

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolestasis

2.1.1 Anatomi

2.1.1.1 Anatomi Hepar

Hepar adalah kelenjar terbesar pada manusia (kurang lebih 25% berat badan orang dewasa) sebagian besar terletak di kuadran kanan atas regio abdomen. Batas atas hepar sejajar dengan ruang interkostal V kanan dan batas bawahnya menyerong ke atas dari costa IX kanan ke costa VIII kiri. Hepar memiliki pembungkus berupa capsula fibrosa.^{3, 16}

Pada permukaan posteroinferior atau facies visceralis hepar, terdapat cetakan berbagai organ sehingga bentuknya tidak rata. Di daerah ini juga terdapat porta hepatis atau hilus hepatis. Porta hepatis berada di depan vena cava dan di balik vesica biliaris. Porta hepatis terdiri atas duktus hepaticus dexter dan sinister, ramus dexter dan sinister arteri hepatica propria, vena porta hepatica, kelenjar limfe hepar serta serabut-serabut saraf simpatis dan parasimpatis. Bangunan-bangunan ini dikelilingi jaringan ikat di sepanjang celah portal lobuli hepar.^{3, 17-19}

Hepar terbagi menjadi lobus hepatis dexter dan lobus hepatis sinister. Pembagian lobus hepar dapat dilakukan secara anatomis dan fungsional. Pembagian secara anatomis didasarkan pada perlekatan ligamentum falciforme hepatis. Menurut pembagian ini, lobus caudatus dan lobus quadratus termasuk ke

dalam lobus hepatis dexter. Kedua lobus ini dibatasi dari satu sama lain dengan adanya vesica biliaris, fissura ligamenti teretis, vena cava inferior, dan fissura ligamenti venosi.^{16, 17}

Bila ditinjau secara fungsional atau berdasarkan aliran porta hepatis, lobus quadratus dan lobus caudatus termasuk ke dalam area lobus hepatis sinister. Dengan kata lain, lobus quadratus, lobus caudatus, serta lobus hepatis sinister mendapat aliran melalui ramus sinister arteri hepatica propria dan ramus sinister vena porta hepatica serta mengalirkan isinya ke duktus hepaticus sinister. Sedangkan lobus hepatis dexter mendapat aliran melalui ramus dexter arteri hepatica propria dan ramus dexter vena porta hepatica serta mengalirkan isinya ke duktus hepaticus dexter.^{16, 17}

Darah masuk ke hepar melalui arteri hepatica propria (30%) dan vena porta hepatica (70%). Arteri hepatica propria adalah cabang dari truncus coeliacus (cabang dari aorta abdominalis). Arteri ini melanjut ke ramus dexter dan sinister yang menyuplai darah kaya oksigen untuk hepatosit melalui sinusoid. Vena porta hepatica adalah gabungan vena mesenterika superior, inferior, dan vena lienalis. Vena ini melanjut ke ramus dexter dan sinister untuk dilalui aliran darah kaya hasil metabolisme pencernaan dari intestinum ke hepatosit melalui sinusoid. Pada akhirnya, darah dari sinusoid masuk ke vena sentralis di setiap lobulus. Darah dari vena sentralis dialirkan ke vena hepatica dextra dan sinistra kemudian bermuara langsung ke vena cava inferior. Aliran limfe hepar menuju ke

kelenjar limfe di porta hepatis kemudian eferen ke nodus coeliacus. Inervasi hepar adalah plexus coeliacus. Pada plexus ini terdapat komponen simpatis dari plexus coeliacus dan parasimpatis dari truncus vagalis anterior dan posterior.^{19, 20}

2.1.1.2 Anatomi Duktus Biliaris

Fungsi dasar hepar diantaranya membentuk empedu (40 ml per jam). Cabang duktus biliaris terkecil adalah kanalikuli biliaris yang terdapat di antara dua hepatosit yang saling menempel. Kanalikuli biliaris tiap hepatosit saling berhubungan hingga pada porta hepatis dan terbentuk duktus hepatikus dexter dan duktus hepatikus sinister. Duktus hepatikus dexter dan sinister bersatu membentuk duktus hepatikus komunis (4 cm). Duktus hepatikus komunis bergabung dengan duktus sistikus membentuk duktus koledokus.¹⁶⁻¹⁸

Duktus koledokus memiliki 3 bagian. Bagian pertama terletak di pinggir bebas kanan omentum minus (di depan foramen epiploicum), Pada bagian ini duktus koledokus berada pada sisi kanan arteri hepatica dan depan pinggir kanan vena porta hepatis. Pada bagian kedua, duktus terletak di belakang pars superior duodenum di sebelah kanan arteri gastroduodenalis. Pada bagian ketiga, duktus terletak di dalam sulcus pada facies posterior caput pancreas. Pada bagian ini duktus koledokus bersatu dengan duktus pancreaticus. Kedua duktus ini membentuk ampulla hepatopancreatica (ampulla Vaterii) kemudian menembus dinding duodenum pars descendens pada suatu lubang: papilla duodeni major.

Pada ampulla Vaterii terdapat serabut otot sirkular yaitu musculus sphincter ampullae (sphincter Oddi) untuk mengatur aliran empedu.^{17, 20}

2.1.1.3 Anatomi Vesica Biliaris

Vesica biliaris adalah kantong berbentuk buah pir di permukaan bawah hepar (facies visceralis). Vesica biliaris berfungsi menampung 30-50 ml empedu, menyimpan, memekatkannya dengan cara mengabsorpsi air, mengabsorpsi garam-garam empedu dan mempertahankan asam empedu; ekskresi kolesterol; dan sekresi mukus. Secara anatomis, vesica biliaris dibagi menjadi tiga bagian, yaitu fundus, corpus, dan collum. Fundus adalah bagian berbentuk bulat menonjol pada batas bawah hepar dan bersentuhan dengan dinding anterior abdomen setinggi cartilago costa IX kanan. Corpus adalah bagian yang membentuk cetakan pada facies visceralis hepar. Collum adalah bagian terakhir yang melanjut sebagai duktus sistikus dan bergabung dengan duktus hepaticus communis membentuk duktus koledokus.^{17, 21}

Suplai darah vesica biliaris melalui arteri sistika. Arteri ini adalah cabang arteri hepatica dextra. Darah dari vesica biliaris pars collum mengalir ke vena porta. Sedangkan darah dari pars corpus dan fundus mengalir langsung ke hepar. Aliran limfe dari vesica biliaris mengalir ke nodus hepaticus. Inervasi vesica biliaris adalah plexus coeliacus. Pada plexus ini terdapat komponen simpatis dan parasimpatis serta komponen sensoris dari nervus phrenicus dextra.^{16, 20}

Duktus sistikus merupakan kelanjutan collum vesica biliaris sehingga memiliki tunica mukosa yang sama. Tunica mucosa duktus sistikus menonjol membentuk plica spiralis untuk mempertahankan lumen selalu terbuka secara konstan.^{19, 22}

2.1.2 Histologi

2.1.2.1 Histologi Hepar

Hepatosit merupakan komponen struktural utama hepar. Hepatosit berbentuk kubus dan tersusun membentuk lempeng radier mengelilingi vena sentralis. Satuan struktural ini disebut sebagai lobulus hepar (0,7 x 2 mm). Lobulus hepar berbentuk poligonal dan saling berdempetan satu dengan lainnya sehingga sulit ditentukan batasnya. Pada sudut-sudut tiap lobulus terdapat celah portal (trias hepatis). Celah portal berisi duktus biliaris, cabang vena porta (venula), cabang arteri hepatica (arteriol), pembuluh limfe, dan saraf yang terbungkus jaringan ikat. Setiap lobulus memiliki 3-6 celah portal.^{22, 23}

Pada celah diantara susunan lempeng hepatosit terdapat kapiler lebar, yang disebut sinusoid hepar. Sinusoid ini tersusun atas lapisan sel endotel berfenestrata dengan diameter sekitar 100 mm. Antara sel endotel sinusoid dengan hepatosit terdapat suatu celah subendotel, yaitu celah Disse. Sel endotel berfenestrata dan celah Disse memberikan jalan untuk pertukaran molekul darah dari hepatosit ke lumen sinusoid (misalnya fibrinogen, lipoprotein, dan albumin) dan sebaliknya.^{18,}

