

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fibrosis Interstisial Jantung Pasca-Infark Miokardium

2.1.1 Infark Miokardium

Infark miokardium didefinisikan sebagai nekrosis kardiomyosit bersifat menetap yang merupakan akibat sekunder iskemia berkepanjangan. Penyebab terbanyak kejadian infark adalah obstruksi oleh trombus akut pada *arteria coronaria* yang mengalami aterosklerosis. Terdapat pula penyebab lain seperti oklusi *coronaria* dikarenakan vaskulitis, trauma, vasospasme, dan arteritis.³

Kerusakan miokardium secara esensial merupakan hasil dari respon jaringan, meliputi apoptosis dan inflamasi. Infark miokardium pada umumnya bermanifestasi sebagai nekrosis koagulasi yang akan diikuti dengan fibrosis miokardium. Terjadinya infark miokardium pada sistem perdarahan *arteria coronaria sinistra* menimbulkan kerusakan yang parah, berupa kegagalan fungsi jantung, kongesti paru, dan curah jantung yang berkurang.³

Infark miokardium diklasifikasikan menjadi beberapa tipe berdasarkan mekanisme patologis, manifestasi klinis dan prognosis (Tabel 2). Hal ini dimaksudkan untuk memudahkan para klinisi karena setiap tipe memiliki strategi terapi yang berbeda-beda.³

Tabel 2. *Universal classification of myocardial infarction*²

<p>Type 1: Spontaneous myocardial infarction</p> <p>Spontaneous myocardial infarction related to atherosclerotic plaque rupture, ulceration, fissuring, erosion, or dissection with resulting intraluminal thrombus in one or more of the coronary arteries leading to decreased myocardial blood flow or distal platelet emboli with ensuing myocyte necrosis. The patient may have underlying severe coronary artery disease (CAD) but on occasion non-obstructive or no CAD.</p>
<p>Type 2: Myocardial infarction secondary to an ischaemic imbalance</p> <p>In instances of myocardial injury with necrosis where a condition other than CAD contributes to an imbalance between myocardial oxygen supply and/or demand, e.g. coronary endothelial dysfunction, coronary artery spasm, coronary embolism, tachy-/brady-arrhythmias, anaemia, respiratory failure, hypotension, and hypertension with or without LVH.</p>
<p>Type 3: Myocardial infarction resulting in death when biomarker values are unavaibale</p> <p>Cardiac death with symptoms suggestive of myocardial ischaemia and presumed new ischaemic ECG changes or new LBBB, but death occurring before blood samples could be obtained, before cardiac biomarker could rise, or in rare cases cardiac biomarkers were not collected.</p>
<p>Type 4a: Myocardial infarction related to percutaneous coronary intervention (PCI)</p> <p>Myocardial infarction associated with PCI is arbitrarily defined by elevation of cTn values $>5 \times 99^{\text{th}}$ percentile URL in patients with normal baseline values ($\leq 99^{\text{th}}$ percentile URL) or a rise of cTn values $>20\%$ if the baseline values are elevated and are stable or falling. In addition, either (i) symptoms suggestive of myocardial ischaemia, or (ii) new ischaemic ECG changes or new LBBB, or (iii) angiographic loss of patency of a major coronary artery or a side branch or persistent slow-or no-flow or embolization, or (iv) imaging demonstration of new loss of viable myocardium or new regional wall motion abnormality are required.</p>
<p>Type 4b: Myocardial infarction related to stent thrombosis</p> <p>Myocardial infarction associated with stent thrombosis is detected by coronary angiography or autopsy in the setting of myocardial ischaemia and with a rise and/or fall of cardiac biomarkers values with at least one value above the 99^{th} percentile URL.</p>
<p>Type 5: Myocardial infarction related to coronary artery bypass grafting (CABG)</p> <p>Myocardial infarction associated with CABG is arbitrarily defined by elevation of cardiac biomarker values $>10 \times 99^{\text{th}}$ percentile URL in patients with normal baseline cTn values ($\leq 99^{\text{th}}$ percentile URL). In addition, either (i) new pathological Q waves or new LBBB, or (ii) angiographic documented new graft or new native coronary artery occlusion, or (iii) imaging evidence of new loss of viable myocardium or new regional wall motion abnormality.</p>

Pada infark miokardium tipe 2, terbentuknya jejas miokardium dengan nekrosis akibat kondisi selain penyakit *arteria coronaria* akan berkontribusi terhadap perubahan ketersediaan dan kebutuhan oksigen. Selain itu, dimungkinkan terjadi peningkatan penanda (*biomarker*) jantung dikarenakan efek toksik langsung oleh kadar katekolamin yang tinggi. Vasospasme *arteria coronaria* dan/atau disfungsi endotel juga memiliki potensi menyebabkan infark miokardium.³ Mekanisme patologis tersebut mendasari induksi infark miokardium pada penelitian ini.

