

DISERTASI

Pengaruh Induksi Doxorubicin (DOX) terhadap ekspresi mRNA dan kadar protein High-mobility group box 1 (HMGB1), Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), Vascular endothelial growth factor (VEGF) pada Balb/c mice dan hubungannya dengan Fibrosis Miokardium

Effect of Doxorubicin (DOX) Induction on mRNA expression and High-mobility group box 1 (HMGB1), Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), Vascular endothelial growth factor (VEGF) protein levels in Balb/c mice and their relationship with Myocardial Fibrosis



AHMAD SYUKRI

C013192002

Program Doktor Ilmu Kedokteran

Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin,

2023

DISERTASI

Pengaruh Induksi Doxorubicin (DOX) terhadap ekspresi mRNA dan kadar protein High-mobility group box 1 (HMGB1), Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), Vascular endothelial growth factor (VEGF) pada Balb/c mice dan hubungannya dengan Fibrosis Miokardium

Effect of Doxorubicin (DOX) Induction on mRNA expression and High-mobility group box 1 (HMGB1), Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), Vascular endothelial growth factor (VEGF) protein levels in Balb/c mice and their relationship with Myocardial Fibrosis

Disusun dan diajukan oleh

AHMAD SYUKRI

Nomor Pokok C013192002

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi

pada tanggal

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Prof. dr. Budu, PhD, SpM(K), M.Ed

Promotor

Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD,

SpMK(K)

Kopromotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dr. dr. Muzakkir Amir, Sp.JP(K)

Kopromotor

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes

Prof.Dr.dr. Haerani Rasyid, MSc,
SpPD-KGF, SpGK, FINSIM

DISERTASI

PENGARUH INDUKSI DOXORUBICIN (DOX) TERHADAP EKSPRESI mRNA DAN KADAR PROTEIN HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1), HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR-1A (HIF-1A), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) PADA BALB/C MICE DAN HUBUNGANNYA DENGAN FIBROSIS MIOKARDIUM

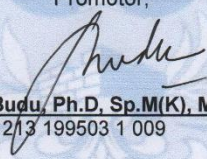
EFFECT OF DOXORUBICIN (DOX) INDUCTION ON mRNA EXPRESSION AND PROTEIN LEVEL OF HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1), HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR-1 α (HIF-1 α), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) IN BALB/C MICE AND ITS RELATIONSHIP WITH CARDIAC FIBROSIS.

Disusun dan diajukan
Oleh

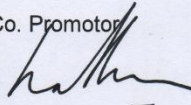
Ahmad Syukri
C013192002

Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 28 Agustus 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui
Promotor,


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med, Ed
Nip. 19661213 199503 1 009

Co. Promotor



Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Nip. 19570416 198503 1 001

Co. Promotor




Dr. dr. Muzakir Amir, Sp.JP(K)
Nip. 19680530 199603 2 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip. 19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK
Nip. 19680530 199603 2 001

ABSTRACT

AHMAD SYUKRI. *The Effect of Doxorubicin (dox) Induction on mRNA Expression and Protein Level of High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) Hypoxia-Inducible Factor-1a (HIF-1a), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in BALB/C Mice and Its Correlation with Cardiac Fibrosis* (supervised by Budu, Mochammad Hatta, and Muzakkir Amir)

This study aims to determine the mRNA expression of the HMGB1, HIF-1a, VEGF genes and the levels of HMGB1, HIF-1a, VEGF in DOX-induced mice and their relationship to the occurrence of cardiac tissue fibrosis. Doxorubicin (DOX) is a potential agent as an antitumor and DOX can be cardiotoxic, especially when cumulative high doses of DOX can cause cardiac failure. The mechanism of DOX as a cause of cardiotoxicity is not known with certainty, but oxidative stress may play an important role in the process of cardiac damage. The examination of mRNA expression of HMGB1, HIF-1a, and VEGF genes used quantitative realtime polymerase chain reaction (qRT PCR) technique in DOX-induced Balb/c mice. Protein levels were measured using the ELISA technique. Histopathology of heart tissue was performed with Masson's trichrome staining to see the presence of cardiac fibrosis. The results of the study show an increase in the mRNA of the HMGB1, HIF-1a, and VEGF genes, and their protein levels are in accordance with the damage and occurrence of fibrosis of the heart tissue. The benefits of the results of this study allow HMGB1, HIF-1a, and VEGF to be used as biomarkers and therapies in preventing cardiotoxicity and cardiac failure in the use of DOX therapy. HMGB1 affects the process of cytokine release, cell metabolism, and angiogenesis. HIF-1a is a transcription factor that plays an important role in the cellular response to systemic oxygen levels of cells, while VEGF is an angiogenesis factor for vascular endothelial cell growth. These three biomarkers are thought to play an important role in the process of ardiotoxicity and cardiac failure caused by DOX administration.

Keywords: doxorubicin, HMGB1, HIF-1a, VEGF, Balb/c, realtime PCR, ELISA, fibrosis, Manson's trichrome



ABSTRAK

AHMAD SYUKRI. *Pengaruh Induksi Doxorubicin (Dox) terhadap Ekspresi m-RNA dan Kadar Protein High-Mobility Group Box 1 (HMGB-1) Hypoxia-Inducible Factor-1 α (Hif-1 α), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) pada Balbic Mice dan Hubungannya dengan Fibrosis Jantung* (dibimbing oleh Budu, Mochammad Hatta, dan Muzakir Amir).

Penelitian ini bertujuan mempelajari ekspresi m-RNA gen HMGB-1, HIF-1 α , VEGF dan kadar HMGB-1, HIF-1 α VEGF pada mencit yang diinduksi dengan Dox dan hubungannya dengan terjadinya fibrosis jantung. Metode Doxorubicin (Dox) adalah agen potensial sebagai antitumor dan Dox dapat bersifat kardiotoxik, terutama pada saat terjadi kumulatif dengan Dox dosis tinggi dapat menyebabkan gagal jantung. Mekanisme Dox sebagai penyebab kardiotoxik belum diketahui secara pasti, namun stres oksidatif mungkin berperan penting dalam proses terjadinya kerusakan jantung. Pemeriksaan ekspresi m-RNA gen HMGB-1, HIF-1 α dan VEGF dengan menggunakan teknik *quantitative realtime polymerase chain reaction* (QRT PCR) pada mencit *Balb/c* yang diinduksi dengan Dox. Kadar proteinnya diukur dengan menggunakan teknik ELISA. Histopatologi dari jaringan jantung dilakukan dengan pewarnaan Masson's *trichrome* untuk melihat adanya fibrosis jaringan jantung. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan m-RNA gen HMGB-1, HIF-1 α dan VEGF serta kadar proteinnya yang sesuai dengan kerusakan dan terjadinya fibrosis jantung. Manfaat hasil penelitian ini memungkinkan HMGB-1, HIF-1 α , dan VEGF dapat digunakan sebagai biomarker dan terapi dalam mencegah terjadinya kardiotoxik dan gagal jantung pada penggunaan terapi Dox. HMGB-1 berpengaruh terhadap proses pelepasan sitokin, metabolisme sel dan angiogenesis. HIF-1 α adalah faktor transkripsi berperan penting dalam respon seluler terhadap kadar oksigen sistemik sel, sedangkan VEGF adalah faktor angiogenesis untuk pertumbuhan sel endotel vaskular. Ketiga biomarker ini diduga berperan penting dalam proses terjadinya kardiotoxik dan gagal jantung yang disebabkan pemberian Dox.

Kata kunci: *doxorubicin*, HMGB-1, HIF-1 α , VEGF, Balb/c, *realtime* PCR, ELISA Fibrosis, *Manson's trichrome*





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245
Telp. (0411) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Ahmad Syukri**
Nomor Pokok : C013192002
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Pengaruh Induksi Doxorubicin (DOX) terhadap Ekspresi mRNA Gen High Mobility Group Box 1 (HMGB1), Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF- 1 α), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dan Kadar Protein dan Balb/c.**

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 14 Juli 2023

Yang menyatakan,



Ahmad Syukri

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ahmad Syukri

Nomor Mahasiswa : C013192002

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penelitian yang saya tulis ini adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan usulan penelitian ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juli 2023

Yang menyatakan,

Ahmad Syukri

PRAKATA

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Maha Esa, karena atas Rahmat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul: PENGARUH INDUKSI DOXORUBICIN (DOX) TERHADAP EKSPRESI MRNA DAN KADAR PROTEIN HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1), HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR-1A (HIF-1A), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) PADA BALB/C MICE DAN HUBUNGANNYA DENGAN FIBROSIS MIOKARDIUM.

Selesainya penulisan disertasi ini tidak terlepas dari peran dan dukungan berbagai pihak yang membantu, mendorong, membimbing penulis selama proses mulai dari proposal, penelitian dan penyusunan disertasi ini.

Pada kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu baik dalam proses penelitian maupun penulisan disertasi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. dr. Budu, PhD, SpM(K), M.Ed selaku promotor dan pembimbing dari disertasi ini dalam memberikan bimbingan dan masukan serta saran sehingga penelitian dan penulisan disertasi ini dapat terlaksana dengan baik.
2. Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, SpMK(K), selaku kopromotor pertama dari disertasi ini dalam memberikan dorongan, bimbingan dan masukan serta saran sehingga penelitian dan penulisan disertasi ini dapat terlaksana dengan baik.
3. Dr. dr. Muzakkir Amir, Sp.JP(K), selaku kopromotor kedua dari disertasi ini dalam memberikan bimbingan mulai dari proposal, permasalahan penelitian sehingga penulisan disertasi ini dapat diselesaikan dengan baik.
4. Prof. dr. Mohammad Saifur Rohman, Ph.D Sp.JP(K); Dr. dr. Idar Mappangara, Sp.PD, Sp.JP(K); dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PK(K); dr. Sitti Wahyuni, Ph.D,

Sp.Park; dan dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK(K) selaku penguji yang telah memberikan bimbingan, masukan dan bantuannya dalam penulisan disertasi ini.

5. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, MSc, selaku Rektor Universitas Hasanuddin; Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM. Sp.GK selaku Dekan Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin; Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti dan menyelesaikan studi Pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
6. Akhirnya penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada orang tua tercinta Prof. Dr. Ir. H.M. Saleh Ali, MSc dan Hj. A. Mulyati, kedua mertua Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K) dan dr. Ratnawati, istri tercinta dr. Ade Rifka Junita, M.Biomed, anak-anak tersayang A. Muh. Yafie Asshofie dan A. Syarifah Nasyrh Asshofie yang tidak henti hentinya mendoakan, memberi semangat dan mendukung penulis selama proses Pendidikan doktor hingga penulisan disertasi ini.
7. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada mereka yang tidak sempat dituliskan namun mempunyai kontribusi dalam penyelesaian disertasi ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karenanya kritik dan saran dalam perbaikan disertasi ini sangat penulis harapkan dan semoga disertasi ini memberi manfaat kepada para pembaca dan masyarakat.

Makassar,

Ahmad Syukri

ABSTRAK

AHMAD SYUKRI. PENGARUH INDUKSI DOXORUBICIN (DOX) TERHADAP EKSPRESI mRNA DAN KADAR PROTEIN HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1), HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR-1A (HIF-1 α), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) PADA BALB/C MICE DAN HUBUNGANNYA DENGAN FIBROSIS JANTUNG.

Doxorubicin (DOX) adalah agen potensial sebagai antitumor dan DOX dapat bersifat kardiotoxik terutama pada saat terjadi kumulatif dengan DOX dosis tinggi dapat menyebabkan gagal jantung. Mekanisme DOX sebagai penyebab kardiotoxik belum diketahui secara pasti, namun stres oksidatif mungkin berperan penting dalam proses terjadinya kerusakan jantung. HMGB1 berpengaruh terhadap proses pelepasan sitokin, metabolisme sel, dan angiogenesis. HIF-1 α adalah faktor transkripsi berperan penting dalam respon seluler terhadap kadar oksigen sistemik sel sedangkan VEGF adalah faktor angiogenesis untuk pertumbuhan sel endotel vaskular. Ketiga biomarker ini diduga berperan dalam penting dalam proses terjadinya kardiotoxik dan gagal jantung yang disebabkan pemberian DOX.

Penelitian ini bertujuan mempelajari ekspresi mRNA gen HMGB1, HIF-1 α , VEGF dan kadar HMGB1, HIF-1 α , VEGF pada mencit yang diinduksi dengan DOX dan hubungannya dengan terjadinya fibrosis jantung.

Pemeriksaan ekspresi mRNA gen HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dengan menggunakan teknik quantitative realtime Polymerase Chain Reaction (qRT PCR) pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan DOX. Kadar Proteinnya diukur dengan menggunakan teknik ELISA. Histopatologi dari jaringan jantung dan dilakukan dengan pewarnaan Masson's trichrome untuk melihat adanya fibrosis jaringan jantung.

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan mRNA gen HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dan kadar proteinnya yang sesuai dengan kerusakan dan terjadinya fibrosis jantung.

Manfaat dari hasil penelitian ini memungkinkan HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dapat digunakan sebagai biomarker dan terapi dalam mencegah terjadinya kardiotoxik dan gagal jantung pada penggunaan terapi DOX.