Pada sinusoid juga terdapat beberapa jenis sel lain, yaitu sel Kupffer (makrofag hepar) dan sel Ito. Sel Kupffer terletak di permukaan luminal sel endotel dan berguna memetabolisme eritrosit tua, mencerna hemoglobin, mensekresi protein yang berguna untuk proses imunologis, dan menghancurkan bakteri yang berhasil masuk ke darah portal melalui intestinum. Sel ini terdapat paling banyak pada daerah periportal sehingga daerah tersebut memiliki tingkat fagositosis yang tinggi. Sel Ito adalah sel penimbun lemak (mengandung inklusi lipid yang kaya vitamin A). Sel ini berfungsi mengambil dan melepas retinoid, mensintesis proteoglikan, protein matriks ekstrasel, faktor pertumbuhan, dan sitokin, serta mengatur diameter lumen sinusoid.^{18, 23}

Pada kontak antar dua hepatosit terbentuk celah tubular yang disebut kanalikuli biliaris. Kanalikuli biliaris berdiameter 1-2 μm dan dibatasi oleh membran plasma dari dua hepatosit dengan sedikit mikrovili di dalamnya. Kontak antar dua hepatosit ini dijaga oleh taut erat.^{3, 22}

Seperti sel lainnya, hepatosit terdiri dari nukleus dan organel sel. Organel sel hepatosit antara lain retikulum endoplasma kasar dan halus. Retikulum endoplasma kasar membentuk agregat tersebar dalam sitoplasma (badan basofilik). Ribosom pada retikulum ini adalah tempat sintesis protein (albumin darah dan fibrinogen). Retikulum endoplasma halus tersebar difus pada hepatosit dan berperan dalam proses oksidasi, metilasi, dan konjugasi untuk menonaktifkan zat sebelum diekskresi tubuh. Contoh fungsi organel ini adalah konjugasi

bilirubin indirek (hidrofobik) toksik menjadi bilirubin direk (hidrofilik) nontoksik oleh glukuroniltransferase.^{18, 22}

Organel hepatosit lainnya adalah lisosom untuk mendegradasi organel sel yang rusak. Hepatosit juga mengandung peroksisom yang berfungsi mengoksidasi kelebihan asam lemak, memecah hidrogen peroksida, memecah kelebihan purin, serta berpartisipasi pada sintesis kolesterol, asam empedu, dan mielin. Organel lain adalah kompleks Golgi yang membentuk lisosom dan mensekresi protein plasma (albumin dan protein komplemen), glikoprotein (transferin), serta lipoprotein (VLDL).^{22, 23}

Hepar manusia memiliki kemampuan regenerasi, artinya jaringan hepar rusak akan memicu pembelahan hepatosit hingga jaringan hepar pulih kembali. Namun kemampuan regenerasi ini terbatas. Bila terjadi kerusakan hepatosit yang kontinu dalam waktu lama, pembelahan hepatosit disertai peningkatan jumlah jaringan ikat (fibrosis). Fibrosis yang terjadi secara difus disebut sebagai sirosis (ireversibel).^{18, 24}

2.1.2.2 Histologi Duktus Biliaris

Terdapat dua jenis sel epitel yang melapisi duktus biliaris, yaitu sel kuboid dan sel silindris. Duktus biliaris terdiri atas (dari yang paling awal) kanalikuli biliaris, duktulus biliaris, duktus hepatikus, duktus hepatikus komunis, dan duktus koledokus. Sel epitel kuboid melapisi duktus biliaris mulai dari kanalikuli biliaris

hingga duktulus biliaris. Sel epitel silindris melapisi duktus biliaris mulai dari duktulus biliaris hingga duktus koledokus.^{16, 23}

Pada duktus hepaticus, duktus sistikus, dan duktus koledokus terdapat lapisan lamina propria yang dikelilingi sedikit otot polos. Lapisan otot polos semakin menebal seiring dengan perjalanan ke duodenum hingga pada ampulla Vaterii membentuk musculus sphincter ampullae.^{22, 23}

2.1.2.3 Histologi Vesica Biliaris

Vesica biliaris tersusun dari dalam ke luar: epitel silindris selapis, lamina propria, selapis otot polos, jaringan ikat perimuskular, dan membran serosa. Sel epitel berfungsi menghasilkan mukus dan memekatkan empedu. Pemekatan empedu terjadi dengan pengangkutan natrium klorida di lumen ke jaringan ikat yang berdekatan. Pengangkutan ini menarik air secara pasif dari lumen sehingga cairan empedu menjadi pekat.^{18, 22}

2.1.3 Biokimia Empedu

Penghasil utama empedu adalah hepatosit dan dibantu sel duktus biliaris di sepanjang duktulus biliaris (40% dari 600 ml produksi empedu setiap hari).²¹ Empedu mengandung molekul inorganik (ion, bikarbonat, dsb.), molekul organik (fosfolipid, kolesterol, bilirubin, nukleotida adenosin, protein seperti albumin dan globulin), serta campuran 3-10 asam empedu.²⁵ Peran utama empedu adalah memecah butiran lemak supaya pencernaan lemak lebih efisien dan ekskresi produk sisa (kolesterol, bilirubin, logam berat).^{3, 18}

Sekitar 90% asam empedu berasal dari absorpsi epitel ileum bagian distal ke sistem porta hepar (sirkulasi enterohepatik) dan 10% sisanya berasal dari sintesis oleh retikulum endoplasma halus melalui konjugasi asam kolat (hasil sintesis dari kolesterol oleh hepar) dengan asam amino glisin (glikokolat) atau taurin (asam taurokolat).^{18, 26} Asam kolat adalah contoh asam empedu primer.²⁵ Konjugasi asam empedu ini menyebabkan asam empedu bersifat larut air. Asam empedu inilah yang berperan utama pada emulsifikasi lemak dan penyerapan lemak intraluminal.³

Asam empedu ditranspor melalui duktus biliaris ke duodenum kemudian mengikuti alur saluran pencernaan. Di dalam intestinum, asam empedu primer mengalami dekonjugasi menjadi asam empedu sekunder, seperti deoksikolat (DC) dan litokolat (LC), dan tertier (ursodeoksikolat).²⁵ Setelah sampai ke ileum terminalis, asam empedu direabsorpsi secara transpor aktif dan sisanya mengalir ke intestinum crassum untuk dimetabolisme bakteri (50% asam empedu yang sampai di intestinum crassum direabsorpsi kembali).^{3, 21}

Asam empedu memiliki berbagai peran, antara lain: penggerak aliran pembentukan empedu (menarik gerakan air melalui mekanisme osmosis), melarutkan molekul xenobiotik lipofilik dan berikatan dengan kation logam berat pada proses detoksifikasi, pencernaan makanan, perlindungan terhadap pertumbuhan bakteri, sinyal pada metabolisme glukosa, sinyal pada produksi hormon tiroid, dan sinyal pada sistem imun.^{21, 25}

Fungsi emulsifikasi (deterjen) empedu berkaitan dengan fungsi empedu untuk mengubah globulus (gumpalan) lemak besar menjadi emulsi lemak (butiran/tetes lemak dengan diameter 1 mm). Emulsi lemak memiliki luas permukaan lebih besar daripada globulus lemak sehingga lipase pancreas dapat bekerja lebih efisien. Trigliserida tidak larut dalam air sehingga cenderung menggumpal menjadi butir besar di daerah intestinum tenue yang banyak mengandung air. Empedu memiliki bagian yang larut lemak (berasal dari kolesterol) dan bagian yang larut air (muatan negatif). Bila empedu tercampur dengan lemak, maka bagian larut lemak akan larut dan menyisakan bagian larut air pada permukaan butir lemak tersebut. Bagian larut air ini menciptakan selubung muatan negatif pada setiap tetesan lemak sehingga saling tolak-menolak antar tetesan lemak dan mencegah tetesan bergabung menjadi gumpalan besar.^{3, 26, 27}

Bilirubin yang terkandung pada empedu adalah pigmen kuning dengan struktur tetrapirrol. Bilirubin memiliki lima tahapan metabolisme, yaitu fase prehepatik (pembentukan bilirubin dan transpor plasma), fase intrahepatik (liver uptake dan konjugasi), dan fase ekstrahepatik (ekskresi bilier).^{28, 29}

