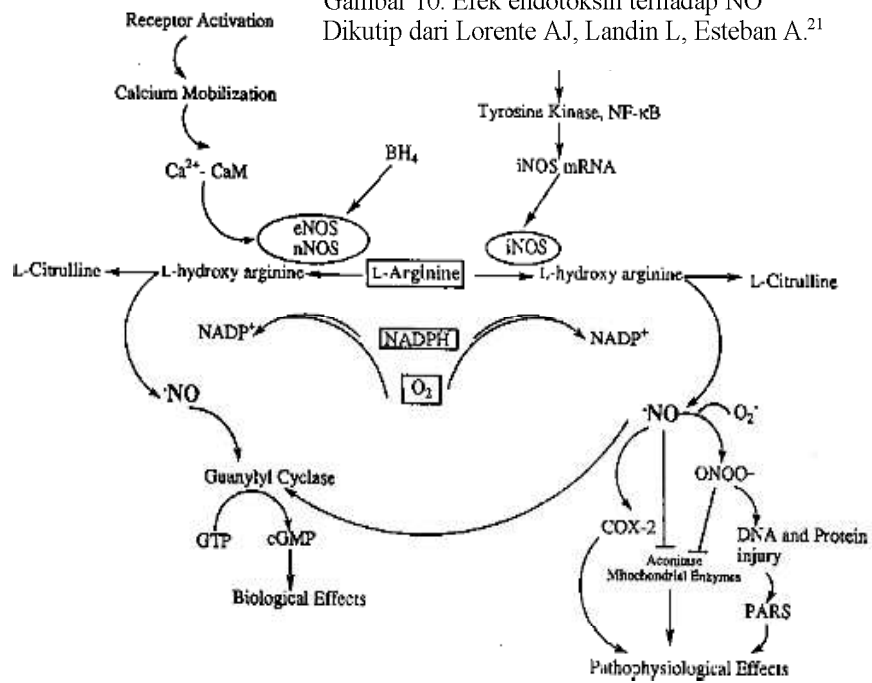
bermanfaat dalam melawan beberapa bentuk penyakit. Hal ini mungkin sesuai dengan dualisme NO, di mana pada satu sisi sebagai sitotoksik dan pada sisi lain merupakan vasodilator dan juga berpotensi sebagai proteksi. NO berperan ganda dalam reaksi inflamasi, dari penyebab vasodilatasi dan edema, sampai pada sitotoksik terhadap jaringan melalui modulasi aktivitas ujung saraf sensorik dan leukosit.^{5,8,23}

2.2.3. Hubungan produksi NO dengan LPS

Endotoksin dari LPS menginduksi ekspresi *Ca-independent (inducible) isoform* dari NOS (iNOS) dalam makrofag, sel otot polos vaskuler, fibroblas, hepatosit, sel Kupffer, keratonosit, dan megakariosit secara *in vitro* dan dalam sejumlah jaringan termasuk paru, lien, hepar, jantung, ginjal, dan juga pembuluh darah secara *in vivo*. Pembentukan NO dalam jumlah besar pada endotoksemia menjadi hal penting dalam kunci pengobatan syok septik pada masa yang akan datang, seperti hipotensi, hiporeaktifitas vaskuler terhadap obat-obat vasokonstriktor, disfungsi miokardium.^{8,9,19,22,23}



Gambar 10. Efek endotoksin terhadap NO
 Dikutip dari Lorente AJ, Landin L, Esteban A.²¹



Endotoksin memacu NOS dalam otot polos vena, miokardium dan endokardium, memperbanyak sintesis NO oleh NOS yang mungkin berkontribusi terhadap *venous pooling* dan disfungsi jantung yang berhubungan dengan endotoksemia dan induksi oleh NOS. Pada pembuluh darah jantung, NO mempunyai peran fisiologi jika disebabkan oleh komponen enzim yang secara normal terdapat pada otot jantung dan mungkin menjadi patologik sehingga menyebabkan dilatasi dan kerusakan jaringan jika NO dalam jumlah besar dan periode yang lama.^{5,23,24}