Kata kunci : Doxorubicin, HMGB1, HIF-1 α , VEGF, Balb/c, Realtime PCR, ELISA, Fibrosis, Manson's Trichrome

ABSTRACT

AHMAD SYUKRI. *EFFECT OF DOXORUBICIN (DOX) INDUCTION ON mRNA EXPRESSION AND PROTEIN LEVEL OF HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1, HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR-1 α (HIF-1 α), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) IN BALB/C MICE AND ITS RELATIONSHIP WITH CARDIAC FIBROSIS.*

Doxorubicin (DOX) is a potential agent as an antitumor and DOX can be cardiotoxic, especially when cumulative high doses of DOX can cause cardiac failure. The mechanism of DOX as a cause of cardiotoxicity is not known with certainty, but oxidative stress may play an important role in the process of cardiac damage. HMGB1 affects the process of cytokine release, cell metabolism, and angiogenesis. HIF-1 α is a transcription factor that plays an important role in the cellular response to systemic oxygen levels of cells while VEGF is an angiogenesis factor for vascular endothelial cell growth. These three biomarkers are thought to play an important role in the process of cardiotoxicity and cardiac failure caused by DOX administration.

This study aims to determine the mRNA expression of the HMGB1, HIF-1 α , VEGF genes and the levels of HMGB1, HIF-1 α , VEGF in DOX-induced mice and their relationship to the occurrence of cardiac tissue fibrosis.

Examination of mRNA expression of HMGB1, HIF-1 α and VEGF genes using quantitative realtime polymerase chain reaction (qRT PCR) technique in DOX-induced Balb/c mice. Protein levels were measured using the ELISA technique. Histopathology of heart tissue and performed with Masson's trichrome staining to see the presence of cardiac fibrosis.

The results of the study showed an increase in the mRNA of the HMGB1, HIF-1 α and VEGF genes and their protein levels were in accordance with the damage and occurrence of fibrosis of the heart tissue.

The benefits of the results of this study allow HMGB1, HIF-1 α and VEGF to be used as biomarkers and therapies in preventing cardiotoxicity and cardiac failure in the use of DOX therapy.

Keywords : Doxorubicin, HMGB1, HIF-1 α , VEGF, Balb/c, Realtime PCR, ELISA, Fibrosis, Manson's Trichrome

DAFTAR ISI

Abstrak.....	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xii
Daftar Singkatan	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. RUMUSAN MASALAH	8
C. HIPOTESIS	8
D. TUJUAN PENELITIAN	9
E. MANFAAT PENELITIAN	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
A. DOXORUBICIN	11
1. Formulasi.....	12
2. Farmakokinetik	12
3. Farmakodinamik.....	15
4. Efek samping Doxorubicin terhadap jantung	17
B. KARDIOTOKSISITAS.....	24
1. Klasifikasi Kardiotoksik.....	25
2. Patofisiologi Gagal Jantung.....	27
3. Diagnosis Kardiotoksik	38
4. Manajemen Kardiotoksik	44
C. HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1)	45
D. HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 α (HIF-1 α)	52
E. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)	57
BAB III KERANGKA TEORI.....	65
BAB IV KERANGKA KONSEP	66
BAB V METODOLOGI PENELITIAN	67
1. RANCANGAN PENELITIAN.....	67
2. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN	67
3. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN.....	67

4. KRITERIA INKLUSI	68
5. KRITERIA DROP OUT	68
6. PENENTUAN JUMLAH SAMPEL	68
7. CARA PENGAMBILAN SAMPEL	69
8. METODE KERJA	69
BAB VI HASIL PENELITIAN	81
BAB VII DISKUSI.....	98
BAB VIII KESIMPULAN DAN SARAN	103
DAFTAR PUSTAKA	104

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme kardiotoxik akibat pengaruh DOX.....	18
Gambar 2.2. Peran miR-1,-21 dan -145 dalam terjadinya kardiotoxik akibat induksi DOX	21
Gambar 2.3. Mekanisme kerja DOX yang menyebabkan kardiotoxik	22
Gambar 2.4. Mekanisme manganese superoxide dismutase (MnSOD) dalam kelangsungan hidup sel kanker, metastasis dan resistensi terhadap DOX	23
Gambar 2.5. Patogenesis gagal jantung	28
Gambar 2.6. Aktifasi sistem saraf simpatis pada keadaan normal dan gagal jantung	31
Gambar 2.7. Respons yang diakibatkan oleh aktifasi sistem saraf simpatis	32
Gambar 2.8. Aktifasi neurohormonal sistem renin angiotensin aldosteron dan akibatnya pada gagal jantung	33
Gambar 2.9. Peran HMGB1 pada keadaan kemoresisten penderita kanker payudara	46
Gambar 2.10. Hubungan kalsifikasi kardiovaskuler dan HMGB1	47
Gambar 2.11. Mekanisme terjadi Penyakit kardiovaskuler (CVD) dan HMGB1	49
Gambar 2.12. Pengaruh DOX dan perubahan HMGB1 dalam terjadinya disfungsi jantung	50
Gambar 2.13. Pathway HIF-1 α pada keadaan normoxia dan hipoksia	53
Gambar 2.14. Peningkatan distribusi HIF-1 α pada pemberian DOX.....	56
Gambar 2.15. Peran VEGF pada oxidative stress	58
Gambar 2.16. Pengaruh DOX terhadap HIF-1 α dan VEGF	59
Gambar 2.17. Pengaruh DOX dan stem cell terhadap peningkatan VEGF	63
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	65
Gambar 4.1. Kerangka Konsep.....	66
Gambar 5.1. Skema Rancangan Penelitian	70
Gambar 6.1. Nilai ekspresi mRNA gen HMGB1 berdasarkan waktu setelah intervensi DOX dan kontrol	83
Gambar 6.2. Nilai kadar protein HMGB1 berdasarkan waktu setelah intervensi DOX dan kontrol	85

Gambar 6.3. Nilai ekspresi mRNA gen HIF-1 α berdasarkan waktu setelah intervensi DOX dan kontrol	88
Gambar 6.4. Nilai kadar protein HIF1 berdasarkan waktu setelah intervensi DOX dan kontrol	90
Gambar 6.5. Nilai ekspresi mRNA gen VEGF berdasarkan waktu setelah intervensi DOX dan kontrol	93
Gambar 6.6. Nilai kadar protein VEGF berdasarkan waktu setelah intervensi DOX dan kontrol	95
Gambar 6.7. Histopatologi jaringan jantung dari berbagai waktu setelah intervensi DOX.	97

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Faktor risiko kardi toksisitas	39
Tabel 6.1. Perbandingan ekspresi mRNA gen HMGB1 antara intervensi DOX dan kontrol berdasarkan waktu setelah intervensi	82
Tabel 6.2. Perbandingan ekspresi mRNA gen HMGB1 berdasarkan berbagai waktu setelah intervensi DOX.....	82
Tabel 6.3. Perbandingan kadar protein HMGB1 antara intervensi DOX dan kontrol berdasarkan waktu setelah intervensi	84
Tabel 6.4. Perbandingan kadar protein HMGB1 berdasarkan berbagai waktu setelah intervensi DOX	85
Tabel 6.5. Perbandingan ekspresi mRNA gen HIF-1 α antara intervensi DOX dan kontrol berdasarkan waktu setelah intervensi	87
Tabel 6.6. Perbandingan ekspresi mRNA gen HIF-1 α berdasarkan berbagai waktu setelah intervensi DOX Doxorubicin.....	87
Tabel 6.7. Perbandingan kadar protein HIF-1 α antara intervensi DOX dan kontrol berdasarkan waktu setelah intervensi	89
Tabel 6.8. Perbandingan kadar protein HIF-1 α berdasarkan berbagai waktu setelah intervensi DOX	90
Tabel 6.9. Perbandingan ekspresi mRNA gen VEGF antara intervensi DOX dan kontrol berdasarkan waktu setelah intervensi	92
Tabel 6.10. Perbandingan ekspresi mRNA gen VEGF berdasarkan berbagai waktu setelah intervensi DOX.....	92
Tabel 6.11. Perbandingan kadar protein VEGF antara intervensi DOX dan kontrol berdasarkan waktu setelah intervensi	94
Tabel 6.12. Perbandingankadar protein VEGF berdasarkan berbagai waktu setelah intervensi DOX	94

DAFTAR SINGKATAN

AMD	: Age-related macular degeneration
ANP	: Atrial natriuretic peptide
anti-HER2	: Anti-human epidermal growth factor receptor 2
ARPE-19	: Arising retinal pigment epithelia
AT	: Angiotensin
BCFs	: breast cancer associated fibroblasts
BNP	: Brain natriuretic peptide
CABG	: Coronary artery bypass graft
CMR	: Cardiac magnetic resonance
CTCs	: Circulating tumor cell
CVD	: Cardiovascular disease
DAMP	: Damage associated molecular pattern
DOX	: Doxorubicin
EC	: Endothelial cells
EKG	: Elektrokardiografi
ELISA	: Enzyme linked-immunosorbent Assay
eNOS	: Endothelial nitric oxide synthase
ET-1	: Endotheline-1
GLS	: Global systolic longitudinal myocardial strain
HIF-1 α	: Hypoxia inducible factor 1 α
HMGB1	: High mobility group box 1 protein
IL	: Interleukin
JNK	: c-Jun N terminal kinase
LVEF	: Left ventricular ejection fraction
MMP	: Matrix metalloproteinases
NADPH	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NF- $\kappa\beta$: Nuclear Factor- $\kappa\beta$
NO	: Nitrit Oxyde
PCI	: Percutaneous caronary intervention
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PJK	: Penyakit jantung koroner
RAAS	: Renin-angiotensis-aldosteron system

RAGE : Receptor of advanced glycation end products
ROS : Respiratory oxidative species
SGPT : Serum glutamic-pyruvic transaminase
TLR : Toll-like receptor
TNFR : TNF receptor
TNF- α : Tumor necrosis factor-alpha
TnI : Troponin I
TnT : Troponin T
VEGF : Vascular endothelial growth factor

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Pengobatan kanker beberapa dekade terakhir mengalami kemajuan yang pesat dalam peningkatan kelangsungan hidup pasien dengan ditemukannya beberapa agen anti kanker (Ferlay et al., 2013; Miller et al., 2019). Namun, kemajuan tersebut juga diikuti dengan peningkatan morbiditas dan mortalitas karena efek samping pengobatan anti kanker. Penyakit kardiovaskuler / *Cardiovascular disease* (CVD) merupakan salah satu efek yang paling sering ditemukan pada pengobatan kanker, dan dikhawatirkan penyakit ini berkembang yang menyebabkan morbiditas dan kematian dini pada penderita kanker (Ewer & Ewer, 2015). Hal ini mungkin diakibatkan oleh kardiotoxicitas yang melibatkan efek langsung pengobatan kanker pada fungsi dan struktur jantung, atau mungkin juga karena percepatan perkembangan CVD, terutama dengan adanya faktor risiko kardiovaskuler tradisional (Armstrong et al., 2013; Zamorano et al., 2016).

Penilaian dan penanganan kardiotoxicitas yang disebabkan oleh pengobatan antikanker ataupun proses keganasan itu sendiri menjadi dasar dari bidang baru yang disebut kardio-onkologi (Hong et al., 2010). Secara luas bidang ini terdiri dari multidisiplin subspecialis yang berkolaborasi dan berfokus pada pencegahan, penanganan, dan mitigasi CVD pada pasien kanker dengan tujuan mencapai penanganan yang

optimal. Kanker dan pengobatannya dapat mempengaruhi jantung diketahui berawal dari pengamatan awal bahwa senyawa yang dikenal sebagai antrasiklin menyebabkan gagal jantung progresif yang terkait pada dosis dan dapat menyebabkan kematian sel jantung (Ewer & Ewer, 2015; Lefrak et al., 1973). Namun, antrasiklin bukanlah satu-satunya agen antikanker yang mempengaruhi jantung. Paparan radiasi pegan atau radioterapi juga dapat menyebabkan cedera jantung (Henson et al., 2013).

Antrasiklin merupakan agen antikanker yang sering digunakan karena memiliki efikasi yang tinggi pada pengobatan tumor solid dan keganasan hematologi (Abe et al., 2005). Doxorubicin (DOX) merupakan golongan antrasiklin yang sering menyebabkan kardiotoxicitas dalam hal ini mengakibatkan gagal jantung yang progresif baik *reversible* maupun *irreversible*. Doxorubicin memiliki insiden 5% untuk terjadinya gagal jantung kongestif jika dosis kumulatif mencapai 400 mg/m², dan semakin meningkat jika dosisnya ditambah hingga insidennya 48% pada dosis 700 mg/m² (Swain et al., 2003).

Hingga saat ini DOX diketahui mengakibatkan kardiotoxic melalui beberapa mekanisme umum, seperti stres oksidatif, kerusakan DNA dan mitokondria, dan penumpukan zat besi, serta melalui jalur baru seperti induksi autofagi dan CYP1. Namun dari setiap jalur dan bagaimana jalur ini berinteraksi satu sama lain belum dipahami dengan baik, sehingga diperlukan pendekatan baru untuk perlindungan jantung. Patomekanisme

terjadinya kardiotoxik pada pemberian DOX merupakan peluang dalam pencegahan dan pengobatan terjadinya gagal jantung (Hoeger et al., 2020).

High mobility group box 1 protein (HMGB1) adalah protein yang pada manusia dikodekan oleh gen HMGB1 yang terletak pada kromosom 13 (Chou et al., 2001; Ferrari et al., 1996). *High mobility group box 1 protein* disekresikan oleh sel-sel imun seperti makrofag, monosit, dan sel dendritik melalui jalur sekretori. Pada proses inflamasi sel makrofag dan monosit yang teraktivasi akan mengeluarkan HMGB1 sebagai mediator sitokin (Klune et al., 2008; Wang et al., 1999). HMGB1 terikat pada DNA inti sel, yang kemudian secara aktif dilepaskan apabila ada stimulasi sitokin serta secara pasif pada saat terjadi jejas dan kematian sel. Dilaporkan bahwa HMGB1 adalah salah satu sensor autofagi dengan pada stres oksidatif. Penghambatan pelepasan HMGB1 akan menurunkan jumlah *autolysosomes* dan "*flux autophagic*" pada *cell line* manusia dan mencit pada kondisi stres oksidatif. Keadaan ini memberikan gambaran tentang bagaimana peran HMGB1 dan *Damage Associated Molecular Pattern* (DAMP) dalam memicu autofagi sebagai mekanisme pertahanan sel dalam kondisi stress (Kang et al., 2011).