Bilirubin yang terbentuk setiap harinya adalah 4 mg per kg berat badan (250-350 mg). Bilirubin ini berasal dari pemecahan sel darah merah yang matang (70-80%) dan protein hem lain di sumsum tulang dan hepar (20-30%, disebut sebagai *early labeled bilirubin*). Hemoglobin pada sel darah merah dipecah

menjadi hem dan globin. Hem (ferro-protoporfirin IX) dipecah menjadi besi dan biliverdin IX α dengan perantaraan enzim hemeoksigenase. Biliverdin IX α kemudian diubah menjadi bilirubin IX α (serta bilirubin IX β dan bilirubin IX δ dalam jumlah kecil) dengan perantaraan enzim biliverdin reduktase. Tahapan-tahapan di atas terjadi pada sel fagosit mononuklear (sistem retikuloendotelial termasuk sel Kupffer). Pada tahapan ini, kadar bilirubin meningkat bila terjadi peningkatan hemolisis sel darah merah dan kadar *early labeled bilirubin* meningkat pada proses eritropoiesis yang tidak efektif.^{3, 21, 28-30}

Bilirubin yang terbentuk (IX α) disebut sebagai bilirubin indirek/ tidak terkonjugasi dan memiliki sifat hidrofobik sehingga tidak dapat mengalir dalam darah secara tunggal. Transpor bilirubin di dalam darah terjadi dengan bantuan albumin. Albumin membawa bilirubin ke hepar. Bilirubin indirek juga mempunyai sifat toksik sehingga perlu dinetralisasi hepar. Sifat larut lemak bilirubin indirek menyebabkannya dapat melalui sawar darah-otak dan plasenta.^{29, 30}

Pengambilan bilirubin indirek oleh hepar terjadi melalui sistem transpor terfasilitasi. Setelah masuk ke hepatosit, bilirubin berikatan dengan ligandin dan protein Y supaya tidak mengalir kembali ke darah. Bilirubin indirek selanjutnya mengalami proses konjugasi untuk “menetralisasi sifat toksiknya”. Konjugasi dilakukan dengan perantaraan enzim glukuroniltransferase pada retikulum endoplasma halus hepatosit. Bilirubin indirek dikonjugasi dengan asam glukuronat menjadi bilirubin monoglukuronida dan kemudian bilirubin

diglukuronida (bilirubin konjugasi/ bilirubin direk). Bilirubin direk ini memiliki sifat larut air dan nontoksik.^{3, 21, 30}

Bilirubin direk dan konstituen empedu lainnya dikeluarkan ke kanalikuli biliaris melalui protein transpor bergantung ATP pada membran kanalikular: *multidrug resistance-associated protein* MRP2 dan *ATP-binding cassette efflux transporter* ABCG2. Apabila MRP2 jumlahnya berkurang pada membran kanalikular, tubuh mengompensasi dengan menambah jumlah MRP2 di membran sinusoidal sehingga empedu mengalir ke sinusoid dan tidak menumpuk di hepatosit. Pada keadaan fisiologis, sebagian kecil bilirubin terkonjugasi ditranspor ke sinusoid oleh MRP3 dan diserap kembali oleh OATP1B1 (*organic anion transporting polypeptide*) dan OATP1B3 untuk sekresi ke duktus biliaris.^{31, 32}

Setelah masuk ke kanalikuli biliaris, empedu ditranspor ke duktus biliaris untuk mencapai ke intestinum. Di dalam intestinum, flora normal mengeluarkan β -glukuronidase yang mendekonjugasi dan mereduksi bilirubin menjadi urobilinogen. Sebagian besar urobilinogen direabsorpsi untuk dibawa ke hepar (siklus enterohepatik) atau ke ginjal. Urobilinogen di ginjal diubah menjadi urobilin yang merupakan pigmen urin. Urobilinogen yang tidak direabsorpsi diteruskan ke intestinum crassum untuk diubah menjadi sterkobilinogen dan sterkobilin, pigmen feses.^{28, 30}

Sekresi empedu ke dalam duodenum dipengaruhi oleh tiga mekanisme, yaitu mekanisme kimiawi (empedu), mekanisme hormon (kolesistokinin dan

sekretin), dan mekanisme saraf (saraf vagus). Bahan yang dapat meningkatkan sekresi empedu disebut bersifat koleretik. Koleretik terkuat adalah empedu itu sendiri. Pada saat makan, empedu dibutuhkan dan sedang digunakan sehingga sekresi harus ditingkatkan. Peningkatan sekresi ini terjadi melalui mekanisme sirkulasi enterohepatik.^{26, 27}

Empedu disekresi selama pencernaan makanan berlemak. Makanan ini menstimulasi pelepasan kolesistokinin (CCK). CCK merangsang kontraksi vesica biliaris untuk mengosongkan empedu yang ditampungnya dan relaksasi musculus sphincter ampullae supaya empedu bisa masuk ke duodenum. Sekretin berperan merangsang sekresi empedu kaya alkali. Saraf vagus menstimulasi hepar untuk mensekresi empedu selama fase sefalik (sebelum makanan mencapai lambung atau intestinum).^{26, 27}

2.1.4 Manifestasi Kolestasis

Kolestasis didefinisikan sebagai sindrom klinis dan biokimiawi yang disebabkan gangguan aliran empedu mulai dari sel hepar hingga ampula Vaterii. Manifestasi klinis yang disebabkan kolestasis antara lain ikterus dan pruritus sedangkan gangguan biokimiawi yang terjadi antara lain peningkatan kadar *alkaline phosphatase* dan peningkatan fraksi bilirubin terkonjugasi di dalam serum darah lebih dari 20% dari kadar bilirubin serum total.¹⁻³

Kolestasis menyebabkan peningkatan bilirubin dalam darah atau hiperbilirubinemia. Hiperbilirubinemia terbagi menjadi hiperbilirubinemia tak

terkonjugasi dan hiperbilirubinemia konjugasi. Hiperbilirubinemia tak terkonjugasi adalah peningkatan kadar bilirubin indirek (larut lemak) antara lain disebabkan karena peningkatan hemolisis. Hiperbilirubinemia konjugasi dapat terjadi melalui proses non-kolestasis, misalnya pada sindrom Dubin-Johnson, maupun proses kolestasis. Sindrom Dubin-Johnson terjadi karena gangguan ekskresi berbagai anion organik (termasuk bilirubin). Berbeda dengan hiperbilirubinemia konjugasi kolestasis, pada hiperbilirubinemia konjugasi non-kolestasis hanya terjadi peningkatan kadar bilirubin direk tanpa disertai peningkatan asam empedu (aliran dan ekskresi asam empedu normal).²

Hiperbilirubinemia konjugasi kolestasis dibedakan menjadi kolestasis intrahepatik dan kolestasis ekstrahepatik. Kolestasis disebut intrahepatik bila lokasi anatomi gangguan ekskresi empedu terjadi antara sitoplasma hepatosit hingga duktus biliaris ukuran sedang (diameter 400 μm). Kolestasis disebut ekstrahepatik bila gangguan ekskresi empedu terjadi di duktus dengan diameter di atas 400 μm , terutama duktus koledokus.¹

2.1.5 Penyebab Kolestasis Intrahepatik

Kolestasis intrahepatik paling sering disebabkan karena hepatitis virus, keracunan obat (asetaminofen, penisilin, kontrasepsi oral, klorpromazin, dan steroid estrogenik atau anabolik), penyakit hepar karena alkohol dan penyakit hepatitis autoimun. Penyebab yang kurang sering adalah *Primary Biliary*

Cirrhosis, kolestasis pada kehamilan, karsinoma metastatik dan penyakit lainnya.^{3,29}

2.1.6 Penyebab Kolestasis Ekstrahepatik

Kolestasis ekstrahepatik paling sering disebabkan karena batu duktus koledokus dan kanker pancreas. Penyebab lainnya adalah striktur jinak (akibat bekas operasi) pada duktus koledokus, karsinoma duktus koledokus, pankreatitis atau *pseudocyst pancreas*, dan *Primary Sclerosing Cholangitis*.^{3,29}

2.1.7 Patogenesis dan Patofisiologi Kolestasis

Kolestasis merupakan kegagalan empedu mencapai ke duodenum sehingga menyebabkan penumpukan empedu di hepar serta masuknya konstituen empedu ke sirkulasi sistemik. Retensi bilirubin memunculkan warna tinja yang lebih pucat (akibat pigmen warna berkurang) dan pruritus (akibat peningkatan asam empedu di sirkulasi).^{3,28}