2.3. Vitamin C

Vitamin C (L-ascorbic acid, L-xyloascorbic acid, 3-oxo-L-gulofuranolactone, L-3-ketothreohexuronic acid lactone, vitamin antiscorbut) adalah molekul dengan 6 karbon laktone yang berasal dari glukosa dan disintesa di dalam hepar. Kebanyakan mamalia dapat memproduksi sendiri kebutuhan vitamin C, tapi manusia tidak mampu, karena tidak memiliki enzim gulonolaktone oksidase.^{27,28} Oleh karena itu untuk memenuhi kebutuhannya akan vitamin C maka manusia harus mendapat asupan vitamin C dari makanannya. Asam askorbat pertama kali diisolasi dari buah lemon pada tahun 1932.²⁹ Vitamin C terdapat dalam buah dan sayur, terutama dalam keadaan segar. Kacang – kacang, gandum, produk hewani, hampir tidak mengandung vitamin

C. Vitamin C bersifat larut dalam air dan termasuk vitamin yang stabil. Perlakuan saat memasak makanan dapat merusak kandungan vitamin C dalam material makanan. Selain itu, vitamin C juga mudah mengalami proses oksidasi dan sensitif terhadap cahaya. Oleh karena itu, untuk mempertahankan kadar vitamin C dalam material makanan, sangat dianjurkan dalam proses memasak dilakukan dengan cara merebus.³⁰

Kebutuhan vitamin C yang direkomendasikan yaitu: ³¹

- Kebutuhan minimal vitamin C dalam satu hari 100 -200 mg / hari iv
- Pada pasien dengan konsentrasi vitamin C pada plasma rendah seperti sepsis, ARDS, HIV dan penyakit kronis lainnya dibutuhkan dosis yang lebih besar.
- Dosis 1000 mg / hari iv merupakan dosis yang aman karena pada dosis tersebut tidak menimbulkan hiperoxaluria namun vitamin C bersifat prooksidan.

2.3.1. Fisiologi, absorpsi dan ekskresi Vitamin C

Bioavailabilitas vitamin C dalam tubuh manusia, diatur oleh 3 mekanisme, yaitu pengangkutan di jaringan, absorpsi dan ekskresi. Ketiga mekanisme ini bekerja secara sinergis. Absorpsi vitamin C diatur oleh mekanisme yang tergantung pada dosis. Proses ekskresi ditentukan oleh mekanisme kerja ginjal untuk membuang askorbat yang tidak diabsorpsi.³²⁻³⁴

Dalam plasma darah, vitamin C terdapat dalam 2 bentuk, asam askorbat dan asam dehidroaskorbat. Asam askorbat diangkut ke dalam sel oleh *sodium-dependent vitamin C transporters* (SVCT1) dan SVCT2 yang merupakan pengangkut vitamin C yang tergantung natrium. SVCT1 dan SVCT2 ditemukan hampir disemua jaringan. Asam dehidroaskorbat diangkut oleh *glucose transporters* (GLUT1) dan GLUT3, dan, di dalam jaringan yang sensitif terhadap insulin, oleh GLUT4.^{32,33,35}

Berdasarkan mekanisme pengangkutan di jaringan, absorpsi dan ekskresi ini, maka Levine dkk^{32,33} berkesimpulan bahwa bila diberikan per oral, asam askorbat akan diabsorpsi dengan baik pada dosis rendah, dan absorpsi akan berkurang bila dosis dinaikkan. Oleh karena itu, Levine merekomendasikan untuk mengkonsumsi rata-rata 200 mg per hari. Bila asam askorbat diberikan secara intravena, mekanisme absorpsi yang terbatas menjadi tidak ada dan berakibat tingginya kadar dalam plasma. Pemberian 1,25 gr intravena, menyebabkan kadar plasma sebesar 1000 $\mu\text{mol/L}$, bila diberikan 5 – 10 gr intravena, kadar plasma mencapai 5000 $\mu\text{mol/L}$.