HMGB1 terlibat dalam regulasi transkripsi, replikasi dan perbaikan DNA, serta pembentukan nukleosom. HMGB1 secara pasif dilepaskan oleh jaringan nekrotik atau secara aktif disekresikan oleh sel yang mengalami stres akibat induksi. HMGB1 ekstraseluler bertindak sebagai DAMP dan menimbulkan beberapa bentuk redoks yang dengan mengikat ke berbagai

reseptor dan interactor mempromosikan berbagai respons seluler, termasuk peradangan atau regenerasi jaringan (Idrus et al., 2019). Penghambatan HMGB1 ekstraseluler dalam model eksperimental cedera myocardial iskemia / reperfusi, miokarditis, kardiomiopati yang disebabkan oleh stres mekanis, diabetes, infeksi bakteri atau obat kemoterapi mengurangi peradangan dan bersifat protektif. Sebaliknya, pemberian HMGB1 setelah infark miokard yang diinduksi oleh ligasi arteri koroner permanen memperbaiki kinerja jantung dengan mendorong regenerasi jaringan. HMGB1 menurunkan kontraktilitas dan menginduksi hipertrofi dan apoptosis pada kardiomyosit, menstimulasi aktivitas fibroblast jantung, dan mendorong proliferasi dan diferensiasi *stem cell* dari jantung. Tingginya HMGB1 akan melindungi kardiomyosit dari apoptosis dengan mencegah stres oksidatif DNA, dan pada tikus dengan ekspresi berlebih HMGB1 akan melindungi kardiomyosit dari kerusakan pada jantung. HMGB1 yang lebih tinggi dalam sirkulasi dikaitkan dengan penyakit jantung manusia. Pada cedera jantung maka HMGB1 memunculkan respon menguntungkan yang mungkin tergantung pada pembentukan dan stabilitas bentuk redoks yang beragam, dimana fungsi spesifiknya dalam hubungan tersebut masih belum jelas. Namun, HMGB1 pada disfungsi jantung yang berpotensi sebagai terapeutik dalam modulasi ekspresi dan aktivitas oksidatif (Raucci et al., 2019).

HMGB1 dapat berinteraksi dengan ligan *Toll-like receptor* (TLR) dan sitokin, dan mengaktifkan sel melalui beberapa reseptor permukaan

termasuk TLR2, TLR4, dan *receptor of advanced glycation end products* (RAGE). Mekanisme molekuler mengungkapkan, ikatan HMGB1 dan sinyal TLR4 akan memediasi pelepasan sitokin dan kerusakan jaringan (Andersson & Tracey, 2011).

Penelitian sebelumnya melihat adanya peran HMGB1 pada kerusakan miokard akibat induksi DOX dan menunjukkan bahwa HMGB1 merupakan mediator terjadinya kerusakan akibat induksi DOX (Yao et al., 2012).

Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1 α) adalah subunit dari faktor transkripsi heterodimerik faktor yang diinduksi hipoksia 1 (HIF-1 α) yang dikodekan oleh gen HIF-1 α yang pada manusia terletak pada kromosom 14q (G. L. Semenza et al., 1996).

Gen HIF-1 α diinduksi hipoksia, faktor transkripsi yang penting untuk perkembangan kardiovaskular dan homeostasis O₂ sistemik (Iyer et al., 1998), dimana disregulasi dan ekspresi berlebihan HIF-1 α pada keadaan hipoksia atau pergantian genetik telah sangat terlibat dalam biologi kanker, serta sejumlah patofisiologi lain khususnya di bidang vaskularisasi dan angiogenesis, metabolisme energi, kelangsungan hidup sel, dan invasi tumor (Gunawan et al., 2020; Gregg L. Semenza, 2003).

Akumulasi HIF-1 α akibat induksi DOX pada dalam sel disebabkan oleh peningkatan ekspresi dan aktivasi STAT1 dimana aktivasi ini akan merangsang ekspresi iNOS dan sintesis NO-nya dalam sel tumor. Pada penelitian ini dilakukan penekanan sintesis NO atau aktivasi STAT1 akan

menurunkan akumulasi HIF-1 α yang diinduksi oleh doksorubisin (DOX) dalam sel kanker, dimana DOX kemoterapi dapat menginduksi akumulasi HIF-1 α dalam sel dan merupakan suatu keadaan yang akan membatasi efikasi terapi DOX (Cao et al., 2013).

Penelitian lain, yang berhubungan dengan kejadian hipoksia menunjukkan bahwa pemberian polimer nanopartikel yang mengandung DOX dapat menghambat aktifitas HIF-1 α pada penderita Age-related macular degeneration (AMD), dimana dikatakan bahwa nanopartikel yang mengandung DOX dapat menurunkan ekspresi HIF-1 α dan VEGF pada arising retinal pigment epithelia (ARPE-19) cell line. Namun, disamping itu HIF-1 α juga bertanggung jawab atas peningkatan regulasi beberapa faktor angiogenik, termasuk VEGF (Kelly et al., 2019).

Beberapa penelitian tentang mekanisme dan hubungan DOX dengan ekspresi HIF-1 α dan VEGF masih belum jelas, dimana pada penelitian ini menunjukkan bahwa doxorubicin dapat menekan induksi hipoksia akibat ekspresi VEGF dengan menghambat HIF-1 α melalui mekanisme yang berbeda (Duyndam et al., 2007).

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah protein yang terdapat pada manusia yang dikode oleh gen yang terletak pada kromosom 6p. VEGF berfungsi merangsang pembentukan pembuluh darah baru dan meningkatkan aliran kapiler darah. VEGF adalah polipeptida, dimana kekurangan VEGF cukup umum dan merupakan masalah serius pada pasien penyakit biotoksin yang harus diperbaiki

Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) adalah zat yang dibuat oleh sel yang merangsang pembentukan pembuluh darah baru dan meningkatkan aliran kapiler darah. VEGF adalah polipeptida dan gangguan fungsi VEGF merupakan masalah serius pada pasien dalam keadaan toksik (Nobile-Orazio et al., 2009).

VEGF berperan penting dalam angiogenesis dan sangat terlihat dalam karsinoma, dimana saat ini dijadikan sebagai target penting untuk terapi kanker. Pada penelitian terdahulu menunjukkan pemberian anti-neuroblastoma dan anti-angiogenesis baik in vitro maupun in vivo, dan mengurangi efek samping DOX secara tajam, terutama kerusakan hati. Selain itu pemberian anti-angiogenesis akan memperlihatkan efek penghambatan angiogenesis yang dimediasi oleh jalur sinyal VEGF dan dipicu oleh DOX pada sel (Zhu et al., 2017).

Toksisitas pada kardiovaskular yang terkait dengan agen anti-VEGF telah menjadi risiko besar dalam pengobatan kanker, dimana penekanan ekspresi VEGF, melalui perubahan pada penekanan *Nitrit Oxyde* (NO) dan stimulasi *Endotheline-1* (ET-1), menentukan disfungsi endotel dan vasokonstriksi, yang merupakan alasan utama terjadinya hipertensi. Penelitian yang mendasari toksisitas pada kardiovaskular dapat membantu menentukan mekanisme yang tumpang tindih antara penyakit kardiovaskular dan toksisitas obat yang ada atau yang akan datang (Jiang et al., 2020).

Berdasarkan latar belakang dan penemuan terdahulu maka akan dilakukan penelitian tentang pengaruh induksi Doxorubicin (DOX) terhadap ekspresi mRNA gen dan kadar soluble protein HMGB1, HIF-1 α dan VEGF pada mice Balb/c dan hubungannya dengan kejadian fibrosis jaringan jantung.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan penjelasan diatas, timbul rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ada hubungan ekspresi mRNA gen HMGB1, HIF-1 α dan VEGF pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX ?
2. Apakah ada hubungan kadar protein HMGB1, HIF-1 α dan VEGF pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX ?
3. Apakah ada korelasi antara ekspresi mRNA dan kadar protein dari HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dengan adanya fibrosis jaringan jantung ?

C. HIPOTESIS

1. Ekspresi mRNA gen HMGB1, HIF-1 α dan VEGF pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX lebih tinggi dibandingkan dengan mencit non DOX
2. Kadar protein HMGB1, HIF-1 α dan VEGF pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX lebih tinggi dibandingkan dengan non DOX
3. Adanya korelasi antara peningkatan ekspresi mRNA dan kadar protein dari HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dengan adanya luas fibrosis miokardium.

D. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan Umum

Untuk menganalisa ekspresi mRNA dan kadar proein dari HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dan hubunganya dengan kejadian fibrosis miokardium pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX.

Tujuan Khusus

1. Mengetahui hubungan ekspresi mRNA gen HMGB1, HIF-1 α dan VEGF pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX.
2. Mengetahui hubungan kadar protein HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dengan pada mencit Balb/c yang diinduksi DOX
3. Mengetahui korelasi antara ekspresi mRNA dan kadar protein dari HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dengan kejadian fibrosis miokardium setelah induksi DOX.

E. MANFAAT PENELITIAN

1. Manfaat bagi pengembangan ilmu

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang faktor yang terlibat dalam mekanisme molekuler imunologi akibat pemberian DOX. Dan pengaruh pemberian DOX terhadap ekspresi mRNA dan kadar protein dari HMGB1, HIF-1 α dan VEGF dan hubungannya dengan kejadian fibrosis miokardium.

2. Manfaat Aplikasi

Dari hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai salah satu upaya biomarker dan pencegahan gagal jantung pada penderita yang mendapatkan terapi DOX.

3. Novelitas

Belum ada penelitian yang melihat pengaruh pemberian DOX terhadap ekspresi HMBG1, HIF-1 α dan VEGF secara bersamaan dan dihubungkan dengan kejadian fibrosis miokardium pada binatang percobaan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. DOXORUBICIN

Antrasiklin pertama kali diisolasi pada tahun 1957 dan dipelajari selama awal 1960-an. Daunorubicin (daunomycin) adalah golongan antrasiklin pertama yang ditemukan pada saat itu hingga dikembangkan analoginya yaitu doxorubicin (DOX). Sejak 1970-an lebih dari 7000 makalah tentang DOX serta antrasiklin terkait dipublikasikan (Speth et al., 1988).

Doxorubicin merupakan agen anti tumor yang poten dengan spektrum luas dalam menangani keganasan, di antaranya adalah leukimia, sarkoma, kanker payudara, *small cell lung cancer*, dan kanker ovarium. Mekanisme kerja doxorubicin masih belum sepenuhnya dipahami. Tes sensitivitas in vivo dan in vitro telah menunjukkan intertumour yang luas dan perbedaan antarspesies dalam menanggapi obat. Data yang menunjukkan peran radikal bebas, dan kerusakan mitokondria dan membran, telah memodifikasi hipotesis asli bahwa interkalasi DNA adalah satu-satunya mekanisme sitotoksik. Sementara itu, fokus farmakokinetik plasma telah dialihkan ke studi farmakodinamik, dengan penekanan pada konsentrasi doxorubicin seluler dalam jaringan hematopoietik, pada tumor padat, dan pada konstituen sel (Speth et al., 1988).

1. Formulasi

Doksorubisin tersedia dalam bubuk kering; dilarutkan dalam air, dan paling stabil pada pH agak asam yaitu 4, dan tidak stabil pada pH yang sangat asam atau basa. Ketika diencerkan dalam 0,9% natrium klorida atau dekstrosa 5%, dekomposisi kurang dari 5% terjadi selama 7 sampai 30 hari. Jika sudah diencerkan, DOX stabil dalam cahaya pada suhu kamar selama setidaknya 24 jam, meskipun stabilitas mungkin lebih pendek dalam plasma dan media kultur (Bouma et al., 1986).

Doksorubisin dapat diberikan secara intravena, intra-arteri, intraperitoneal, intrapleural dan intravesika (Speth et al., 1988). Pemberian subkutan, intramuskular dan intratekal tidak dapat digunakan, karena dapat mengakibatkan nekrosis jaringan yang parah, seperti pada ekstrasvasasi (Maral & Jouanne, 1981).

2. Farmakokinetik

Doksorubisin bolus intravena menghasilkan konsentrasi plasma yang tinggi dan turun dengan cepat karena distribusi yang cepat dan ekstensif ke dalam jaringan. Lima puluh hingga 85% doksorubisin plasma terikat pada protein tidak tergantung pada konsentrasi obat absolut dalam plasma, menyisakan 15 sampai 50% dari total doksorubisin dan doksorubisinol (Greene et al., 1983).

Doksorubisin tidak melewati sawar darah-otak dan oleh karena itu tidak aktif melawan tumor di sistem saraf pusat (Mooney et al., 1983).

Beberapa jalur transplasental telah diamati (Karp et al., 1983), meskipun anak-anak dapat lahir sehat dari ibu yang diberikan DOX pada kehamilan trimester pertama hingga ketiga. Konsentrasi DOX pada ASI telah ditemukan namun dapat diabaikan (Egan et al., 1985). Konsentrasi DOX pada saliva adalah 6 sampai 26% dari konsentrasi plasma selama 75 menit pertama setelah pemberian (Celio et al., 1983).