Pada kondisi fisiologis, kadar asam empedu dijaga pada batas yang aman untuk mencegah kerusakan organel sel. Pada keadaan kolestasis, mekanisme kontrol kadar asam empedu ini terganggu sehingga kadar asam empedu intraseluler dapat mencapai kadar yang merusak organel sel. Target kerusakan utama asam empedu di hepar adalah hepatosit dan sel duktus biliaris. Pada konsentrasi mikromolar rendah, asam empedu hidrofobik menyebabkan kerusakan pada mitokondria tanpa mempengaruhi integritas membran plasma. Pada konsentrasi milimolar atau mikromolar tinggi, asam empedu hidrofobik

mampu melarutkan membran plasma. Asam empedu hidrofilik membutuhkan dosis yang jauh lebih tinggi dari asam empedu hidrofobik untuk menghasilkan efek toksik. Mekanisme kerusakan mitokondria dan membran plasma ini diduga berkaitan dengan mekanisme direk dan mekanisme inflamasi.^{25, 33} Pada percobaan *in vitro* didapatkan bahwa asam empedu hidrofobik dosis milimolar berikatan langsung (direk) dengan lapisan lemak ganda di membran plasma sehingga menimbulkan lubang-lubang pada membran sel.²⁵

Mitokondria adalah organel yang rentan pada peningkatan kadar asam empedu. Peningkatan kadar asam empedu hidrofobik mengaktivasi reseptor Fas *death* yang diikuti aktivasi kaspase 8 dan molekul pro-apoptosis Bid. Bid mengaktifkan molekul pro-apoptosis lain, Bax, ke membran mitokondria sehingga terbentuk MPTP (*mitochondrial permeability transition pore*). MPTP menyebabkan peningkatan permeabilitas membran mitokondria dalam terhadap ion secara mendadak. Proses ini diikuti dengan pembengkakan mitokondria, pelepasan sitokrom c ke sitosol, interaksi sitokrom c dengan *apoptotic protease-activating factor 1*, aktivasi kaspase 9, dan kematian sel melalui apoptosis.^{25 34}

Salah satu mekanisme baru yang diajukan adalah apoptosis sel disebabkan karena stress pada retikulum endoplasma. Penumpukan asam empedu pada retikulum endoplasma memicu stress pada retikulum endoplasma dan kerusakan integritas membran retikulum endoplasma. Proses ini dilanjutkan dengan pelepasan kalsium ke sitosol dan aktivasi kaskade apoptosis intrinsik.²⁵

Berdasarkan penelitian terbaru, mekanisme direk yang dijelaskan di atas tidak dijumpai pada percobaan *in vivo* sehingga mekanisme direk dianggap tidak memiliki peran penting dalam mekanisme kerusakan sel karena asam empedu.²⁵ Pada keadaan *in vivo*, kadar asam empedu hidrofobik tidak pernah mencapai kadar toksik minimal yang diperlukan untuk menghancurkan sel secara langsung. Asam empedu yang terdapat pada kondisi *in vivo* juga merupakan campuran asam empedu hidrofobik dengan asam empedu protektif yang memiliki aktivitas meningkatkan kerja inhibitor apoptosis.^{33, 35}

Menurut percobaan *in vivo*, kerusakan sel hepar terjadi karena proses inflamasi. Setelah ligasi duktus koledokus, terjadi ruptur duktus biliaris sehingga hepatosit terpapar dengan banyak asam empedu proinflamasi. Asam empedu ini memicu ekspresi ICAM-1, MIP-2, dan mKC di hepatosit. Pelepasan kemokin ini mengaktifasi neutrofil di sirkulasi dan menciptakan gradien kemotaktik yang sesuai untuk ekstravasasi neutrofil ke hepatosit.³³

Neutrofil memproduksi zat oksidan seperti superoksida melalui perantaraan enzim *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) *oxidase* dan asam hipoklorat melalui perantaraan mieloperoksidase. Akumulasi neutrofil pada kolestasis meningkatkan aktivitas mieloperoksidase dan NADPH oxidase. Asam hipoklorat dan superoksida menyebabkan stress oksidatif pada hepatosit yang menyebabkan kerusakan sel dan pada akhirnya nekrosis sel. Nekrosis sel ditandai dengan pembengkakan sel, fragmentasi DNA, dan pelepasan

komponen seluler. Selain peran NADPH oxidase dalam membentuk superoksida, NADPH oxidase juga ditemukan di sel stellata hepar dan sel Kupffer sehingga berkontribusi pada proses fibrosis akibat ligasi duktus koledokus. Superoksida dan asam hipoklorat juga memicu kelebihan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β melalui peningkatan aktivitas NF- κ B (*nuclear factor kappa beta*).^{33, 36}

Zat oksidan yang muncul dalam proses kolestasis seharusnya dapat dilawan oleh zat antioksidan yang diproduksi di hepar. Namun pada proses kolestasis terdapat disfungsi dalam pembentukan antioksidan ini. Pada sebuah percobaan ligasi duktus koledokus tikus ditemukan penurunan kadar vitamin E, glutathione hepar, dan selenium serum.³⁶

Kolestasis pada akhirnya menimbulkan fibrosis pada hepar. Fibrosis adalah proses hilangnya sel parenkim hepar yang diikuti akumulasi matriks ekstraseluler dan hilangnya sel parenkim hepar. Pada proses kolestasis, terjadi peningkatan pelepasan TGF- β 1 (*Transforming Growth Factor*), PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*), FGF (*Fibroblast Growth Factor*), dan endothelin-1 (ET-1) yang mengaktivasi sel stellata hepar (liposit, sel Ito) menjadi miofibroblas. TGF- β 1 diproduksi di sel Kupffer, miofibroblas, dan hepatosit. Miofibroblas memproduksi matriks ekstraseluler berupa fibronectin (kolagen tipe I) yang ditandai dengan peningkatan ekspresi α -smooth muscle actin (α -SMA) di hepar.^{24, 37}

Pada penelitian oleh Sticova, ditemukan konsep bahwa kolestasis menyebabkan penurunan ekspresi protein transpor seperti *Sodium-Taurocholate Cotransporting Polypeptide* (NTCP) dan OATP1B1 pada membran sinusoidal hepatosit yang berguna untuk menyerap empedu dari sinusoid. Pada kolestasis akibat obstruktif dan sepsis juga ditemukan penurunan ekspresi protein transpor MRP2 pada membran kanalikular dan peningkatan ekspresi protein MRP2 pada membran sinusoidal. Diduga hal ini bertujuan mengalirkan asam empedu yang menumpuk kembali ke sinusoid dan sirkulasi sistemik. Jadi pada kolestasis, aliran empedu ke sistemik berlangsung karena transpor oleh MRP2 dan MRP3 (secara fisiologis sebagian kecil empedu dialirkan ke sinusoid oleh MRP3).³¹

2.2 Kadar Bilirubin Sebagai Marker Kolestasis dan Penyembuhannya

Kolestasis secara klinis ditandai adanya kenaikan kadar fraksi bilirubin terkonjugasi di dalam serum darah lebih dari 20% dari kadar bilirubin serum total.² Bilirubin total adalah pengukuran seluruh bilirubin di darah (nilai normal 0,2 – 1,2 mg/dl) sedangkan bilirubin direk adalah pengukuran kadar bilirubin larut air dengan nilai normal 0 - 0,3 mg/dl. Bilirubin indirek dapat dihitung dari selisih bilirubin total dengan bilirubin direk.³⁸

Pada proses kolestasis, terjadi kegagalan transpor empedu ke duodenum dan menyebabkan akumulasi empedu (termasuk bilirubin) pada kanalikuli biliaris. Akumulasi ini pada akhirnya mencapai batas taut erat antar hepatosit

lepas dan terjadi perpindahan empedu dari kanalikuli biliaris ke darah sinusoid hepar. Nekrosis serta apoptosis hepatosit yang terjadi pada kolestasis juga menyebabkan masuknya empedu ke sinusoid hepar. Pada kolestasis terdapat pula perubahan protein transpor pada membran hepatosit dan berakibat pengalihan aliran empedu ke sinusoid (MRP2 membran sinusoidal). Di sini dapat diambil kesimpulan bahwa keparahan kerusakan hepar nampak dalam kadar bilirubin total dan direk di serum.^{26, 31, 38}