Secara umum, teknik induksi infark miokardium pada hewan coba membutuhkan prosedur pembedahan seperti ligasi *arteria coronaria*, pengikatan aorta, atau implantasi *minipump* osmotik agonis β -adrenergik yang berhubungan dengan peningkatan risiko morbiditas dan mortalitas akibat infeksi. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu teknik non invasif untuk model hewan coba yang mampu membuat jejas miokardium dengan insidensi mortalitas yang rendah.¹⁶

2.1.2 Induksi Infark Miokardium dengan Isoproterenol

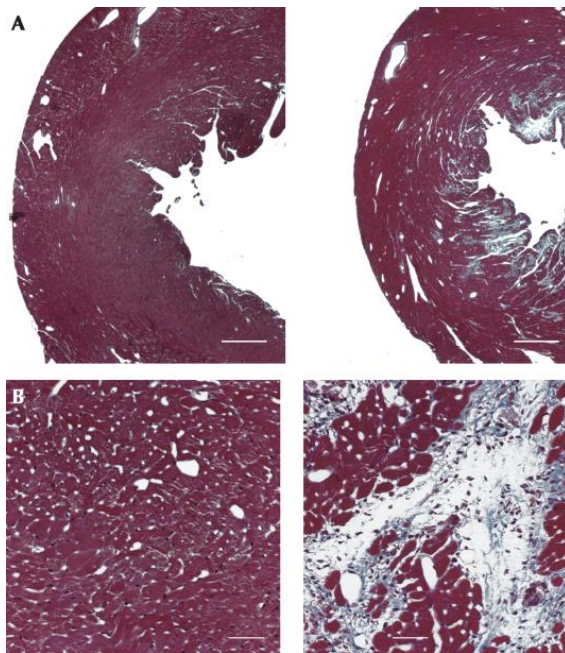
Katekolamin merupakan modulator sistem saraf simpatis yang pada konsentrasi rendah akan memberikan manfaat dalam pengaturan fungsi jantung dengan efek inotropik positifnya. Meskipun begitu, administrasi katekolamin pada dosis tinggi atau pengeluarannya yang berlebihan secara endogen akan menguras cadangan energi kardiomyosit dan menghasilkan perubahan biokimiawi dan struktural yang berperan dalam kerusakan permanen.¹⁷

Isoproterenol (L- β -(3, 4-dihydroxyphenyl)- α -isopropylaminoethanol hydrochloride), suatu agonis reseptor β -adrenergik yang bersifat simpatomimetik,

menyebabkan stres hebat pada miokardium sehingga menghasilkan lesi infark. Isoproterenol menginduksi infark miokardium secara maksimal pada daerah subendokardium ventrikel kiri dan septum interventrikuler.^{1,16,17}

Ketidakseimbangan kebutuhan dan ketersediaan oksigen miokardium merupakan salah satu efek isoproterenol yang berhubungan dengan peningkatan kerja jantung karena efek inotropik dan kronotropik jantung serta hipotensi pada *arteria coronaria*. Oleh karenanya, infark miokardium yang diinduksi dengan isoproterenol sesuai dengan penggolongan infark miokardium tipe 2. Diketahui pula bahwa terdapat elevasi ion Ca^{2+} di dalam sel pada induksi isoproterenol. Hal ini berarti terjadi peningkatan aliran masuk ion Ca^{2+} yang menimbulkan beban berlebih pada kardiomyosit. Selain itu, salah satu mekanisme terpenting infark miokardium ini adalah munculnya stres oksidatif yang dikarenakan produk metabolik dan pembentukan radikal bebas.^{1,17,18}