Doksorubisin dengan cepat dimetabolisme menjadi metabolit hidrofilik 13-hidroksil, doksorubisinol, aglikon yang sulit larut dalam air, doksorubisinon dan 7-deoksidoksorubisinon. Seperti DOX, doxorubicinol bersifat sitotoksik, tapi tidak halnya dengan doxorubicinone. Metabolisme menjadi doxorubicinol terjadi oleh aldoketoreduktase yang bergantung pada *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) sitoplasma yang terdapat pada semua sel, dan sebagian pada sel darah merah, sel hati dan ginjal. Aglikon non-sitotoksik dibentuk oleh pembelahan yang dimediasi oleh sitokrom reduktase yang bergantung pada NADPH dari bagian gula amino dalam mikrosom. Pengurangan doxorubicin secara enzimatik ini sangat penting, karena akhirnya menghasilkan radikal OH, yang menyebabkan kerusakan sel yang luas dan kematian sel (Speth et al., 1988).

Doksorubisin dan kataboliknya terutama diekskresikan di empedu. Lebih dari 50% dieliminasi selama transit pertama melalui hati. Ekskresi feses kumulatif selama 7 hari diperkirakan mencapai 25 sampai 45%; tidak ada bukti resirkulasi enterohepatik yang diamati. Meskipun pasien sering

melihat warna kemerahan pada urin selama beberapa jam pertama hingga sehari-hari setelah pemberian DOX, hanya 0,7 sampai 23% (rata-rata, sekitar 5%) dari dosis telah diekskresikan dalam urin, dimana sekitar dua pertiganya adalah obat yang tidak diubah. Namun demikian, nefrotoksisitas yang diinduksi DOX hanya ditemukan pada hewan coba dan tidak ditemukan pada manusia (Speth et al., 1988).

Waktu paruh eliminasi terminal pada pasien dengan hepatoma dan sirosis tidak memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan pasien dengan fungsi hati normal. Gangguan fungsi hati yang didefinisikan oleh tes fungsi hati yang cukup abnormal bukan merupakan alasan untuk dilakukan penyesuaian dosis. Penyesuaian dosis ketika *serum glutamic-pyruvic transaminase* (SGPT) di atas 100 IU / L bahkan dapat menyebabkan underdosis. Namun, pada hiperbilirubinemia penyesuaian dosis diindikasikan. Gangguan fungsi ginjal tidak memerlukan penyesuaian dosis DOX dan begitu pula pasien yang menjalani hemodialisis tidak perlu penyesuaian dosis. Pada pasien dengan gagal ginjal total, hemodialisis dilakukan beberapa jam setelah pemberian DOX. Doksorubisin dan metabolitnya telah terdeteksi pada cairan asites dan efusi pleura, pada konsentrasi setengah dari yang ditemukan dalam plasma, dalam 5 menit setelah injeksi intravena (Speth et al., 1988).

3. Farmakodinamik

Walaupun banyak penelitian *in vitro* tentang kematian sel yang dikaitkan dengan konsentrasi DOX seluler, namun belum jelas faktor apa yang benar-benar membunuh sel. Ulasan yang sangat baik dan rinci tentang berbagai mekanisme kematian sel tumor oleh antrasiklin telah dipublikasikan. Korelasi antara kematian sel dan konsentrasi DOX seluler tidak selalu mengarah pada hubungan sebab akibat, tetapi mungkin hanya mencerminkan sistem kompleks dari berbagai mode tindakan yang terkait dengan: (a) pembentukan radikal bebas karena aktivasi metabolik DOX oleh reduksi elektron; (b) interkalasi doksorubisin ke dalam DNA; (c) induksi kerusakan DNA dan penyimpangan kromosom; dan (d) perubahan membran sel yang diinduksi doxorubicin.

a. Pembentukan radikal bebas

Doksorubisin mengalami reduksi enzimatis 1 dan 2 menjadi semikuinon dan dihidrokuinon yang sesuai. Sejumlah enzim bertanggung jawab atas reduksi 1-elektron menjadi 7-deoksyaglikon. Semikuinon radikal bebas yang dihasilkan bereaksi dengan O_2 untuk menghasilkan radikal OH dalam serangkaian reaksi. Radikal ini dapat menyebabkan kematian sel melalui reaksi dengan DNA, RNA, membran sel dan protein (Speth et al., 1988).

Reduksi 2-elektron DOX menghasilkan dihydroquinone, yang juga muncul setelah reaksi 2 semiquinone. Dihydroquinone bereaksi dengan

oksigen membentuk H_2O_2 . Dengan tidak adanya oksigen, ia kehilangan gula dan menimbulkan kuinon metida, alkylator monofungsional dengan afinitas rendah terhadap DNA. Peran dihydroquinone dan quinone methide dalam sitotoksisitas masih belum jelas (Speth et al., 1988).

b. Interkalasi DNA

Aktivasi nuklear dan ikatan kovalen DOX ke DNA telah disarankan sebagai faktor biokimia penting lainnya dalam sitotoksisitas DOX. Interkalasi DNA menghasilkan berbagai tingkat penghambatan aktivitas DNA-polimerase- α dan RNA-polimerase, pada konsentrasi dalam kisaran $\mu\text{mol} / \text{L}$. Peran proses ini dalam sitotoksisitas yang dimediasi DOX masih harus dijelaskan (Speth et al., 1988).

c. Struktur kromosomal

Peran aktivitas topoisomerase II yang dipicu DOX tampaknya menjadi penting. Topoisomerase II menyebabkan putusnya untai ganda sementara selama puntiran 2 heliks DNA untai ganda. Kerusakan DNA untai tunggal dan ganda telah didokumentasikan setelah perawatan in vivo dan in vitro dengan doxorubicin dari sel leukemia P388 pada tikus. Namun, hubungan efek ini dengan kematian sel tumor dan resistensi multidrug membutuhkan penyelidikan lebih lanjut (Speth et al., 1988).

d. Perubahan pada Membran Sel

Referensi khusus harus dibuat untuk pengamatan bahwa gangguan dengan membran sel saja dapat menyebabkan kematian sel. Pengikatan doksorubisin ke membran, dan terutama pengikatan kovalennya ke kardiolipin, fosfolipid dengan dua gugus kepala fosfat bermuatan negatif, telah mendapat banyak perhatian. Kardiolipin ditemukan di sebaran bagian dalam membran mitokondria dan terkait erat dengan mekanisme transpor elektron (Speth et al., 1988).

Sifat hidrofobik kromofor dari antrasiklin memungkinkan partisi ke dalam fase lipid, menghasilkan fluiditas membran yang berubah. Penurunan fluiditas membran berhubungan dengan resistensi doxorubicin. Sebuah studi rinci tentang mekanisme yang terlibat dalam perubahan yang diinduksi doxorubicin dalam struktur dan fungsi membran belum dilakukan. Namun, doksorubisin mengikat reseptor faktor pertumbuhan epidermal pada konsentrasi obat yang relevan secara klinis, dan mengubah fungsinya (Speth et al., 1988).

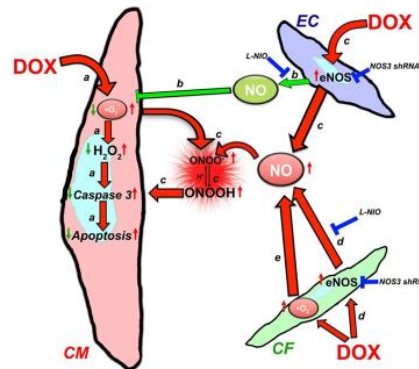
Mekanisme kerja doksorubisin lainnya, yang tidak dibahas di sini, adalah pengikatan ion logam oleh doksorubisin dan pengikatan adriamisin-besi ke membran fosfolipid.

4. Efek samping Doxorubicin terhadap jantung

Doksorubisin (DOX) adalah agen anti tumor yang banyak digunakan. Aplikasi klinis obat dibatasi oleh efek sampingnya yang dapat menimbulkan

apoptosis miokard dan disfungsi jantung. Namun, mekanisme yang mendasari DOX menyebabkan apoptosis kardiomyosit masih belum jelas.

Cardiotoxic of DOX



Gambar 2.1. Mekanisme kardi toksik akibat pengaruh DOX (Polonchuk et al., 2017)

Reaksi silang antara sel yang berbeda dalam proses terjadinya kardi toksik akibat induksi DOX ialah tahap pertama adanya efek induksi DOX pada kardiomyosit terjadi melalui apoptosis yang dimediasi oleh *Respiratory oxidative species* (ROS) dan caspase 3 pada *cardiomyocyte* (CM) (a). Selanjutnya, *Nitric Oxide* (NO) yang dilepaskan kedalam *endothelial cells* (EC) melindungi kardiomyosit dari toksik yang diinduksi DOX (b) dan terjadi peningkatan regulasi eNOS akibat pengaruh induksi DOX dalam sel endotel menghasilkan NO yang bersifat toksik (c). Dengan adanya peningkatan regulasi eNOS akibat pengaruh induksi DOX pada jaringan jantung (*cardiac fibroblast/CF*) maka akan menghasilkan NO yang lebih banyak dan bersifat toksik (d).

Selanjutnya, efek kardiotoxik akibat pengaruh induksi DOX dapat melalui peningkatan produksi ROS pada sel jantung (e). Pada tingkat molekuler, terjadinya apoptosis yang diinduksi DOX/ superoksida dalam kardiomyosit dapat diselamatkan oleh NO yang dilepaskan sel endotel, melalui penghambatan efek toksik yang dimediasi oleh ROS, atau dapat diperburuk dengan peningkatan ekspresi endothelial nitric oxide synthase (eNOS) dan pembentukan asam peroksinitrus. Fibroblas jantung dapat memicu efek DOX / NO-toksik dengan mengekspresikan eNOS secara berlebihan dan meningkatkan pembentukan asam peroksinitrat (ONOO⁻) atau dapat meningkatkan kadar superoksida dan oleh karena itu umpan balik untuk asam peroksinitrous pada sel endotel sehingga terjadi apoptosis sel kardiomyosit (Polonchuk et al., 2017).

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa ada berhubungan high-mobility group box 1 (HMGB1) pada miokard yang diinduksi DOX dan jalur sinyal yang terlibat dalam regulasi ekspresi HMGB1 dalam kardiomyosit dengan DOX. Dikatakan bahwa pemberian sel kardiomyosit pada mencit yang diinduksi DOX akan menghasilkan peningkatan ekspresi HMGB1 yang dikaitkan dengan peningkatan apoptosis sel miokard. Selain itu dengan induksi DOX maka akan meningkatkan pembentukan peroksinitrit (ONOO⁻) dan peningkatan fosforilasi dari c-Jun N terminal kinase (JNK). Pada penelitian ini juga dilakukan penghambatan secara genetik dengan menggunakan TLR4 deficiency (TLR4^{-/-}) dan JNK ^{-/-} mice dan terlihat perbaikan ekspresi HMGB1 yang diinduksi DOX dan mengurangi apoptosis

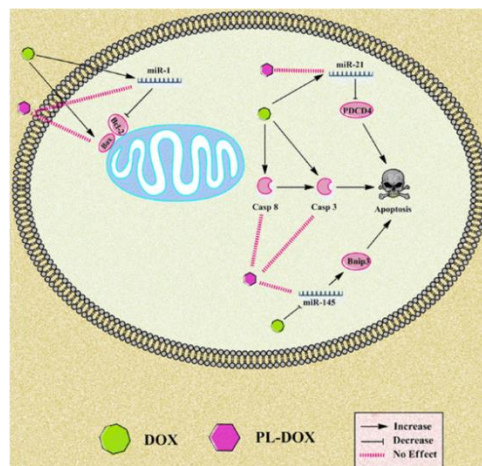
miokard dan disfungsi jantung. Pada kesimpulan penelitian ini bahwa induksi DOX akan mempengaruhi ekspresi HMGB1, dimana ONOO- dan JNK merupakan jalur penting dalam regulasi dari ekspresi HMGB1 tersebut (Yao et al., 2012).

Selain itu kardiotoxik akibat induksi DOX berhubungan dengan MiR-142-3p yang berfungsi menekan sel tumor dan ekspresi berlebihan miR-142-3p meningkatkan sensitifitas terhadap DOX dan meningkatkan apoptosis sel tumor. HMGB1 merupakan target fungsional yang secara langsung berhubungan dengan miR-142-3p dalam sel tumor, dimana ekspresi HMGB1 diatur secara negative oleh miR-142-3p. Ekspresi berlebihan dari miR-142-3p dapat menghambat autofagi dan meningkatkan sensitifitas DOX dengan HMGB1 sebagai target fungsional (Liang et al., 2020).

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa ada berhubungan high-mobility group box 1 (HMGB1) pada miokard yang diinduksi DOX dan jalur sinyal yang terlibat dalam regulasi ekspresi HMGB1 dalam kardiomyosit dengan DOX. Dikatakan bahwa pemberian sel kardiomyosit pada mencit yang diinduksi DOX akan menghasilkan peningkatan ekspresi HMGB1 yang dikaitkan dengan peningkatan apoptosis sel miokard. Selain itu dengan induksi DOX maka akan meningkatkan pembentukan peroksinitrit (ONOO-) dan peningkatan fosforilasi dari c-Jun N terminal kinase (JNK). Pada penelitian ini juga dilakukan penghambatan secara genetik dengan menggunakan TLR4 deficiency (TLR4^{-/-}) dan JNK ^{-/-} mice dan terlihat perbaikan ekspresi HMGB1 yang diinduksi DOX dan mengurangi apoptosis

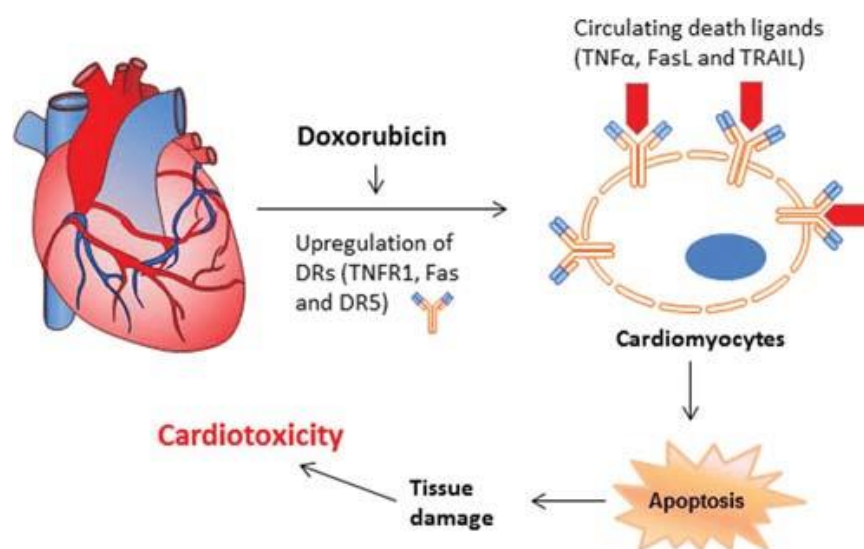
miokard dan disfungsi jantung. Pada kesimpulan penelitian ini bahwa induksi DOX akan mempengaruhi ekspresi HMGB1, dimana ONOO- dan JNK merupakan jalur penting dalam regulasi dari ekspresi HMGB1 tersebut (Yao et al., 2012).