2.3.2. Efek samping Vitamin C

Vitamin C dosis tinggi dapat mempengaruhi beberapa pemeriksaan laboratorium seperti kadar glukosa, asam urat, creatinin dan fosfat anorganik serta mempengaruhi pemeriksaan darah samar pada feses, selain itu juga dapat

mempengaruhi absorpsi antikoagulan, besi, vitamin B12 dan vitamin E. Efek samping sangat jarang terjadi, namun dapat berupa mual, diare, batu ginjal.^{27,28,29} Levine menyimpulkan bahwa vitamin C memiliki toksisitas minimal. Meskipun dikonsumsi dalam dosis tinggi (10.000 – 20.000 mg/hari) untuk jangka waktu yang lama, ternyata tidak menimbulkan efek samping.³⁶

2.3.3. Vitamin C sebagai antioksidan pada sepsis

Sepsis merupakan penyakit yang kompleks karena patogenesis yang sangat kompleks. Pada sepsis terjadi suatu respons sistemik yang melepaskan mediator-mediator inflamasi atau sitokin. Pelepasan mediator atau sitokin ini akan berdampak pada organ tubuh. Jika respons tubuh tidak adekuat akan menyebabkan kerusakan pada organ tubuh.^{1,2,3,14}

Senyawa oksigen reaktif secara biologis selalu dibentuk didalam tubuh. Radikal bebas ini berfungsi mematikan kuman. Kelebihan radikal bebas akan diredam oleh antioksidan. ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan akan menimbulkan *oxydative stress*.¹⁴

Antioksidan merupakan suatu sistem perlindungan tubuh terhadap aktivitas radikal bebas yang dihasilkan baik secara endogen maupun eksogen yang dimiliki setiap sel normal. Antioksidan didefinisikan sebagai komponen yang meskipun terdapat dalam jumlah sangat sedikit bila dibandingkan dengan komponen yang dilindunginya dapat melindungi komponen tersebut terhadap proses oksidasi yang mengubahnya menjadi radikal bebas.³⁷

Proses ini bisa terjadi pada mitokondria (transport elektron), retikulum endoplasmik pada waktu pembentukan urat (xanthine oksidase) dan autooksidasi. Enzim lipoksigenase dan siklooksigenase dapat diaktifkan untuk merangsang pembentukan radikal bebas oksigen oleh trauma, infeksi, radiasi, toksin, iskemia.^{14,38}

Vitamin C merupakan oksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*), juga merupakan prooksidan. Vitamin C dapat menangkal radikal hidroksil (OH) dan sebagai donor hidrogen untuk perubahan radikal tokoferil menjadi alfa tokoferol. Asam askorbat sendiri setelah teroksidasi menjadi radikal dehidroaskorbat yang mana akan kembali menjadi asam askorbat setelah mendapat ion H⁺ dari NADH (*nikotinamida adenin dinukleotida hidrogenase*) atau pembawa hidrogen lainnya.¹⁴

Vitamin C merupakan antioksidan hidrofilik dan pada saat tertentu dapat bertindak sebagai prooksidan. Adanya Fe²⁺ sangat tidak menguntungkan karena melalui reaksi Fenton dan reaksi Haber-Weiss dapat terbentuk radikal hidroksil yang sangat toksik. Radikal bebas ini dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik struktural seperti molekul-molekul penyusun membran maupun komponen fungsional seperti protein, enzim dan DNA.³⁹

Pemberian vitamin C pada dosis besar akan meningkatkan ekspresi dari fosfolipase A₂ dan siklooksigenase (COX)-1 sitosolik. Peningkatan

ekspresi kedua enzim ini pada kaskade asam arakhidonat akan meningkatkan prostasiklin, suatu faktor vasodilatasi dan inhibitor agregasi platelet pada manusia.^{13,37} Enzim lipoksigenase dan siklooksigenase dapat diaktifkan untuk merangsang pembentukan radikal bebas oksigen pada kondisi iskemia. Selama kondisi iskemik, proses yang terkait dengan kalsium akan menghasilkan *reactive oxygen species (ROS)*. Selama ini telah diyakini bahwa mitokondria merupakan sumber utama pembentukan radikal bebas segera, selama dan setelah stroke. ROS dalam jumlah yang lebih banyak daripada sistem antioksidan endogen memiliki efek merugikan. Lipid, protein dan DNA banyak terkena akibat adanya radikal bebas.³⁷