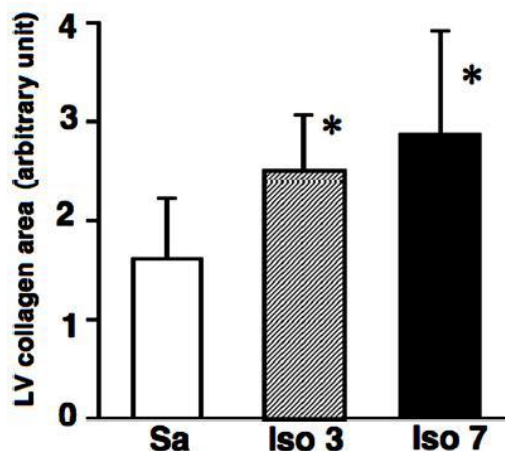
Studi oleh Brooks, et al. pada mencit Swiss-Webster jantan yang diinduksi isoproterenol (100 mg/kg/hari) selama 5 hari menunjukkan adanya perubahan morfologi jantung berupa peningkatan fibrosis interstisial dan penurunan jumlah miosit. Perubahan ini terbatas pada subendokardium pada dinding ventrikel kiri dan septum, tidak meluas hingga epikardium (Gambar 1). Isoproterenol juga meningkatkan densitas kolagen di sekitar *arteria coronaria* intramural.¹⁶



Gambar 1. Perubahan morfologi jantung, pengecatan Masson's Trichrome. Terjadi penurunan proporsi area kardiomyosit dan peningkatan fibrosis pada kelompok isoproterenol (panel kanan) dibandingkan kelompok kontrol (panel kiri).¹⁶

Pada studi lain terhadap hewan coba, pemberian isoproterenol subkutan (150 mg/kg/hari) selama 2 hari akan menurunkan aktivitas katalase pada jaringan miokardium. Hal ini berarti terjadi rusaknya lini pertama pertahanan terhadap stres oksidatif sehingga turut merusak miokardium. Selain itu, terjadi penurunan enzim glutathione pada induksi isoproterenol padahal enzim ini memproteksi miokardium dari kerusakan akibat radikal bebas.¹

Pemberian isoproterenol 1,2 mg/kg/hari secara subkutan setelah 3 dan 7 hari mampu menginduksi hipertrofi jantung. Pada kelompok dengan pemberian isoproterenol selama 3 hari (Iso3) dan 7 hari (Iso7), terjadi peningkatan area kolagen ventrikel kiri secara signifikan (Gambar 2). Ukuran miosit pada Iso3 dan Iso7 juga mengalami pembesaran dibandingkan kelompok yang diberi saline.¹⁹



Gambar 2. Deteksi fibrosis pada jantung, ditandai dengan peningkatan area kolagen pada ventrikel kiri.¹⁹

2.1.3 Cardiac Remodeling dan Pembentukan Jaringan Fibrosis

Cardiac remodeling merupakan ekspresi perubahan genom, molekuler, seluler, dan interstisial yang bermanifestasi dalam perubahan ukuran, bentuk, dan fungsi jantung setelah terkena jejas. Proses ini dipengaruhi oleh status hemodinamik dan aktivitas neurohormon. Pada model pasca-infark miokardium, proses terjadinya *remodeling* ventrikel kiri berlangsung dengan cepat, yaitu beberapa jam setelah infark, dan berlanjut secara progresif. Kecepatan progresi *cardiac remodeling* dipengaruhi oleh etiologi yang mendasari, kejadian ulangan (seperti pada infark miokardium berulang), genotipe, intervensi terapeutik, dan faktor lain seperti kondisi iskemia atau aktivasi neuroendokrin.²⁰

Kehilangan akut miokardium menghasilkan peningkatan beban yang menginduksi pola *remodeling* unik pada zona infark. Nekrosis miosit meningkatkan beban jantung dan memacu perubahan seluler berupa hipertrofi miosit, nekrosis, apoptosis, peningkatan kolagen fibriler, dan proliferasi fibroblas sehingga menimbulkan hipertrofi dan dilatasi jantung secara makroskopik.^{20,21}

Miokardium terdiri dari tiga komponen terintegrasi yaitu miosit, matriks ekstraseluler, dan mikrosirkulasi kapiler yang bersama-sama berfungsi dalam