Selain itu kardiotoxik akibat induksi DOX berhubungan dengan MiR-142-3p yang berfungsi menekan sel tumor dan ekspresi berlebihan miR-142-3p meningkatkan sensitifitas terhadap DOX dan meningkatkan apoptosis sel tumor. HMGB1 merupakan target fungsional yang secara langsung berhubungan dengan miR-142-3p dalam sel tumor, dimana ekspresi HMGB1 diatur secara negative oleh miR-142-3p. Ekspresi berlebih dari miR-142-3p dapat menghambat autofagi dan meningkatkan sensitivitas DOX dengan HMGB1 sebagai target fungsional (Liang et al., 2020).



Gambar 2.2. Peran miR-1,-21 dan -145 dalam terjadinya kardiotoxik akibat induksi DOX (Razavi-Azarkhiavi et al., 2017).

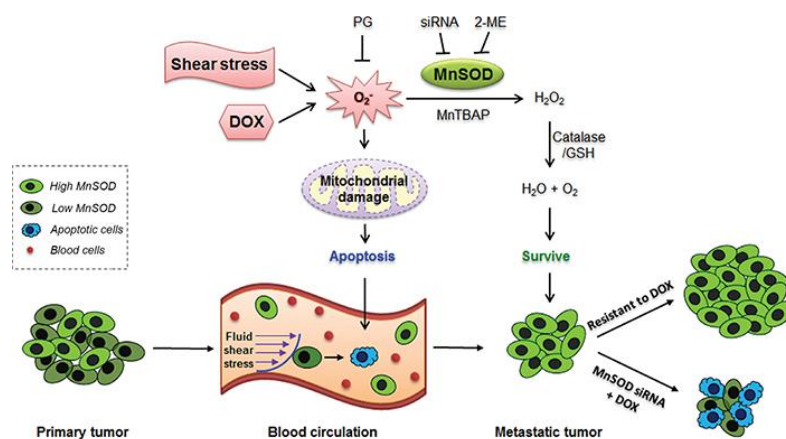
Pada penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa DOX dapat menginduksi terjadinya apoptosis melalui jalur HMGB1, dimana pengaruh nanoDOX (DOX yang dikonjugasikan dengan nanodiamond) dapat mengaktifkan autofagi dan mengstimulasi ekspresi HMGB1 (Z. Chen et al., 2019).



Gambar 2.3. Mekanisme kerja DOX yang menyebabkan kardiotoxik. (Zhao & Zhang, 2017).

Model kerja DOX yang dapat menginduksi kardiotoxik melalui peningkatan regulasi reseptor kematian sel dan menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel kardiomiosit. DOX dan antrasiklin merupakan zat yang dapat meningkatkan ekspresi reseptor kematian sel (TNFR1, Fas, DR4 dan DR5) pada kardiomiosit. Death Receptor (DR) yang diregulasi dalam sel mungkin mengalami pengelompokan atau melibatkan ligan yang sejenis, sehingga memicu kaskade kaspase dan akhirnya terjadi apoptosis pada sel

kardiomiosit. Dari hasil penelitian ini, menunjukkan kadar sitokin TNF spesifik serum yang meningkat (misalnya, sitokin TRAIL) yang dapat ditemukan pada penyakit dan kondisi tertentu, dapat dipakai sebagai prediksi risiko terjadinya kardiotoxik pada pasien sebelum pemberian obat DOX atau antrasiklin (Zhao & Zhang, 2017).



Gambar 2.4. Mekanisme manganese superoxide dismutase (MnSOD) dalam kelangsungan hidup sel kanker, metastasis dan resistensi terhadap DOX (Fu et al., 2016).

MnSOD berperan dalam mendukung kelangsungan hidup sel kanker, metastasis dan resistensi terhadap DOX. Baik stress dan DOX dapat merusak circulating tumor cell (CTCs) dengan menghasilkan superoksida, yang dapat merusak mitokondria dan menyebabkan apoptosis sel. Hanya CTCs dengan tingkat MnSOD tinggi yang dapat menahan kematian sel dan CTC yang bertahan akan tumbuh menjadi tumor metastasis, sel tumor akan

terus mengekspresikan MnSOD tingkat tinggi sehingga sel tumor akan menjadi resisten terhadap DOX (Fu et al., 2016).

B. KARDIOTOKSISITAS

National Cancer Institute (NCI) mendefinisikan kardiotoxik sebagai "toksisitas yang memengaruhi jantung." Meskipun definisi ini belum jelas, diketahui bahwa banyak agen kemoterapi berdampak buruk pada jantung dan pembuluh darahnya, dan oleh karena itu, interpretasi yang tidak ambigu tentang apa itu kardiotoxik dan bagaimana terapi antikanker membebani jantung masih kurang. Menurut komite peninjau jantung, kardiotoxik yang diinduksi obat, dalam istilah kardiomiopati, mencakup satu atau lebih hal berikut: (i) penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri (LVEF), baik secara global atau lebih parah di septum; (ii) tanda dan gejala gagal jantung, seperti takikardia dan / atau S3 gallop; (iii) penurunan LVEF yang sama dengan atau lebih besar dari 10% tetapi kurang dari 55% tanpa tanda dan gejala HF terkait, atau penurunan LVEF yang kurang dari atau sama dengan 5% tetapi kurang dari 55% terkait tanda dan gejala HF (Seidman et al., 2002). Meskipun definisi ini berhasil mendefinisikan kardiotoxik, definisi ini tidak mencakup kerusakan kardiovaskular subklinis yang mungkin terjadi lebih awal; oleh karena itu definisi yang ideal saat ini tidak ada.

1. Klasifikasi Kardiotoxik

Efek toksik antrasiklin terhadap sistem kardiovaskular dapat diklasifikasikan sebagai akut, kronik, dan late-onset (delay). Beberapa studi juga melaporkan kardiotoxik sub-klinis sebagai tambahan yang bermanifestasi sebagai gagal jantung kongestif.

a. Kardiotoxik akut

Kardiotoxik akut ataupun sub-akut sering didefinisikan kardiotoxik yang tidak tergantung pada dosis antrasiklin. Keadaan ini diklasifikasikan berdasarkan perubahan elektrokardiografi (EKG) asimtomatik, aritmia transien, hipotensi, takikardia, dan miokarditis. Angka kejadiannya kecil dan dapat terjadi selama atau segera setelah pemberian antrasiklin. Efek akut pemberian antrasiklin biasanya bersifat reversibel dan dapat dikelola secara klinis. Dalam mendeteksi kerusakan miokardium akut, dapat dilakukan pengukuran konsentrasi plasma troponin I (TnI) jantung segera setelah antrasiklin dosis tinggi diberikan (Barrett-Lee et al., 2009). Selain itu, troponin T (TnT) juga berperan dalam diagnosis dan prognosis kerusakan kardiomyosit (Sishi, 2015).

b. Kardiotoxik kronis

Kardiotoxik kronis dapat bermanifestasi berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun setelah kemoterapi, dan secara klinik merupakan kardiotoxik yang paling merusak karena bergantung pada dosis. Keadaan

ini pada akhirnya menyebabkan perubahan kardiomiopati ireversibel dengan prognosis yang jelek. Gambaran klinis yang khas dari kardiotoksik kronis adalah penurunan tekanan darah dan fraksi ejeksi yang parah, peningkatan denyut jantung, dilatasi ventrikel dengan kegagalan jantung. Biopsi jantung pada pasien kardiotoksik menampilkan sel atrofi dengan diameter lebih kecil serta vakuolisasi sitoplasma yang disebabkan oleh dilatasi. Pada studi prospektif jangka panjang, dosis kumulatif total diidentifikasi sebagai faktor risiko utama terjadinya penyakit jantung kongestif, dengan risiko meningkat seiring dengan peningkatan dosis berikutnya (Sishi, 2015). Pada pasien yang menerima dosis kumulatif 400 mg/m² didapatkan 3% akan berkembang menjadi kardiotoksik, 7% pada dosis 550 mg/m², dan 18% untuk 700 mg/m². Studi lain menunjukkan proporsi pasien yang mengalami gagal jantung setelah diinduksi antrasiklin adalah 26% (Swain et al., 2003). Prevalensi kardiotoksitas kronis ini sulit untuk diprediksi secara akurat karena dapat memakan waktu bertahun-tahun untuk mengetahuinya.

c. Late-onset

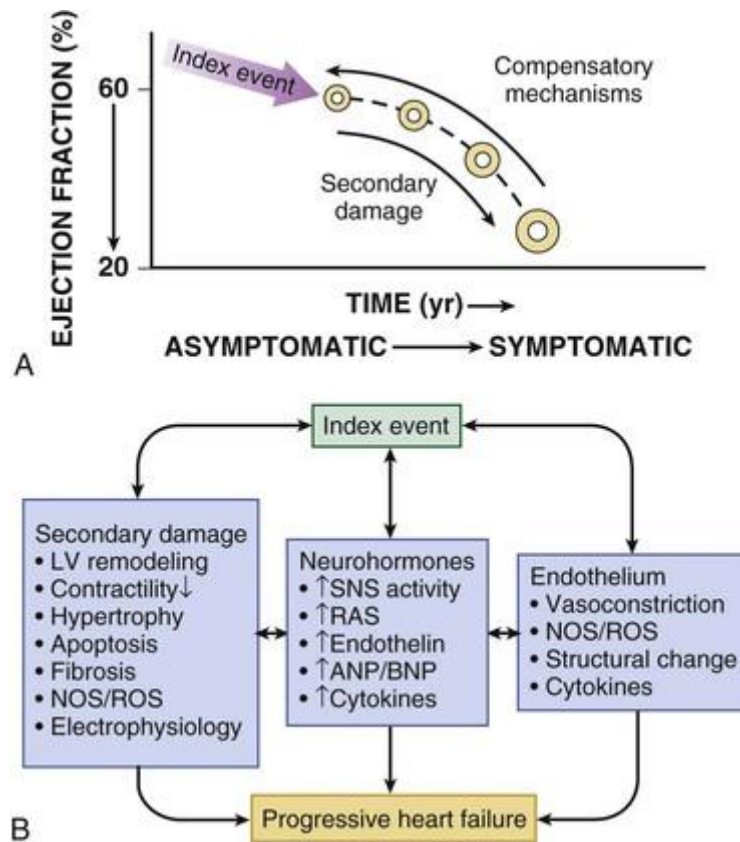
Kardiotoksik jenis ini terjadi bertahun-tahun atau bahkan beberapa dekade setelah paparan antrasiklin. Keadaan ini terjadi pada pasien yang sebelumnya terpapar antrasiklin saat anak-anak atau pada pasien dengan dinding ventrikel tipis yang melawan tekanan dinding sistolik yang meningkat. Kondisi kompensasi yang stagnan ini selama beberapa tahun

bermanifestasi secara klinis sebagai disfungsi jantung. Stresor kardiovaskular seperti pembedahan, kehamilan, angkat beban, dan infeksi virus akut diduga menjadi pemicu kardiotoxik jenis ini (Sishi, 2015).

2. Patofisiologi Gagal Jantung

Gagal jantung didefinisikan sebagai kelainan pada struktur dan atau fungsi jantung yang mengakibatkan ketidakmampuan jantung untuk memenuhi kebutuhan oksigen yang dibutuhkan oleh tubuh. Gagal jantung juga dapat diartikan sebagai sindroma klinis yang menyebabkan keluhan sesak napas, edema, dan letih serta ditemukan tanda meningkatnya desakan vena sentral, iktus kordis yang bergeser ke lateral, terdengar bunyi gallop S3, serta rhonki basah halus di basal paru (Ponikowski et al., 2016).

Perjalan gagal jantung dimulai setelah terjadinya *index event* atau suatu kejadian tertentu yang mengakibatkan kerusakan otot jantung dan hilangnya kardiomyosit yang menghalangi miokardium menghasilkan energi yang akhirnya mengakibatkan kegagalan jantung dalam memompa darah secara normal. Terjadinya *index event* dapat terjadi secara tiba-tiba, (misalnya infark miokard akut), atau terjadi secara periode waktu tertentu (misalnya kematian kardiomyosit akibat kemoterapi). Gagal jantung dapat terjadi tanpa didahului gejala khas, atau gejalanya sangat minimal dan baru akan bermanifestasi selama kurun waktu tertentu akibat mekanisme kompensasi tubuh (Hasenfuss & Mann, 2011).