Kadar bilirubin juga dapat digunakan sebagai marker kesembuhan kolestasis. Hal ini dilihat dari mekanisme kerja UDCA sebagai antiapoptosis dan antioksidan serta kerja glutathione sebagai antioksidan. Kedua substansi ini mencegah kematian hepatoseluler baik karena apoptosis maupun nekrosis sehingga empedu tidak bocor ke sinusoid hepar. Maka pengukuran kadar bilirubin total dan direk setelah pemberian UDCA dan glutathione pada tikus diligasi duktus koledokusnya dapat dikatakan menggambarkan seberapa efektif kedua substansi memperbaiki efek kolestasis yang terjadi.^{26, 34, 39}

Peningkatan kadar enzim serum digunakan sebagai indikator toksisitas hepar sedangkan peningkatan kadar bilirubin total dan konjugasi digunakan untuk mengukur fungsi hepar secara keseluruhan. Peningkatan kadar transaminase diikuti kenaikan kadar bilirubin menjadi 2 kali normal disebut sebagai marker khas hepatotoksitas. Perkiraan kadar bilirubin serum, bilirubin urin, dan urobilinogen dapat digunakan untuk menentukan kapasitas hepar pada transpor

anion organik dan metabolisme obat/ xenobiotik. Peningkatan kadar bilirubin dengan sedikit atau tanpa peningkatan *alanine transaminase* (ALT) menandakan kolestasis. Pada kerusakan hepar yang akut, bilirubin total merupakan indikator yang baik untuk menentukan keparahan kerusakan hepar dibandingkan dengan ALT.³⁸

Uji bilirubin juga digunakan sebagai marker berbagai penyakit kolestasis. Pada sebuah uji klinis didapatkan uji bilirubin sebagai uji yang sensitif untuk melihat prognosis dan progresi penyakit sklerosis biliaris primer. Pasien dengan kadar marker biokimia (bilirubin, *alkaline phosphatase*, dan *aspartate aminotransferase*) lebih rendah memiliki prognosis 10-tahun-bebas-transplan lebih baik dibandingkan pasien dengan kadar marker biokimia lebih tinggi.¹³

Pada sebuah penelitian didapatkan pula peningkatan bilirubin terkonjugasi sebagai marker yang baik untuk menentukan apakah neonatus memiliki penyakit hepatobiliaris. Untuk kadar bilirubin terkonjugasi >5 mg/dl, 47% neonatus memiliki penyakit biliaris dan 43% memiliki penyakit hepar.⁴⁰ Kriteria diagnosis kolestasis neonatus antara lain kuning pada periode neonatus, total bilirubin >5 mg/dl, rasio bilirubin direk dan total bilirubin >20%, tinja pucat, dan peningkatan enzim hepar. Pada kolestasis neonatus didapat korelasi kuat antara kadar bilirubin total dan bilirubin direk dengan lamanya kolestasis. Semakin tinggi kadar bilirubin direk dan bilirubin total di serum, semakin lama durasi kolestasis.

Dengan konsep ini, durasi kolestasis neonatus dapat diperpendek dengan menurunkan kadar bilirubin total, bilirubin direk, asam empedu, ALT, dan AST di serum.⁴¹

Bilirubin total selama 3 bulan setelah hepatoportoenterostomi pasien atresia biliaris juga ditemukan sebagai parameter yang baik untuk memprediksi prognosis kehidupan bayi selama 2 tahun berikutnya. Bilirubin total >2 mg/dl menunjukkan mayoritas anak akan meninggal atau membutuhkan transplantasi liver pada usia 2 tahun dan mengalami komplikasi penyakit hepar kronik yang lebih cepat (kegagalan pertumbuhan, asites, hipoalbuminemia).⁴²

2.3 UDCA

Ursodeoxycholic acid (UDCA; 3 α , 7 β -dihydroxy-5 β -cholanolic acid) merupakan contoh asam empedu hidrofilik yang diproduksi tubuh dan berjumlah kira-kira 3% dari keseluruhan asam empedu di tubuh.^{13, 34} UDCA dibentuk dari modifikasi asam *chenodeoxycholic* oleh bakteri di intestinum dan hepar (asam empedu tertier).²⁵ Selain dalam bentuk endogen, UDCA kini tersedia sebagai obat pilihan untuk berbagai penyakit kolestasis.³⁴

2.3.1 Farmakokinetik

UDCA tersedia dalam bentuk tablet dan kapsul asam sulit larut pada pH <7. Administrasi oral UDCA secara terus-menerus akan meningkatkan proporsi UDCA pada asam empedu. Dosis harian 13-15 mg/kgBB UDCA meningkatkan

proporsi UDCA di asam empedu sejauh 40-50% pada pasien PBC. Peningkatan dosis ini tidak selalu berbanding lurus, dimana akan ada tahap plateau: peningkatan administrasi tidak meningkatkan proporsi UDCA di asam empedu.⁶

34

Pada administrasi oral, sebagian besar UDCA diserap di intestinum tenue melalui transpor aktif dan sebagian kecil di intestinum crassum melalui mekanisme difusi pasif non-ionik. Kapasitas absorpsi UDCA meningkat pada konsumsi bersama makanan dan menurun pada pasien kolestasis. UDCA berkompetisi dengan asam empedu endogen untuk absorpsi di intestinum.^{34, 43}

Setelah absorpsi, UDCA ditranspor ke hepar melalui vena porta untuk mengalami metabolisme lintas pertama: konjugasi dengan glisin dan taurin. Tidak seperti kapasitas absorpsi, kapasitas konjugasi asam empedu tidak terganggu meskipun seseorang berada dalam kondisi kolestasis. UDCA-terkonjugasi disekresikan ke empedu secara aktif. UDCA-terkonjugasi inilah yang merupakan zat aktif dalam pengobatan kolestasis.^{44, 45}

UDCA yang tidak terabsorpsi berlanjut ke intestinum crassum untuk mengalami dekonjugasi dan konversi menjadi asam litokolat (hidrofobik) oleh bakteri. Sebagian asam litokolat diserap dan dikembalikan ke hepar untuk mengalami sulfasi kemudian diekskresikan lewat feses. Hampir seluruh proses eliminasi UDCA terjadi lewat feses. Eliminasi melalui ginjal tidak terlalu berperan.^{5, 43}

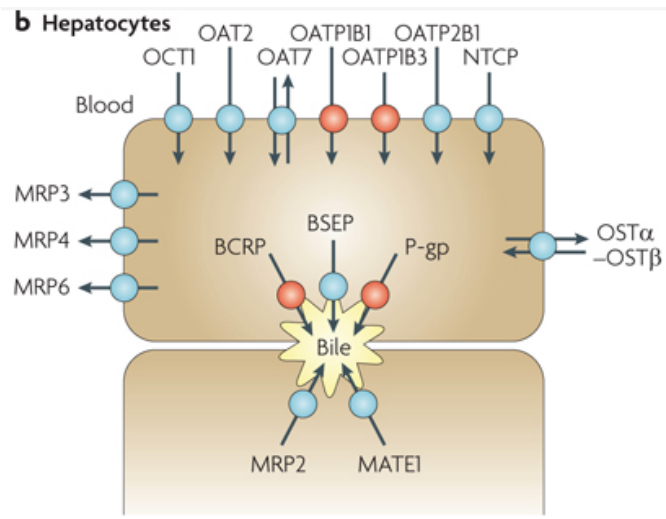
2.3.2 Farmakodinamik

Mekanisme UDCA dalam pengobatan kolestasis terbagi menjadi tiga mekanisme utama: perlindungan sel duktus biliaris dari asam empedu hidrofobik yang sitotoksik, stimulasi sekresi hepatobilier (koleretik), dan perlindungan hepatosit dari apoptosis yang dipicu asam empedu (anti-apoptosis).^{5, 6, 13}

Pada konsentrasi milimolar atau mikromolar tinggi, asam empedu hidrofobik mampu melarutkan membran plasma sel.^{25, 33} Konsentrasi yang tinggi tercapai terutama di duktus biliaris (pada duktus hepatikus dextra, duktus hepatikus sinistra, duktus hepatikus communis, duktus sistikus, dan duktus koledokus). Sel duktus biliaris dilindungi dari asam empedu hidrofobik dengan adanya struktur misel yang terdiri dari gabungan asam empedu dan fosfolipid. UDCA berperan mengatur komposisi struktur misel melalui perantara Ca^{2+} dan protein kinase C- α (PKC α).^{34, 43}

Pada kolestasis terjadi penumpukan empedu di lumen biliaris. Pemberian UDCA akan merubah proporsi asam empedu hidrofilik pada empedu yang stasis. Empedu yang kaya UDCA bersifat lebih hidrofilik dan kurang sitotoksik sehingga mengurangi derajat kerusakan sel duktus biliaris, inflamasi porta, dan proliferasi duktus yang ditimbulkan karena kolestasis.^{5, 13}