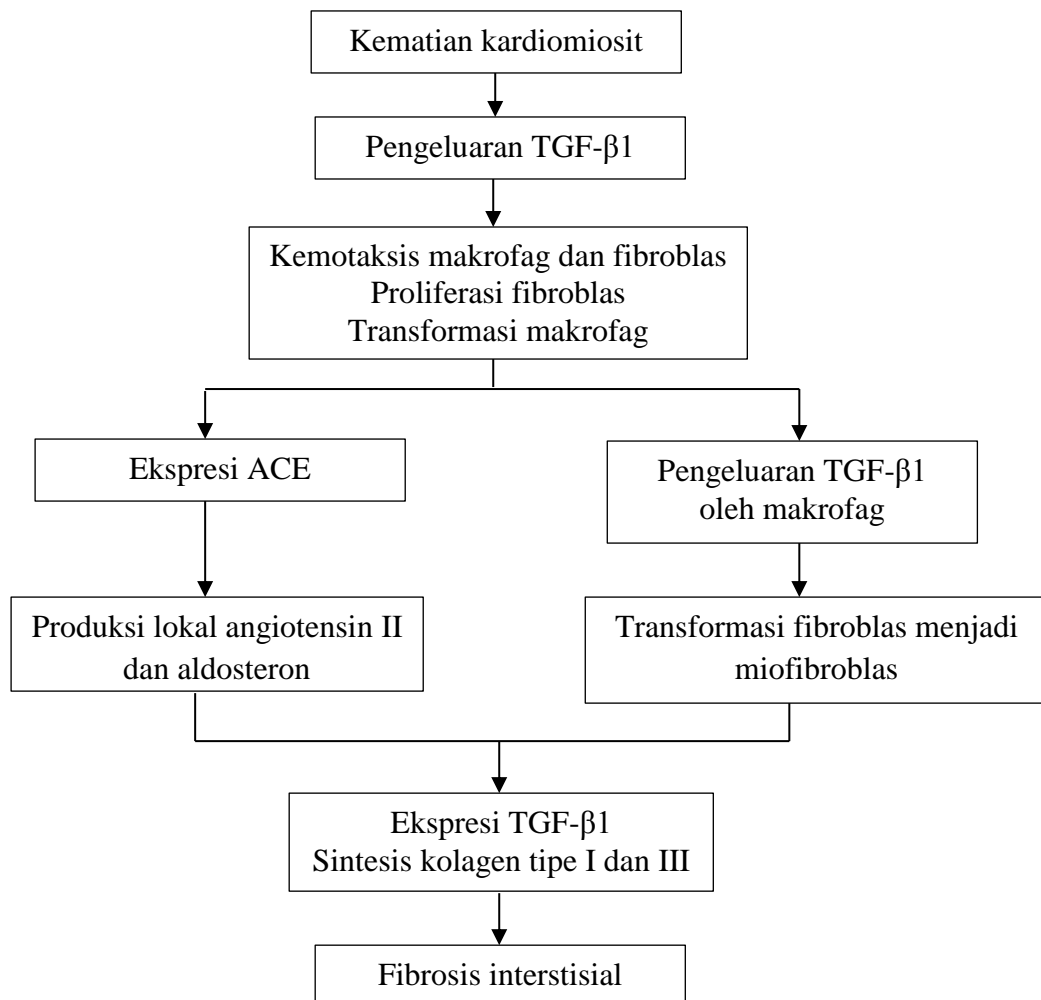
kontraktilitas jantung. Pada *remodeling*, kardiomyosit mengalami diferensiasi terminal. Sebaliknya, matriks ekstraseluler bersifat toleran terhadap stres karena rangka viskoelastiknya mengandung kolagen tipe I dan III. Migrasi makrofag, monosit, serta neutrofil pada zona infark menimbulkan respons inflamasi lokal. Kegagalan normalisasi peningkatan stres pada dinding menghasilkan dilatasi progresif, perubahan zona infark menjadi jaringan fibrosis, dan penurunan fungsi kontraktilnya.²¹

Hipertrofi miosit pada *remodeling* ikut mengubah arsitektur ventrikel dan meningkatkan tekanan pada dinding secara berlebihan sehingga memicu terbentuknya jaringan kolagen pada matriks ekstraseluler untuk stabilisasi dan pencegahan deformasi yang lebih parah.²¹

Aktivasi neurohormon merupakan komponen utama progresivitas gagal jantung dan terjadinya proses *remodeling*. Pada kultur sel, angiotensin II meningkatkan sintesis DNA dan protein fibroblas serta miosit. Angiotensin II juga meningkatkan permeabilitas *arteria coronaria* sehingga memfasilitasi difusi faktor pertumbuhan ke dalam interstisial miokardium. Hal ini diketahui menyebabkan nekrosis dan fibrosis melalui efek sitotoksiknya pada miokardium. Meningkatnya produksi aldosteron yang disebabkan peningkatan angiotensin II menimbulkan perubahan hemodinamik dan stimulasi sintesis kolagen oleh fibroblas miokardium serta memicu kematian miosit.²⁰