Gambar 2.5. Patogenesis gagal jantung. A, peristiwa cedera miokard, perjalanan penyakit, penurunan fungsi, dan mekanisme kompensasi. Tampak hubungan antara index event, perjalanan waktu, penurunan fungsi dan mekanisme awal gagal jantung. B, Lingkaran sindrom gagal jantung. Dimulai dengan peristiwa index event maka akan terjadi kerusakan sekunder dan mekanisme kompensasi neurohormonal yang mengakibatkan lingkaran kerusakan kronis (Hasenfuss & Mann, 2011).

a. Respons Neurohormonal

Pada gagal jantung akut, tubuh mengalami perubahan neurohormonal yang akan berusaha melakukan kompensasi dengan mengaktifasi berbagai sistem, diantaranya sistem adrenargik sehingga meningkatkan kontraktilitas jantung. Sistem angiotensin menyebabkan vasokonstriksi dan peningkatan tekanan darah untuk menjamin perfusi ke organ-organ vital (McMurray et al., 2015). Ketika teraktifasi, sistem neurohormonal ini akan

mengakibatkan retensi air dan garam serta vasokonstriksi. Namun proses ini juga berdampak buruk pada sistem kardiovaskular dengan terjadinya proses remodeling (Hasenfuss & Mann, 2011).

Beberapa sistem neurohormonal yang terlibat dalam sidrom gagal jantung antara lain: 1) sistem adrenergik; 2) sistem renin; 3) sistem angiotensin; 4) sistem aldosteron; 5) sistem sitokin inflamasi; 6) sistem endotelin; 7) sistem peptida natriuretik; dan 8) sistem arginin-vasopressin (hormon anti diuretik). Secara garis besar sistem tersebut ada yang bersifat vasokonstriktor dan ada yang sebagai vasodilator. Kedua sifat ini berusaha dalam keseimbangan sesuai dengan kebutuhan tubuh.

Aktivasi Sistem Saraf Simpatetik

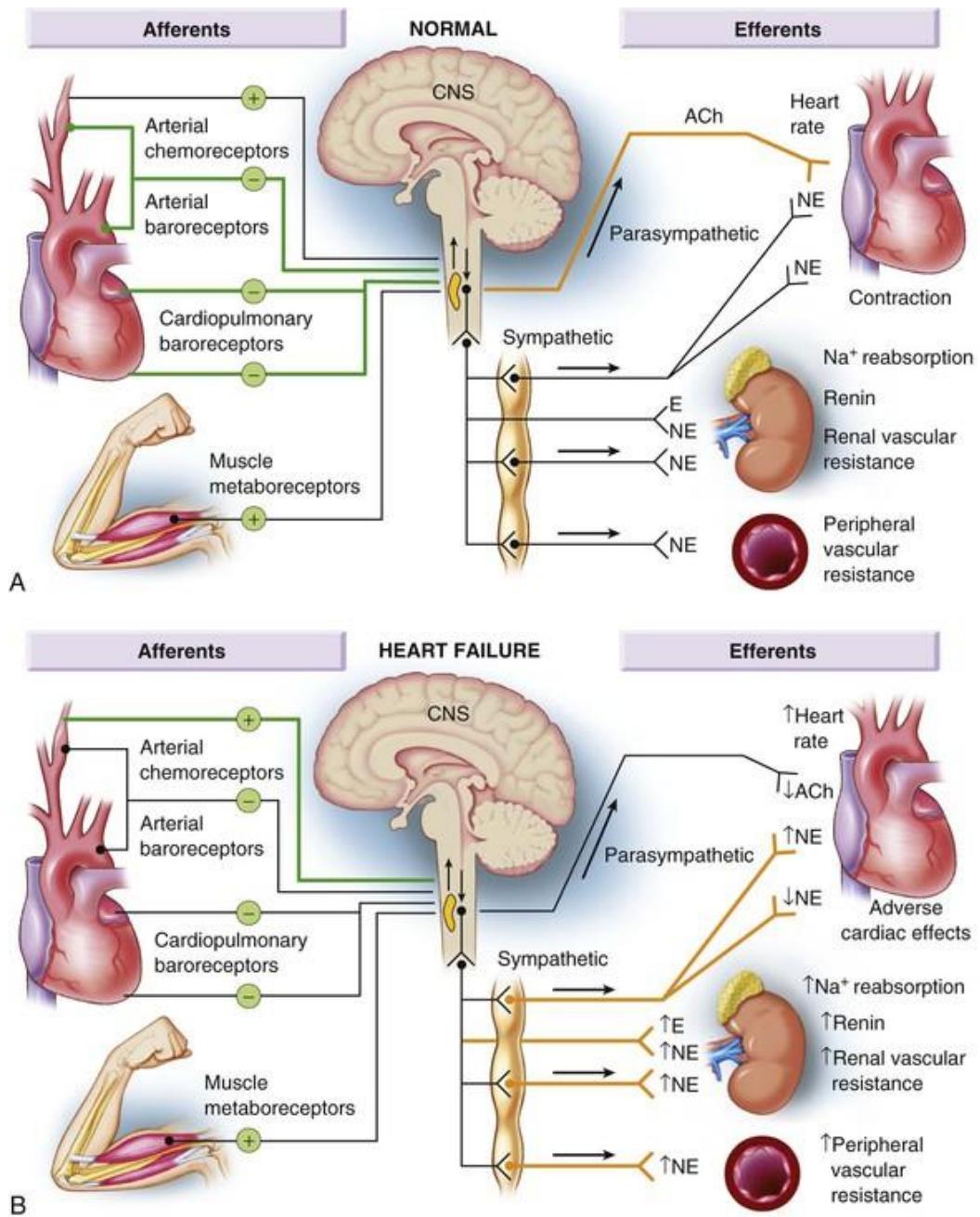
Berkurangnya curah jantung akan mengaktifkan sistem saraf simpatetik dan mengurangi sistem saraf parasimpatetik. Hal ini akibat berkurangnya input yang menginhibisi sistem simpatetik dari baroreseptor pada sinus karotid, arkus aorta, dan baroreseptor kardiopulmonal (Hasenfuss & Mann, 2011). Aktivasi saraf simpatetik yang meningkat akan meningkatkan jumlah norepinefrin disirkulasi. Pada gagal jantung, bisa ditemukan norepinefrin yang meningkat sampai dengan 2-3 kali lipat yang berhubungan dengan prognosis yang buruk (Hasenfuss & Mann, 2011; McMurray et al., 2015).

Reseptor adrenergik β_1 akan teraktivasi sehingga meningkatkan denyut jantung dan kontraktilitas dari miokardium. Pada awalnya hal ini

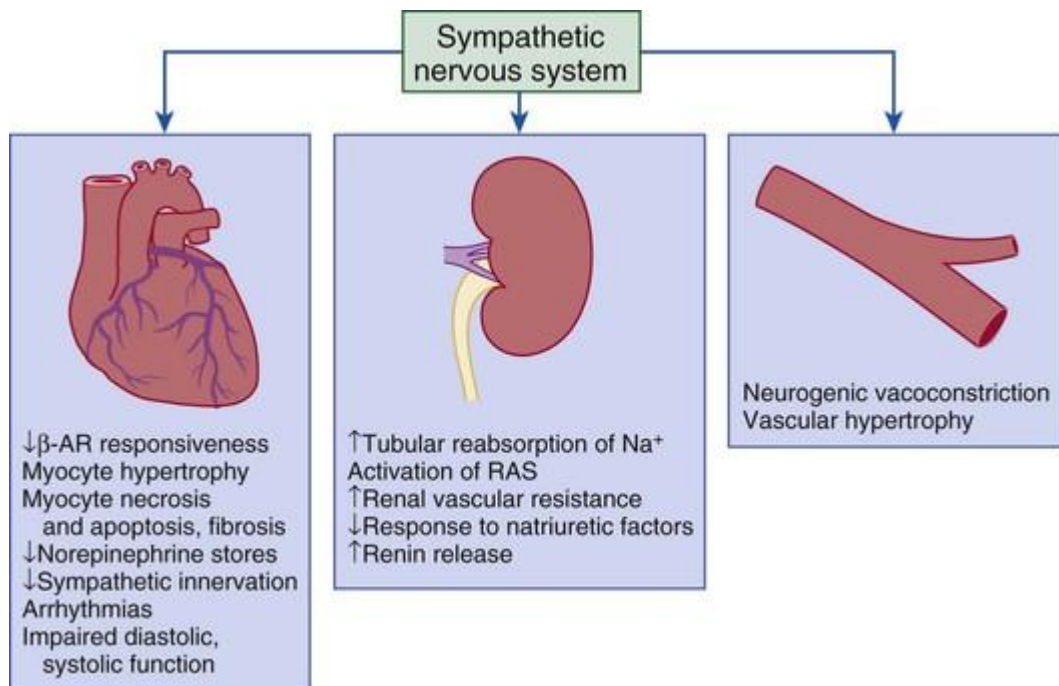
mampu menjaga agar curah jantung mencukupi. Selain itu, reseptor adrenergik α_1 akan teraktifasi juga dengan hasiln meningkatnya efek inotropik dan vasokonstriksi pada arteri perifer hingga akhirnya meningkatkan *afterload*. Namun hal ini berdampak buruk terhadap jantung karena terjadi peningkatan kebutuhan oksigen jantung yang pada akhirnya menyebabkan kondisi iskemia (Hasenfuss & Mann, 2011).

Pada pasien gagal jantung sering dijumpai kelainan konduksi listrik jantung atau aritmia. Hal ini diakibatkan oleh karena meningkatnya aktifasi saraf simpatik yang berlebih disertai perubahan struktur jantung dan vaskularisasinya. Selain itu adanya peningkatan output saraf simpatik dari sistem saraf pusat dapat meingkatkan risiko takikardia (Hasenfuss & Mann, 2011).

Aktifasi saraf simpatetik memberikan efek positif pada masa akut, tetapi jika hal ini berlangsung terus menerus dalam waktu yang lama akan berdampak negatif terhadap sistem kardiovaskular. Sisitem saraf simpatetik tidak memainkan perannya sendiri dalam proses perjalanan penyakit gagal jantung, namun sistem saraf parasimpatetik juga berperan dengan mengurangi level *nitric oxide* (NO) yang bersirkulasi sehingga meningkatkan proses inflamasi (Hasenfuss & Mann, 2011; McMurray et al., 2015).



Gambar 2.6. Aktivasi sistem saraf simpatis pada keadaan normal dan gagal jantung (Hasenfuss & Mann, 2011).

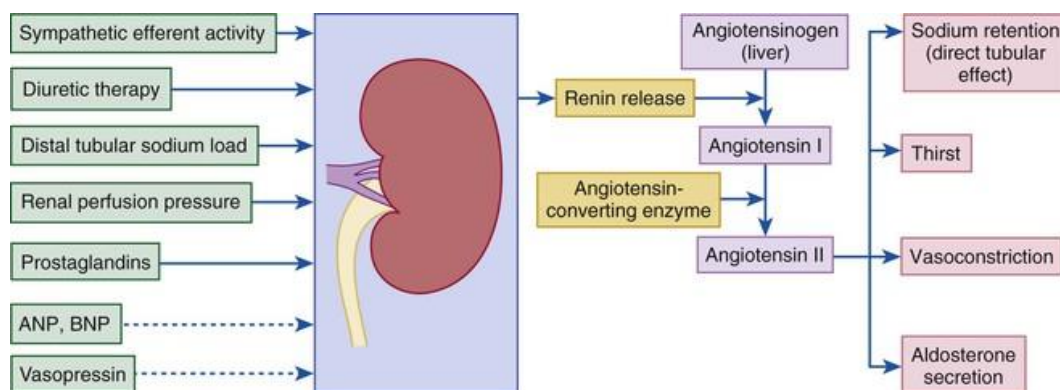


Gambar 2.7. Respons yang diakibatkan oleh aktivasi sistem saraf simpatis (Hasenfuss & Mann, 2011)

Aktifasi Sistem Renin-Angiotensin-Adosteron (RAAS)

Pelepasan renin pada kondisi gagal jantung dipicu oleh hipoperfusi renal, berkurangnya natrium yang mencapai makula densa dan meningkatnya aktivasi saraf simpatektik. Aktivasi RAAS akan menghasilkan angiotensin II yang akan berikatan pada reseptor tipe 1 (AT₁) dan reseptor tipe 2 (AT₂). Kedua sub tipe reseptor ini terdapat pada miokardium dengan distribusi AT₂ lebih banyak dibandingkan AT₁. Sedangkan pada sistem vaskular, sub tipe yang paling banyak adalah AT₁. Aktivasi masing-masing sub tipe reseptor dapat menimbulkan hasil yang berbeda. AT₁ akan memicu vasokonstriksi, pertumbuhan sel, sekresi aldosteron, dan pelepasan katekolamin. AT₂ akan memicu vasodilatasi, menghambat pertumbuhan sel,

natriuresis, dan pelepasan bradikinin. Pada kondisi gagal jantung ditemukan reseptor AT_1 pada miokardium berkurang sehingga menimbulkan perubahan perbandingan kedua reseptor ini. Angiotensin II dapat menyebabkan fibrosis pada organ-organ vital, seperti jantung dan ginjal. Selain itu, angiotensin II juga mampu memicu aktivasi saraf simpatetik dan produksi aldosteron lebih lanjut. Aldosteron sendiri mampu memicu hipertrofi dan fibrosis sistem vaskular dan miokardium sehingga meningkatkan kekakuan otot jantung dan mengurangi kelenturan dari system pembuluh darah. Efek-efek negatif lain yang bisa disebabkan oleh aldosteron ialah disfungsi endotel, pengurangan ambilan norepinefrin, dan disfungsi baroreseptor (Hasenfuss & Mann, 2011; McMurray et al., 2015).