Selain penumpukan di lumen biliaris, empedu juga tertumpuk di hepar. Perlindungan UDCA pada hepatosit terjadi melalui peningkatan sekresi asam empedu sehingga komponen toksik empedu tidak tertumpuk. Untuk meningkatkan sekresi asam empedu, diperlukan peningkatan jumlah dan aktivitas protein karier untuk sekresi empedu pada membran kanalikular.^{25, 45}



Gambar 1. Protein Transpor Pada Hepatosit

Protein transpor pada membran sinusoidal untuk *uptake* hepatosit mencakup *sodium/taurocholate cotransporting peptide* (NTCP), tiga anggota protein transpor OATP (OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1), *organic anion transporter 2* (OAT2 dan OAT7), dan OCT1. Protein transpor untuk efflux pada membran sinusoidal mencakup MRP3, MRP4, dan MRP6. Protein transpor untuk efflux pada membran kanalikular mencakup P-gp, *bile-salt export pump* (BSEP), BCRP, MRP2, dan MATE1 (*Multidrug and toxin extrusion protein 1*).

Sumber: Giacomini, Kathleen M.³²

Peningkatan jumlah protein karier dapat terjadi melalui stimulasi UDCA pada ekspresi mRNA. Terbukti bahwa UDCA meningkatkan ekspresi mRNA

BSEP (*Bile salt export pump*) dan MRP2. Efek ini merupakan efek jangka panjang UDCA untuk meningkatkan aliran empedu.^{32, 34}

Peningkatan aktivitas protein karier dapat terjadi melalui peningkatan molekul transpor yang tersedia di membran kanalikular dan aktivasi pompa asam empedu. Pada kolestasis, terjadi kerusakan insersi protein transpor (yang berada dalam vesikel) ke membran kanalikular. Terbukti bahwa TUDCA (UDCA yang terkonjugasi dengan taurin) dapat menstimulasi eksositosis vesikel hepatobilier dan insersi protein transpor (MRP2 dan BSEP) ke membran kanalikular hepatosit melalui 2 jalur utama. Jalur pertama adalah melalui peningkatan ion Ca^{2+} . Ion ini meningkatkan translokasi $\text{PKC}\alpha$ -sensitif- Ca^{2+} (mediator utama eksositosis) ke membran hepatoseluler dan mengaktifkannya. Jalur kedua adalah melalui aktivasi protein Ras dan MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), Erk-1 dan Erk-2 (*extracellular signal-regulated kinase*) di satu sisi serta aktivasi p38^{MAPK} di sisi lain. Aktivasi jalur ini meningkatkan insersi BSEP ke membran kanalikular. UDCA juga dapat meningkatkan kapasitas transpor BSEP melalui fosforilasi $\text{PKC}\alpha$.^{5, 34, 43}

Sel duktus biliaris berperan pada sekresi empedu melalui sekresi HCO_3^- . UDCA menstimulasi sel duktus biliaris dan terjadi sekresi HCO_3^- melalui peningkatan kadar Ca^{2+} yang diikuti aktivasi kanal Cl^- tergantung- Ca^{2+} dan stimulasi pertukaran $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$.^{6, 45, 46}

Pada kolestasis terjadi inflamasi hepatosit. Proses inflamasi melibatkan peningkatan neutrofil ke hepar. Neutrofil memproduksi zat oksidan yang merusak mitokondria hepatosit. UDCA ditemukan mampu mencegah stress oksidatif di mitokondria melalui klirens zat oksidan dari hepatosit. Selain itu, UDCA juga ditemukan meningkatkan kadar zat antioksidan seperti GSH tetapi tidak mempengaruhi kadar superoksida dismutase, glutathione peroksidase, dan katalase. Kadar mRNA *Glutamate Cysteine Ligase* (GCL) dan *metallothionein* (MT) juga ditemukan meningkat pada hepatosit pasien yang diterapi UDCA.³⁶

Asam empedu hidrofobik memicu pembentukan *mitochondrial permeability transition pore* (MPTP) dan merusak integritas mitokondria. MPTP menyebabkan pelepasan sitokrom c ke sitosol sehingga jalur apoptosis teraktivasi. Efek anti-apoptosis UDCA ditandai dengan penurunan jumlah MPTP dan penurunan jumlah sitokrom c yang dilepas.^{32, 34}

2.3.3 Modalitas Terapi

UDCA sebagai obat kolestasis secara umum dapat diterima dengan baik oleh semua orang. Efek samping yang sering muncul pada konsumsi UDCA hanyalah peningkatan berat badan. Pasien mengalami peningkatan berat badan rata-rata 2,2 kg pada tahun pertama pengobatan dan setelah itu berat badan stabil. Namun, karena kolestasis dapat dipicu berbagai macam penyebab, UDCA tidak selalu efektif sebagai obat untuk menyembuhkan kolestasis.¹³

UDCA merupakan obat yang direkomendasikan FDA untuk pengobatan PBC (dosis 13-15 mg/kgBB/hari). Prognosis pasien PBC untuk bebas transplan dapat dilihat dari kadar *alkaline phosphatase*, aspartat aminotransferase, dan bilirubin. UDCA terbukti menurunkan kadar ketiga marker biokimia ini dan menghasilkan angka bebas transplan 10 tahun yang lebih tinggi. UDCA juga terbukti memperlambat progresi penyakit hepar sehingga menurunkan risiko terjadinya varises esophagus pada pasien PBC. Dosis yang direkomendasikan untuk PBC adalah 13-15 mg/kg/hari. Dosis ini didapatkan dari studi perbandingan tiga dosis berbeda: dosis rendah (5-7 mg/kg/hari), dosis standar (13-15 mg/kg/hari), dan dosis tinggi (23-25 mg/kg/hari). Perbaikan ketiga marker biokimia dan skor Mayo didapatkan paling baik pada dosis standar. Dosis tinggi didapatkan tidak memberi efek samping tambahan tetapi tidak memberi manfaat tambahan pula.^{6,13}

Meskipun telah ditetapkan sebagai obat pilihan untuk PBC, UDCA memiliki kelemahan pada pengobatan PBC: pasien yang berhenti mengonsumsi UDCA didapatkan mengalami peningkatan kadar marker biokimia seperti sebelum terapi sehingga konsumsi UDCA harus dilakukan terus-menerus (tidak ada batas jelas kapan dapat dihentikan).¹³ Ditemukan pula pada sebuah meta-analisis, tidak ada perbedaan insidensi kematian, kematian-terkait-hepar, dan transplantasi hepar antara penderita PBC yang mendapat placebo dengan yang mendapat UDCA.⁶

Pada pasien PSC, UDCA tidak direkomendasikan untuk diberikan. Menurut percobaan yang dilakukan Lindor (*randomized, double-blind placebo-controlled trial*) pada 150 pasien PSC, didapatkan hasil yang lebih buruk pada pasien yang diterapi UDCA dibandingkan dengan yang tidak. Percobaan ini menggunakan UDCA dosis tinggi (28-30 mg/kg/hari). Lebih banyak pasien menderita varises, meninggal, atau harus menjalani transplantasi pada kelompok yang menerima UDCA meskipun terdapat penurunan kadar marker biokimia. Hal ini diduga karena peningkatan dosis menyebabkan lebih banyak obat yang mencapai intestinum crassum sehingga lebih banyak yang mengalami konversi menjadi asam empedu hepatotoksik. UDCA dosis tinggi juga mencegah apoptosis sel stellata teraktivasi sehingga fibrogenesis tidak dapat terhentikan. Pada kasus PSC, dimana terdapat obstruksi biliaris, UDCA juga mengeksaserbasi nekrosis hepatosit.^{8, 13}

Terkait penyebab lain kolestasis, UDCA diduga memiliki efek yang baik untuk penyembuhan namun masih diperlukan lebih banyak penelitian. Untuk kasus kolelithiasis, UDCA masih belum dapat menggantikan fungsi kolesistektomi. Penggunaan UDCA hanya didapatkan penurunan sakit bilier. Untuk batu radiolusen, UDCA ditemukan dapat melarutkan batu empedu yang terbentuk dari kolesterol. Efektifitas disolusi batu ini menurun seiring peningkatan ukuran batu. Meskipun mampu melarutkan batu, didapat kadar rekurensi batu tinggi pada penggunaan UDCA.^{13, 45}