Sitokin *transforming growth factor* (TGF- β 1) yang meningkat pada awal *remodeling* di zona infark menstimulasi kemotaksis makrofag dan fibroblas serta proliferasinya. Aktivasi makrofag selain mengatur respons inflamasi juga secara

genetik mengekspresikan *angiotensin-converting enzyme* (ACE) yang merupakan sumber lokal angiotensin II dan aldosteron yang berperan penting dalam fibrosis reparatif. Aldosteron menstimulasi transkripsi mRNA kolagen tipe I dan III. Pelepasan awal TGF- β 1 dari miosit nekrosis dan makrofag juga penting dalam transformasi fibroblas menjadi miofibroblas yang mengekspresikan gen prokolagen tipe I dan III. Sebagian besar deposisi kolagen tipe I dan III berada pada zona infark (Gambar 3).²¹



Gambar 3. Patofisiologi pembentukan jaringan fibrosis interstisial pada proses *cardiac remodeling*.²¹

mRNA kolagen tipe III meningkat pada hari kedua dan bertahan selama 3 minggu, sedangkan mRNA kolagen tipe I meningkat pada hari ke-4 dan bertahan selama 3 bulan. Kolagen bisa dideteksi secara mikroskopik sejak hari ke-7 dan meningkat secara dramatis sampai hari ke-28 ketika seluruh miosit nekrosis tergantikan oleh jaringan fibrosis. Setelah pembentukan jaringan parut mencapai keseimbangan, formasi kolagen akan menurun dan sebagian besar miofibroblas mengalami apoptosis.²¹

Cardiac remodeling merupakan proses adaptif untuk mempertahankan fungsi jantung sebagai respons adanya jejas iskemia akut. *Remodeling* berkelanjutan setelah infark miokardium mungkin tidak dibutuhkan untuk mempertahankan integritas sirkulasi, sehingga *remodeling* pada kondisi ini dapat dilihat sebagai proses maladaptif yang memicu dekompensasi jantung.²⁰

Remodeling progresif dapat selalu dipertimbangkan sebagai proses yang merusak dan sangat berhubungan dengan prognosis buruk bahkan peningkatan morbiditas dan mortalitas penderitanya. Sampai saat ini, tidak ada data untuk mengindikasikan kapan perubahan *remodeling* adaptif menjadi maladaptif terjadi. Meskipun begitu, sudah dipastikan bahwa *remodeling* berkontribusi dalam progresivitas gagal jantung.²⁰

2.2 Metformin

2.2.1 Pengaruh Metformin Pasca-Infark Miokardium

Metformin, suatu obat golongan biguanida, adalah obat antihiperglikemia yang paling banyak diresepkan sebagai terapi diabetes melitus tipe 2. Obat ini

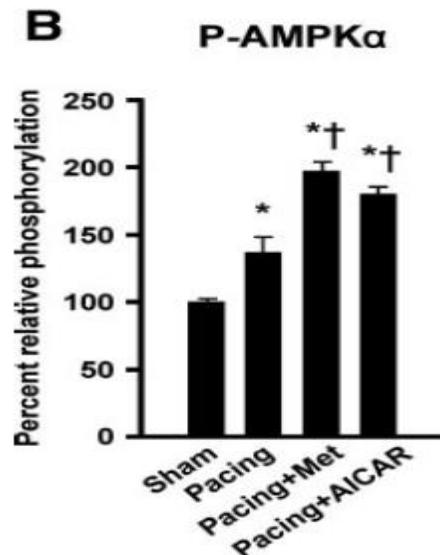
menurunkan kadar gula darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin dan pemasukan glukosa perifer serta menurunkan pengeluaran glukosa pada hati.^{11,15}

Terlepas dari efek antihyperglikemia yang dimilikinya, metformin diketahui berpotensi menurunkan risiko penyakit kardiovaskular pada pasien diabetes dibandingkan dengan obat antidiabetes lain. Meskipun begitu, masih sedikit studi yang menyebutkan efeknya terhadap penyakit kardiovaskular non-diabetes.¹¹