Gambar 2.8. Aktivasi neurohormonal sistem renin angiotensin aldosteron dan akibatnya pada gagal jantung (Hasenfuss & Mann, 2011).

Peptida Natriuretik

Saat ini ada dua macam peptida natriuretik yang diketahui yakni *atrial natriuretic peptide* (ANP) dan *brain natriuretic peptide* (BNP). Keduanya berperan besar dalam respon tubuh dalam perjalanan penyakit gagal

jantung. ANP dan BNP bekerja pada jantung dan pembuluh darah perifer dengan meningkatkan ekskresi natrium dan air namun mengurangi produksi renin dan aldosteron sehingga bisa mengimbangi hiperaktivasi dari RAAS pada keadaan normal. Meskipun keduanya memerankan peran protektif dalam gagal jantung, namun pada kondisi gagal jantung lanjut efek keduanya menjadi tidak berarti. Pada kondisi gagal jantung dapat ditemukan bahwa level ANP dan BNP meningkat drastis dan digunakan sebagai alat diagnostic, monitor perjalanan penyakit dan prognostik pada pasien gagal jantung refrakter (Hasenfuss & Mann, 2011).

Sel Endotel, Sistem Endotelin dan Produksi Nitrit Oxide (NO)

Sel-sel endotel dari pembuluh darah berperan penting dalam mempertahankan fungsi organ dan sistem organ. Salah satunya adalah dengan memproduksi NO yang merupakan vasodilator kuat. Proses penuaan dapat mengakibatkan disfungsi endotel yang berakibat pada berkurangnya produksi NO. Hal ini juga dapat ditemukan pada gagal jantung yang terjadi disfungsi endotel mungkin disebabkan oleh stres oksidatif. Selain NO, sel endotel juga memproduksi endotelin-1 dan zat-zat lainnya yang berguna. Berbeda dengan NO, endotelin merupakan vasokonstriktor kuat. Dalam perjalanan penyakit gagal jantung ditemukan kadar endotelin-1 meningkat drastis. Hal ini mungkin disebabkan oleh proses-proses kompensasi dari tubuh seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Oleh karena itu usaha untuk mempertahankan fungsi endotel

cukup penting pada gagal jantung (Hasenfuss & Mann, 2011; McMurray et al., 2015).

Vasopresin

Diproduksi oleh otak kecil, vasopresin juga dikenal sebagai hormon antidiuretik. Hormon ini berperan dalam vasokonstriksi, reabsorpsi air, osmolaritas cairan tubuh, volume darah, tekanan darah, kontraksi sel, proliferasi sel, dan sekresi adrenokortikotropin. Pada pasien dengan gagal jantung, umumnya vasopresin ditemukan meningkat walaupun terkadang tidak signifikan (Hasenfuss & Mann, 2011).

Proses Remodeling Kardiomyosit

Sebagai salah satu akibat perubahan neurohormonal dalam proses perjalanan penyakit gagal jantung terjadilah proses remodeling pada ventrikel jantung. Proses remodeling disebabkan oleh usaha jantung mengkompensasi meningkatnya preload, kontraktilitas, dan afterload. Selain itu, hal ini juga akibat berbagai interaksi hemodinamik, neurohormonal, epigenetik, genetik, dan berbagai kondisi komorbid penderita gagal jantung (Hasenfuss & Mann, 2011; McMurray et al., 2015).

Remodeling merupakan proses yang tidak diharapkan karena berkaitan erat dengan prognosis fungsional jantung dan manifestasi klinis yang lebih buruk. Hal ini disebabkan oleh hilangnya kemampuan kardiomyosit untuk berkontraksi dengan normal yang secara seluler dapat

diketahui dengan berkurangnya rantai alfa miosit dan miofilamen, berubahnya susunan sitoskeleton kardiomiosit, perubahan pada metabolisme energi, dan desensitisasi dari reseptor beta-adrenergik (Hasenfuss & Mann, 2011).

Terdapat dua macam bentuk remodeling patologis, yaitu eksentrik dan konsentrik. Remodeling eksentrik adalah penambahan panjang miosit dan sarkomer. Tipe ini ditemukan pada keadaan *volume overload*. Sedangkan remodeling konsentrik adalah penambahan jumlah sarkomer secara paralel, meningkatnya jumlah miosit secara *cross-sectional*, dan menebalnya dinding ventrikel kiri. Hal ini ditemukan pada keadaan gagal jantung dengan *pressure overload*. Kedua tipe ini mengakibatkan perubahan pada kontraktilitas, bentuk dan fungsi jantung. Penyebab remodeling sendiri adalah *stretch* atau *strain* pada miosit, neurohormonal, sitokin, *growth factors*, dan stres oksidatif (Hasenfuss & Mann, 2011).

Proses Inflamasi

Proses inflamasi merupakan salah satu faktor yang memperberat progresivitas sindroma gagal jantung. Berbagai sitokin mediator inflamasi yang mungkin memegang peranan penting ialah *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α), interleukin 1 (IL-1), dan IL-6. Salah satu proses yang mungkin terjadi ialah produksi berlebih sitokin yang dipicu oleh katekolamin. Penelitian telah membuktikan bahwa pasien gagal jantung dengan TNF- α

dan reseptor TNF- α yang meningkat berkaitan dengan prognosis yang lebih buruk (Hasenfuss & Mann, 2011).

Stres Oksidatif

Pada keadaan normal, *reactive oxygen species* (ROS) dapat dinetralkan dengan antioksidan. Namun, pada keadaan patologis, contohnya pada gagal jantung, ROS yang dihasilkan terlalu banyak sehingga menimbulkan keadaan yang dinamakan stres oksidatif. Telah dibuktikan bahwa produksi ROS berlebihan terhadap mitokondria pada sindroma gagal jantung mempengaruhi kontraktilitas jantung. Pada sindroma gagal jantung terdapat peningkatan produksi ROS oleh *xanthine oxydase* dan *NADPH oxydase*. Hal ini dapat memicu terjadinya hipertrofi, fibrosis, dan apoptosis kardiomyosit. Produksi ROS juga dapat memicu berkurangnya bioavailabilitas dari NO yang dapat mempengaruhi vasodilatasi sehingga neurohormon vasokonstriksi lebih dominan (Hasenfuss & Mann, 2011).

Kematian Sel

Pada kasus gagal jantung dapat ditemukan meningkatnya kematian sel yang disebabkan oleh meningkatnya neurohormon, aktivasi adrenergik, sitokin inflamasi, stres oksidatif, dan zat-zat yang bersifat toksik. Apoptosis adalah kematian sel terprogram yang banyak ditemukan pada proses penuaan namun terjadi pada gagal jantung. Dalam perjalanan penyakit

gagal jantung, ditemukan apoptosis terutama pada gagal jantung dengan pressure overload. Autophagy, proses dimana sel mendegradasi dirinya sendiri, adalah tipe kematian sel yang juga dapat ditemukan dalam kasus gagal jantung (Hasenfuss & Mann, 2011).

3. Diagnosis Kardi toksik

Langkah pertama untuk mengidentifikasi pasien pada peningkatan risiko kardi toksisitas terdiri dari penilaian awal yang cermat terhadap faktor risiko kardiovaskular (tabel 1). Penilaian risiko harus mencakup riwayat klinis dan pemeriksaan serta pengukuran dasar fungsi jantung. Biomarker jantung (peptida natriuretik atau troponin) dapat dipertimbangkan sebagai tambahan. Sangat penting untuk mendeteksi kelainan jantung subklinis, yang dapat mempengaruhi keputusan klinis mengenai pilihan kemoterapi, indikasi *cardiacprotection* atau peningkatan frekuensi pengawasan (misalnya disfungsi ventrikel kiri tanpa gejala). Penilaian risiko dasar sering dilakukan oleh tim onkologi, tetapi rujukan untuk evaluasi kardiologi sangat dianjurkan pada pasien risiko tinggi. Risiko tinggi dapat ditentukan oleh jumlah faktor risiko dan tingkat keparahannya. Pasien yang berisiko tinggi mengalami kardi toksisitas harus diperiksa oleh ahli jantung dengan keahlian di bidang ini atau, jika perlu, oleh tim spesialis kardi toksisitas (Zamorano et al., 2016).

Tabel 2.1. Faktor risiko kardiotositas (Zamorano et al., 2016)

Penyakit miokardium saat ini	Demografi dan faktor risiko kardiovaskuler lainnya
<ul style="list-style-type: none"> • Gagal jantung (<i>preserved</i> atau <i>reduced</i> fraksi ejeksi) • Disfungsi ventrikel kiri yang asimtomatik (LVEF <50% atau peptida natriuretik tinggi) • Adanya bukti PJK (riwayat infark miokard, angina, PCI, CABG, iskemia miokard) • Penyakit jantung katup yang moderat atau berat dengan LVH atau kerusakan LV. • Penyakit jantung hipertensif dengan hipertrofi LV • Kardiomiopati hipertrofi • Kardiomiopati dilatasi • Kardiomiopati restriktif • Cardiac sarcoidosis • Aritmia jantung yang signifikan 	<ul style="list-style-type: none"> • Usia (populasi anak-anak <18 tahun; >50 tahun untuk trastuzumab; >65 tahun untuk antrasiklin) • Riwayat keluarga atau penyakit kardiovaskular yang prematur (<50 tahun) • Hipertensi arterial • Diabetes melitus • Hiperkolesterolemia
Riwayat pengobatan kardiotosik kanker sebelumnya	Faktor risiko gaya hidup
<ul style="list-style-type: none"> • Penggunaan antrasiklin sebelumnya • Riwayat radioterapi pada dada atau mediastinum sebelumnya 	<ul style="list-style-type: none"> • Merokok • Penggunaan alkohol berlebih • Obesitas • Kebiasaan yang menetap

LVEF = fraksi ejeksi ventrikel kiri; PJK = penyakit jantung koroner; PCI = percutaneous coronary intervention; CABG = coronary artery bypass graft; LVH = hipertrofi ventrikel kiri

Strategi untuk skrining dan deteksi kardiotositas termasuk pencitraan jantung [ekokardiografi, pencitraan nuklir, resonansi magnetik jantung (CMR)] dan biomarker (troponin, peptida natriuretik). Pilihan

modalitas tergantung pada keahlian dan ketersediaan lokal, dan beberapa prinsip inti penting harus dipertimbangkan:

- Modalitas pencitraan dan / atau uji biomarker yang sama harus digunakan untuk skrining lanjutan sepanjang masa pengobatan.
- Modalitas dan pengujian dengan kemampuan reproduksi terbaik lebih dipilih.
- Lebih dipilih modalitas pencitraan yang memberikan informasi klinis tambahan yang relevan (misalnya fungsi ventrikel kanan, tekanan paru, fungsi katup, evaluasi perikardial).
- Pencitraan bebas radiasi berkualitas tinggi lebih dipilih, jika tersedia.

Waktu dan frekuensi pencitraan dan / atau pengambilan sampel biomarker yang tepat akan bergantung pada pengobatan kanker tertentu, dosis kumulatif total dari kemoterapi kardiotoxik, protokol pengiriman dan durasi, serta risiko kardiovaskular pasien.

Elektrokardiografi (EKG) direkomendasikan pada semua pasien sebelum dan selama kemoterapi. Hal ini berguna untuk mendeteksi semua kelainan EKG akibat kardiotoxikitas seperti takikardia saat istirahat, perubahan gelombang ST-T, kelainan konduksi, pemanjangan interval QT atau aritmia. Namun, kelainan EKG ini tidak spesifik dan dapat dikaitkan faktor lain. Sebagai catatan, perubahan EKG ini dapat bersifat sementara dan tidak terkait dengan perkembangan kardiomiopati kronis (Zamorano et al., 2016).

Ekokardiografi merupakan metode yang dipilih untuk mendeteksi disfungsi miokardium baik itu sebelum, selama, dan setelah kemoterapi. Metode *biplane Simpson* direkomendasikan untuk mengestimasi volume dan fraksi ejeksi ventrikel kiri. *Cancer therapeutics-related cardiac dysfunction* (CTRCD) didefinisikan sebagai penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri sebesar 0,10 poin persentase di bawah batas bawah normal. Penurunan ini harus dikonfirmasi dengan pencitraan jantung berulang yang dilakukan 2-3 minggu setelah studi diagnostik dasar yang menunjukkan penurunan awal fraksi ejeksi ventrikel kiri. Penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri selanjutnya dapat dikategorikan sebagai gejala atau asimtomatik, atau berkaitan dengan reversibilitas. Meskipun interval pastinya tidak ditentukan, pemeriksaan ekokardiografi harus diulangi selama tindak lanjut untuk memastikan pemulihan, atau untuk mendeteksi disfungsi ventrikel kiri ireversibel. Ekokardiografi juga dapat mendeteksi komplikasi lain dari terapi kanker, termasuk penyakit katup dan perikardial serta temuan yang menunjukkan hipertensi paru. Untuk evaluasi serial pasien dengan kanker, pengukuran fraksi ejeksi LV idealnya dilakukan oleh pengamat yang sama dengan peralatan yang sama untuk mengurangi variabilitas (Plana et al., 2014).