Untuk kasus mikrolithiasis, UDCA ditemukan dapat mengeliminasi mikrolithiasis dan mencegah rekurensi pankreatitis selama 44 bulan. Pada kasus kolestasis intrahepatik dalam kehamilan, UDCA didapatkan menurunkan pruritus dan kadar asam empedu serum pada ibu serta tidak menimbulkan komplikasi pada fetus. Penggunaan UDCA pada hepatitis B dan C didapatkan hasil perbaikan marker biokimia namun tidak terjadi perubahan klirens virus dan tidak ada perbaikan progresi ke sirosis dan karsinoma hepatoseluler. Pada penggunaan untuk NAFLD (*non-alcoholic fatty liver disease*) didapatkan tidak ada perubahan kadar marker biokimia maupun histologi yang signifikan.^{13, 46}

2.4 Glutathione

Metabolisme tubuh yang normal menghasilkan produk samping berupa ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan RNS (*Reactive Nitrogen Species*). ROS dan RNS merupakan zat oksidan (radikal bebas) yang memiliki efek positif (melawan bakteri dan parasit yang masuk ke tubuh) dan efek negatif (menyerang sel tubuh normal untuk menstabilkan molekulnya) bagi tubuh. Peran antioksidan penting dalam menjaga keseimbangan jumlah ROS dan RNS tubuh supaya tidak berlebih. Keadaan jumlah zat oksidan lebih tinggi dari kapasitas zat antioksidan untuk menetralsasinya disebut keadaan stress oksidatif.^{36, 47}

Tabel 1. Mekanisme Patofisiologi ROS

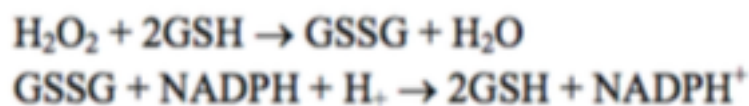
Struktur Target	Mekanisme Biokimia	Konsekuensi Patofisiologis
Membran Lipid	Peroksidasi	<ul style="list-style-type: none">• Peningkatan permeabilitas membran• Kehilangan fluiditas membran• Lisis organel dan sel
Protein enzim	Denaturasi	<ul style="list-style-type: none">• Inaktivasi katalitik
Protein struktural	Denaturasi	<ul style="list-style-type: none">• Kehilangan fluiditas membran• Kehilangan integritas struktural
Asam nukleat	Denaturasi	<ul style="list-style-type: none">• Penghentian replikasi, kematian sel• <i>Cross-linking</i> mutagenesis
Komponen matriks sel Glikosaminoglikan Glikoprotein	Denaturasi	<ul style="list-style-type: none">• Kerusakan membran basalis• Peningkatan permeabilitas vascular• Kerusakan matriks intraseluler

Diterjemahkan dari Notas, George³⁶

Di dalam tubuh terdapat antioksidan endogen dan eksogen. Contoh antioksidan eksogen adalah polifenol dan vitamin. Sedangkan contoh antioksidan endogen adalah superoksida dismutase, katalase, albumin, bilirubin, glutathione, dsb. Hepar berperan penting dalam regulasi antioksidan karena kemampuannya untuk memproduksi antioksidan endogen dan mengontrol antioksidan eksogen yang diserap dari makanan. Hepar merupakan lokasi produksi terbesar glutathione dan lokasi terkaya superoksida dismutase.^{36, 47}

Glutathione (γ -glutamyl-cysteinyl-glycine; GSH) adalah zat antioksidan thiol intraseluler yang tersedia dalam jumlah terbesar di tubuh (0,5-10 mmol/L). Sebagian besar GSH terdapat di sitosol (85-90%) sedangkan sisanya berada di organel sel (mitokondria, nukleus, dan peroksisom). Kadar GSH yang terdapat di asam empedu mencapai 10 mmol/L sedangkan kadar GSH di plasma relatif rendah (2-20 μ mol/ L). GSH tersusun atas glutamate, sistein, dan glisin. GSH dapat mengalami oksidasi menjadi glutathione disulfida (GSSG). Jumlah GSH dan GSSG di dalam sel menjaga keadaan homeostasis buffer redox seluler. Perbandingan konsentrasi GSH dan GSSG digunakan sebagai indikator kapasitas antioksidan sel.^{11, 39}

Sebagai antioksidan, GSH memiliki kemampuan menghilangkan radikal hidroksil dan superoksida secara langsung serta sebagai kofaktor enzim glutathione peroksidase (GPc) dalam metabolisme hidrogen peroksida (H_2O_2) dan lipid peroksida.¹¹ Dalam proses metabolisme H_2O_2 , GSH mengalami oksidasi menjadi GSSG dan menghasilkan air. GSSG yang terbentuk didaur ulang kembali menjadi GSH melalui bantuan enzim glutathione reduktase (GR) dan NADPH.⁴⁸



Gambar 2. Reaksi Metabolisme H_2O_2 oleh GSH

Sumber: Notas, George³⁶

GSH juga mampu mengembalikan antioksidan lain yang penting pada tubuh seperti vitamin C dan vitamin E ke bentuk aktifnya. Selain sebagai antioksidan, GSH juga ditemukan berpartisipasi pada metabolisme nukleotida, pembentukan *second messenger* lipid, regulasi homeostasis NO, dan modulasi fungsi protein. Kadar GSH minimal yang diperlukan untuk hepar menjalankan fungsi normal adalah 5%. Pada keadaan defisiensi GSH, mitokondria hepatosit merupakan organel yang paling terpengaruh. Besarnya kerusakan integritas mitokondria dapat menggambarkan seberapa parah penyakit hepar.^{11, 39}

Pembentukan GSH terjadi melalui dua reaksi enzim sitosolik. Reaksi pertama dikatalisis enzim glutamate sistein ligase (GCL). Enzim ini mengikatkan L-glutamat dengan L-sistein untuk membentuk γ -glutamilsistein (γ -GC). Reaksi yang kedua dikatalisis GSH sintase (GSS). Pada reaksi ini terjadi pengikatan glisin pada γ -GC. Masing-masing enzim membutuhkan satu molekul ATP setiap siklus. Berdasarkan penelitian didapatkan bahwa GCL merupakan enzim yang berperan untuk membatasi sintesis GSH. GCL merupakan molekul heterodimer tersusun dari subunit katalitik (GCLC) dan subunit modifikator (GCLM). Ditemukan bahwa GCLM merupakan subunit yang berperan untuk membatasi sintesis GSH di jaringan. Laju sintesis GSH ditentukan oleh jumlah GCL, rasio antara kedua subunit GCL, ketersediaan L-sistein, dan mekanisme feedback inhibisi GCL oleh GSH.^{48, 49}

GSH dimetabolisme di ekstraseluler oleh γ -glutamil transferase terikat membran (GGT). GGT memotong ikatan γ -glutamil amida dan mentransfer glutamil ke asam amino lain (terutama sistein disulfida, sistin). Reaksi ini menghasilkan sisteinilglisin yang akan dipotong oleh dipeptidase ekstraseluler menjadi sistein dan glisin bebas yang dapat digunakan oleh sel. Zat-zat yang dihasilkan dapat digunakan untuk membentuk GSH kembali sehingga merupakan jalur alternatif cepat menggantikan GSH yang terkonsumsi. Jalur ini tidak dapat mempertahankan kadar GSH pada kondisi defisiensi GSH jangka panjang.^{39, 48}

Pada keadaan kolestasis, terdapat penurunan kadar glutathione. Penurunan kadar antioksidan ini berarti penurunan kapasitas hepar untuk menetralisasi stress oksidatif yang timbul terutama di mitokondria sehingga kemungkinan terjadinya apoptosis dan nekrosis hepatosit meningkat. Pemberian glutathione luar dapat mencegah kerusakan sel ini dengan menambahkan ketersediaan GSH dalam hepar. Metode penambahan yang telah diteliti antara lain pemberian sistein oral (meningkatkan sintesis glutathione), pemberian glutamate oral, pemberian prekursor glutathione secara oral (N-asetil sistein atau garam natrium GSH), pemberian GSH secara intravena, intramuscular, intrabronkial, dan intranasal. Pemberian GSH secara oral terbukti kurang efektif meningkatkan kadar GSH dalam serum dan jaringan karena GSH sulit diabsorpsi dan dioksidasi dalam saluran pencernaan. Saluran pencernaan manusia mengandung enzim GGT yang

mendaur prekursor GSH dan mencegah absorpsi GSH secara intak lewat suplementasi oral.^{36, 12}