Studi eksperimental yang pernah dilakukan menyebutkan efek pleiotropik metformin dimediasi oleh aktivasi *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK), yaitu suatu kinase protein, sebagai respons perubahan tingkat energi seluler.²² Dengan adanya pencetus stres seluler, seperti hipoksia pada infark miokardium, hipertrofi, dan defisiensi *adenosine triphosphate* (ATP), peningkatan kadar *adenosine monophosphate* (AMP) akan meningkatkan aktivasi dan fosforilasi AMPK. Aktivasi ini meningkatkan pemasukan glukosa dan stimulasi glikolisis pada kardiomyosit.^{8,10,22} Selain itu, AMPK yang telah teraktivasi akan menghentikan jalur anabolik seluler yang menyita ATP melalui fosforilasi enzim-enzim metabolik dan faktor transkripsi penting.²³⁻²⁵ Dengan demikian, AMPK akan menyeimbangkan kebutuhan dan ketersediaan oksigen jantung selama stres iskemia. AMPK juga menghambat stres oksidatif dengan menginduksi anti-oksidan untuk menurunkan kadar spesies oksigen reaktif.²⁶

Studi yang dilakukan oleh Sasaki, et al. menyebutkan bahwa pada hewan coba yang diinduksi *cardiac remodeling*, pemberian metformin mampu meningkatkan fosforilasi AMPK secara signifikan dibandingkan dengan

kelompok kontrol. Fosforilasi AMPK merupakan penanda aktivasi protein kinase ini pada hewan coba (Gambar 3).²⁷



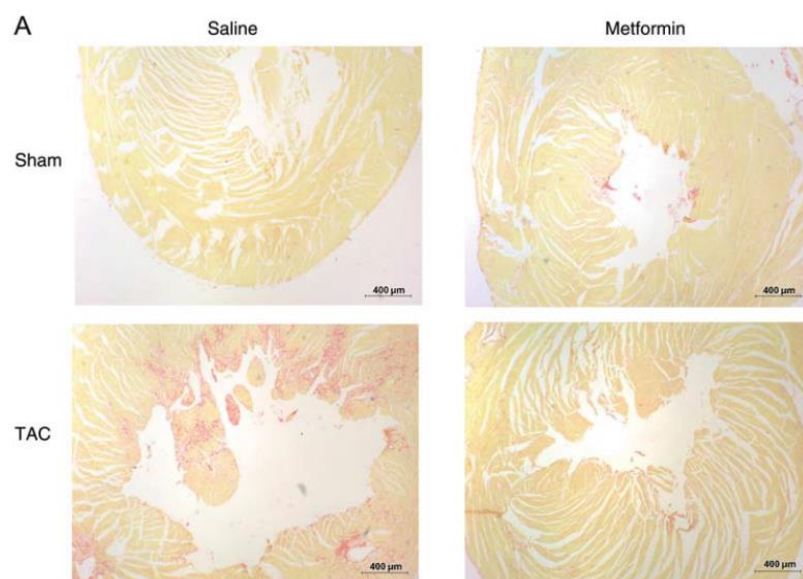
Gambar 4. Fosforilasi AMPK pada pemberian metformin.²⁷

2.2.2 Pengaruh Metformin pada Fibrosis Interstisial Jantung

AMPK dapat mempengaruhi fibrosis interstisial miokardium dengan menghambat proliferasi fibroblas jantung yang diinduksi oleh angiotensin II melalui *extracellular signal-regulated kinase* (ERK).²⁸ ERK adalah salah satu kinase protein utama yang mengatur pertumbuhan dan proliferasi fibroblas jantung. Pada suatu studi disebutkan bahwa aktivasi AMPK menghambat fosforilasi ERK secara signifikan. Interaksi antara ERK dan AMPK ini akan menghambat proliferasi fibroblas sehingga menurunkan fibrosis interstisial jantung.²⁹

Selain itu, AMPK juga menghambat transkripsi yang dimediasi oleh sinyal TGF- β 1-Smad3. Berbagai studi menyebutkan bahwa Smad3 memegang peranan penting dalam stimulasi ekspresi gen pembentukan kolagen yang diinduksi TGF- β 1.^{12,28} Penelitian yang dilakukan oleh Xiao et al. menyebutkan bahwa metformin

menghambat produksi TGF- β 1 pada hewan coba. Selain itu, pemberian metformin pada mencit pasca-infark miokardium dalam waktu 5 minggu mampu menurunkan fibrosis interstisial jantung dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi salin (Gambar 4). Hal ini berarti, mekanisme metformin sebagai antifibrosis berperan dalam penghambatan sintesis kolagen pada proses *cardiac remodeling*.¹²



Gambar 5. Metformin menghambat fibrosis jantung pada mencit. Warna merah mengindikasikan adanya kolagen (pengecatan Sirius Red).¹²