Pada percobaan ini, peneliti mengombinasikan UDCA dan glutathione. Efek yang diharapkan dalam rangka penyembuhan kolestasis adalah akumulasi efek terapeutik dari UDCA serta glutathione. UDCA sendiri juga dapat meningkatkan kadar GSH dan kadar mRNA GCL sehingga menambahkan ketersediaan zat antioksidan ini di dalam tubuh untuk melawan radikal bebas.^{36, 50}

2.5 Efek Ligasi Duktus Koledokus pada Tikus Wistar

Ligasi duktus koledokus merupakan bentuk intervensi untuk membuat keadaan kolestasis ekstrahepatik pada tikus Wistar.⁹ Kolestasis menyebabkan akumulasi asam empedu hidrofobik dan kerusakan hepatosit. Kerusakan ini memicu masuknya bilirubin ke sirkulasi sistemik.^{3, 28} Terdapat tiga mekanisme utama yang mendasari kerusakan hepatosit, yaitu apoptosis, nekrosis, dan stress oksidatif hepatosit.^{10, 25, 33}

Asam empedu hidrofobik yang terakumulasi di hepatosit berikatan dengan lapisan lemak ganda di membran plasma sehingga terbentuk lubang pada membran plasma dan terjadi apoptosis sel.²⁵ Asam empedu hidrofobik juga memicu kaskade apoptosis melalui dua jalur lain. Jalur yang pertama adalah pembentukan MPTP yang menyebabkan peningkatan permeabilitas membran mitokondria. Hal ini menyebabkan pelepasan sitokrom c ke sitosol dan terjadi

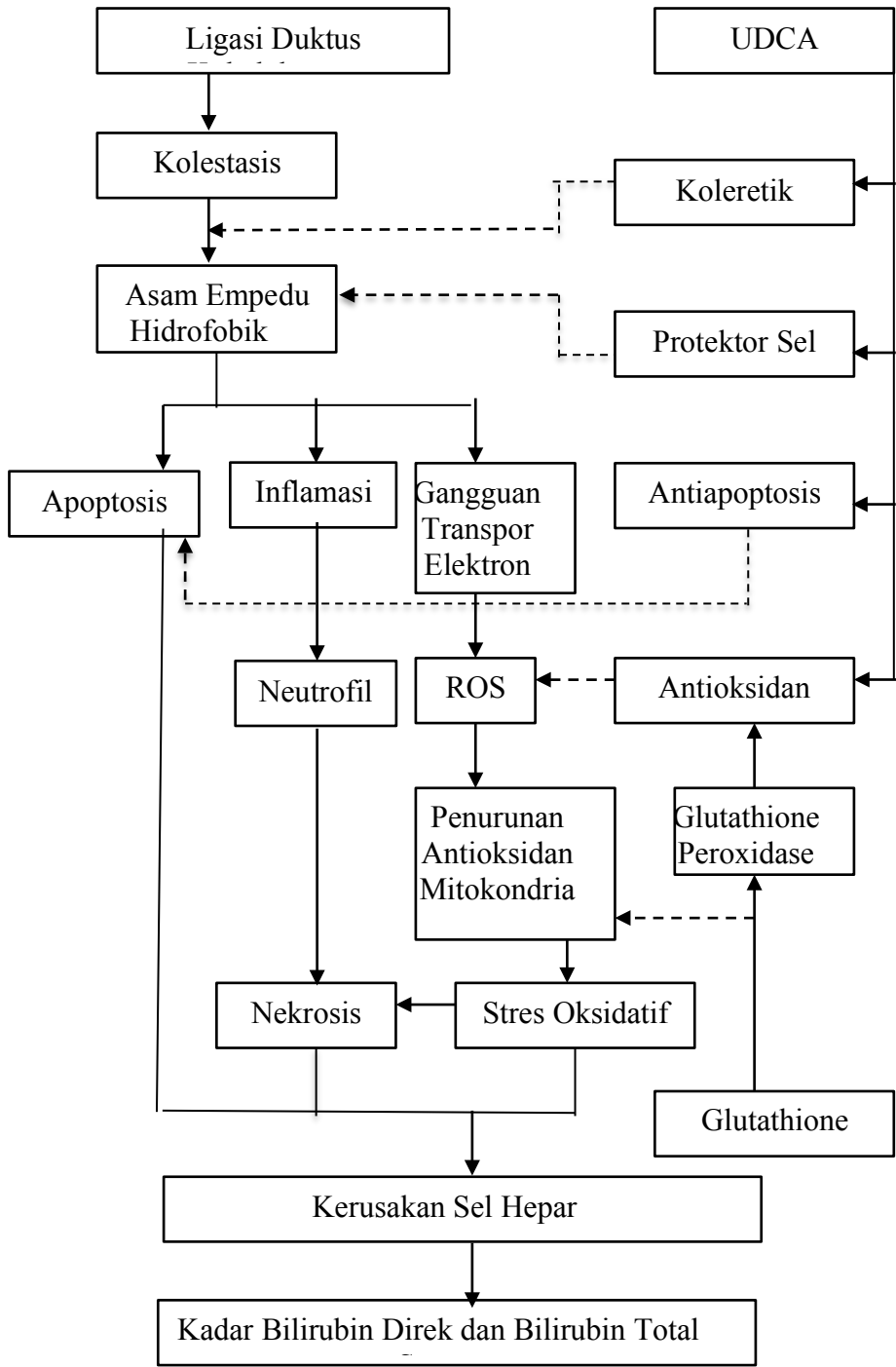
aktivasi kaskade apoptosis.^{23, 34} Jalur yang kedua adalah stress pada retikulum endoplasma yang memicu pelepasan kalsium ke sitosol dan terjadi aktivasi kaskade apoptosis.²⁵

Proses nekrosis hepatosit terjadi akibat inflamasi. Ligasi duktus koledokus menyebabkan ruptus duktus biliaris dan terpaparnya hepatosit dengan asam empedu proinflamasi. Hal ini akan menyebabkan ekstravasasi neutrofil ke hepatosit. Neutrofil memproduksi zat oksidan seperti superoksidan dan asam hipoklorat yang menyebabkan stress oksidatif pada hepatosit dan akhirnya nekrosis sel.^{33, 36}

Stress oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan zat oksidan dengan zat antioksidan. Kolestasis menyebabkan gangguan transpor elektron pada mitokondria dan terbentuknya zat oksidan. Selain ini terdapat pula penurunan kadar zat antioksidan pada kolestasis, terutama glutathione.³⁶

Kerusakan hepatosit menyebabkan masuknya konstituen empedu ke sinusoid hepar sehingga terjadi peningkatan kadar bilirubin di sirkulasi sistemik. Kolestasis juga menyebabkan penurunan ekspresi protein transpor pada membran kanalikular dan peningkatan ekspresi protein transpor pada membran sinusoidal. Hal ini menyebabkan konstituen empedu lebih banyak yang mengalir ke sirkulasi sistemik dibandingkan ke intestinum dan terjadi peningkatan kadar bilirubin darah.³¹

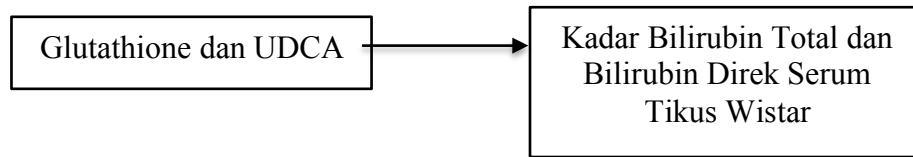
2.6 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

-----> : Menghambat

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

- 2.8.1** Terdapat penurunan kadar bilirubin secara bermakna pada kelompok tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus dan diberi kombinasi UDCA-Glutathione dibandingkan kelompok yang tidak diberi obat.
- 2.8.2** Terdapat penurunan kadar bilirubin secara bermakna pada kelompok tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus dan diberi UDCA tunggal dibandingkan kelompok yang tidak diberi obat.
- 2.8.3** Terdapat penurunan kadar bilirubin secara bermakna pada kelompok tikus Wistar yang dilakukan ligasi duktus koledokus dan diberi kombinasi UDCA-Glutathione dibandingkan kelompok yang diberi UDCA tunggal