Teknik ekokardiografi berguna lainnya adalah ekokardiografi kontras, yang diindikasikan pada pasien dengan ekokardiogram suboptimal untuk memperbaiki gambaran batas endokard ventrikel kiri. Ekokardiografi stres dapat membantu dalam evaluasi pasien dengan probabilitas pretes

menengah atau tinggi untuk PJK, tetapi tidak ada data yang tersedia berkenaan dengan nilai prognostiknya pada pasien dengan kanker untuk prediksi gagal jantung. Pencitraan miokard Doppler dan pencitraan deformasi adalah alat yang menjanjikan dan penggunaannya harus dipertimbangkan bila memungkinkan. Beberapa penelitian terbaru menunjukkan nilai pencitraan deformasi untuk deteksi dini disfungsi LV akibat terapi kanker. *Global systolic longitudinal myocardial strain* (GLS) telah dilaporkan secara akurat memprediksi penurunan LVEF selanjutnya. Penurunan persentase GLS relatif 0,15% dari nilai awal dianggap abnormal dan merupakan penanda disfungsi subklinis ventrikel kiri dini. Pengukuran ekokardiografi lanjutan ini lebih disukai, jika tersedia, untuk dijadikan dasar keputusan klinis bila dilakukan dengan keahlian yang memadai di laboratorium yang melakukan studi keamanan jantung (Zamorano et al., 2016).

Disfungsi diastolik umum terjadi pada pasien dengan kanker, baik pada awal maupun selama pengobatan; namun, tidak ada bukti yang menunjukkan bahwa pengobatan harus dihentikan berdasarkan temuan ini.

Evaluasi fungsi ventrikel kiri menggunakan *multigated radionuclide angiography* telah digunakan selama bertahun-tahun untuk mendiagnosis kardiotoxikitas yang diinduksi oleh kemoterapi dengan akurasi dan reproduktifitas yang baik dan sedikit keterbatasan teknis. Namun, hal ini dibatasi oleh paparan radiasi dan hanya memberikan informasi tambahan yang terbatas tentang struktur jantung dan hemodinamik. Karena

ekokardiografi dan angiografi radionuklida multigated memiliki nilai referensi yang berbeda, teknik yang sama harus dilakukan untuk studi baseline dan tindak lanjut (Bellenger et al., 2000; Schwartz et al., 2013).

Cardiac magnetic resonance (CMR) adalah alat yang berguna untuk evaluasi struktur dan fungsi jantung. Hal ini berguna untuk menentukan penyebab disfungsi ventrikel kiri dan untuk mengklarifikasi fungsi ventrikel kiri dan kanan pada kasus yang menantang (yaitu hasil garis batas atau kontradiktif dari modalitas pencitraan lain). Pemeriksaan ini juga berfungsi untuk mengevaluasi perikardium, terutama pada pasien dengan iradiasi dada. Pencitraan gadolinium lanjut mungkin berguna untuk mendeteksi jaringan parut atau fibrosis, yang mungkin memiliki implikasi prognostik dalam konteks gangguan fungsi LV. Selain itu, CMR adalah tes yang sangat baik untuk evaluasi komprehensif massa jantung dan kondisi infiltratif (Zamorano et al., 2016).

Penggunaan biomarker jantung selama kemoterapi dapat dipertimbangkan untuk mendeteksi cedera jantung dini. Saat ini tidak ada bukti yang jelas untuk menahan atau menghentikan kemoterapi atau terapi yang ditargetkan berdasarkan hasil biomarker jantung yang abnormal, terutama dengan penerapan tes yang semakin sensitif. Namun, hasil biomarker yang abnormal merupakan indikasi peningkatan risiko kardi toksisitas. Peningkatan baru serum troponin I terdeteksi dengan tes *high sensitivity troponin I* pada pasien yang mendapatkan antrasiklin dan / atau trastuzumab dapat memprediksi disfungsi ventrikel kiri. Pada pasien

dengan kanker payudara, sebuah penelitian kecil menunjukkan bahwa kombinasi *high sensitivity troponin* dengan GLS dapat memberikan sensitivitas terbesar (93%) dan nilai prediksi negatif (91%) untuk memprediksi kardiotoxikitas di masa depan (Zamorano et al., 2016).

Penggunaan peptida natriuretik untuk mendeteksi gagal jantung sudah banyak diketahui, dan bahkan kadar yang sangat rendah dapat mengidentifikasi pasien berisiko tinggi. Dalam konteks kemoterapi, BNP dan NT-proBNP mungkin berguna, tetapi peran mereka dalam pengawasan rutin untuk menentukan pasien berisiko tinggi belum diketahui. Penelitian selanjutnya perlu menentukan waktu optimal dari pengukuran biomarker untuk kemoterapi yang berbeda dan memastikan batas atas untuk setiap pengujian (Zamorano et al., 2016).

4. Manajemen Kardiotoxik

Pada pasien yang akan diterapi dengan antrasiklin ajuvan, pemeriksaan fungsi jantung dasar harus dilakukan. Jika didapatkan disfungsi sistolik atau penyakit jantung katup yang signifikan, pasien harus didiskusikan dengan tim onkologi dan sebisa mungkin menghindari antrasiklin sebagai agen kemoterapi yang akan digunakan. Namun apabila antrasiklin digunakan, pemeriksaan fungsi jantung berikutnya harus dikerjakan pada saat akhir kemoterapi, terutama bila pasien memiliki peningkatan risiko kardiotoxikitas atau pengobatan berurutan dengan terapi target kardiotoxik potensial. Untuk rejimen yang mengandung

antrasiklin dosis tinggi dan pada pasien dengan risiko awal yang tinggi, penilaian fungsi jantung lebih dini setelah dosis kumulatif total doxorubicin (atau setara) 240 mg/m² harus dipertimbangkan.

Pasien yang diobati dengan *anti-human epidermal growth factor receptor 2* (anti-HER2)

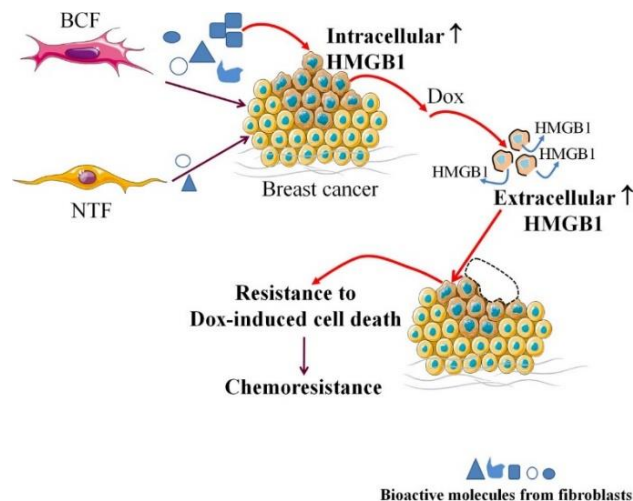
C. HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1)

Angiogenesis merupakan langkah awal yang penting dalam pertumbuhan dan proliferasi sel dengan jumlah oksigen yang cukup. Pertumbuhan sel yang cepat disertai dengan kepadatan pembuluh mikro yang berkurang, mengakibatkan hipoksia kronis yang sering mengarah ke area nekrotik sel. Daerah hipoksia dan nekrotik ini menunjukkan peningkatan ekspresi faktor pertumbuhan angiogenetik, misalnya, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan juga dapat menarik makrofag, yang akan mengeluarkan sejumlah sitokin yang bersifat angiogenetik yang kuat dan faktor pertumbuhan. Sejumlah molekul yang dapat bertindak sebagai mediator angiogenesis adalah yang *High mobility group box 1* (HMGB1). Studi terbaru menunjukkan bahwa HMGB1, yang dikenal sebagai protein pengikat kromatin arsitektural, dapat dilepaskan secara ekstraseluler dengan difusi pasif dari sel nekrotik dan makrofag yang diaktifkan. Untuk menguji efek angiogenetik HMGB1 pada sel endotel digunakan model sferoid in vitro. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian HMGB1 eksogen menginduksi migrasi sel endotel dan berproliferasi secara in vitro

dan membuktikan bahwa sel endotel dapat diinduksi oleh HMGB1 secara invitro (Schlueter et al., 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa HMGB1 dari sel makrofag secara invitro akan terekspresi 8 jam setelah stimulasi dengan endotoksin, TNF, atau IL1 dan peningkatan kadar serum HMBG1 terjadi setelah 8 sampai 32 jam setelah paparan endotoksin (Wang et al., 1999).

HMGB1 rekombinan terbukti meningkatkan resistensi DOX dan ini dikaitkan dengan bukti adanya proses autofagi.

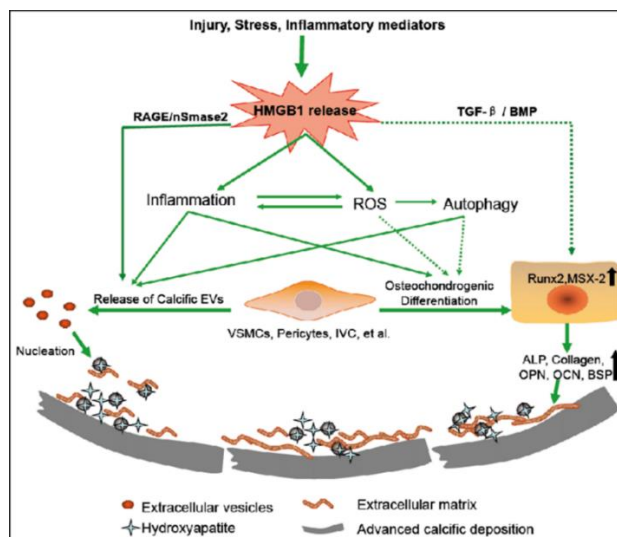


Gambar 2.9. Peran HMGB1 pada keadaan kemoresisten penderita kanker payudara (Amornsupak et al., 2014).

Potensi zat yang disekresikan *breast cancer associated fibroblasts* (BCFs) akan menginduksi ekspresi HMGB1 intraseluler dalam sel kanker payudara. Setelah terpapar doxorubicin (DOX) maka terjadi peningkatan HMGB1 ekstraseluler dan HMGB1 ini akan berfungsi dengan secara parakrin untuk menginduksi kemoresistensi sel kanker yang bertahan hidup

di dekatnya. Disamping itu, HMGB1 rekombinan terbukti meningkatkan resistensi DOX dan hal ini dikaitkan dengan bukti autofagi.

HMGB1 adalah protein inti terkait kromatin dan juga sebagai molekul ekstraseluler dari damage associated molecular patterns (DAMP) dimana dapat ditemukan pada beberapa keadaan hipoksia, termasuk pengaruh agent toksik dan tumor. Beberapa agen kemoterapi yang digunakan dalam pengobatan kanker termasuk DOX dapat menginduksi pelepasan HMGB1 ke dalam lingkungan tumor setelah kematian sel dan menunjukkan sel neutrofil dan makrofag akan diaktifkan oleh sitokin sebagai bagian dari respon imun bawaan terhadap sel kanker dan secara aktif akan mengeksresi HMGB1. Sel fibroblas stroma pada kanker payudara juga dapat memainkan peran yang sama dalam kemoresistensi melalui peningkatan regulasi HMGB1 dalam sel kanker selama kematian sel yang dimediasi oleh kemoterapi (Amornsupak et al., 2014; Syukri, dkk, 2022).



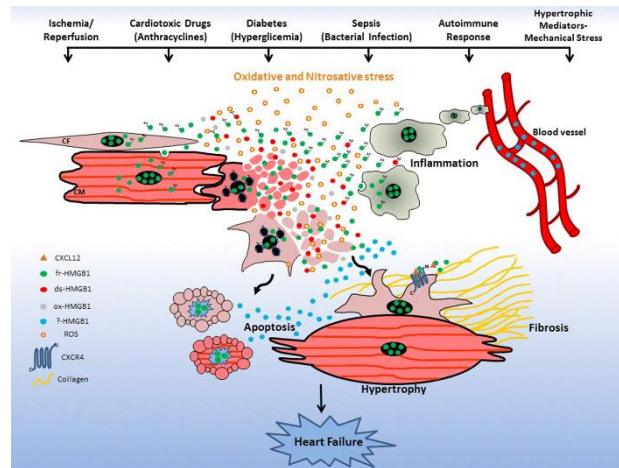
Gambar 2.10. Hubungan kalsifikasi kardiovaskuler dan HMGB1 (Q. Chen et al., 2017).

Akibat adanya kerusakan, stres dan mediator inflamasi yang dapat disebabkan oleh zat toksik pada sel maka HMGB1 akan diekspresikan baik secara intraseluler dan ekstraseluler. Ekspresi HMGB1 akan menyebabkan proses inflamasi dan berpengaruh terhadap terjadi ROS yang mana akan meningkatkan autofagi.

Dengan adanya gabungan proses diatas maka terjadi pelepasan *calcifin extracellular vesicular* (EV) dan akan bersatu dengan *extracellular matrix*, dimana akhirnya akan terbentuk deposit kalsium pada sistem kardiovaskular, termasuk kalsifikasi aterosklerotik dan kalsifikasi penyakit katup aorta, iskemik jantung. Meskipun kalsifikasi kardiovaskular telah lama dianggap sebagai kejadian degeneratif pasif, namun kalsifikasi ini sekarang dikenal sebagai proses aktif dan sangat teratur yang melibatkan diferensiasi osteokondrogenik, apoptosis, dan pelepasan vesikel ekstraseluler. Meskipun telah banyak penelitian tentang patogenesis kalsifikasi kardiovaskular, namun mekanisme yang mendasari masih belum jelas.

HMGB1 ialah protein yang terdapat pada inti sel dan terikat pada kromatin di hampir semua sel eukariotik, dimana berfungsi sebagai *damage associated molecular pattern* (DAMP) ketika dilepaskan ke ruang ekstraseluler setelah terjadi aktivasi, induksi, cedera, dan kematian sel. Selain itu, HMGB1 juga berfungsi sebagai sitokin aktif pada sel tulang yang berpartisipasi dalam pembentukan kembali tulang dan patogenesis kalsifikasi ektopik. Namun, penelitian tentang peran HMGB1 dalam

mendorong kalsifikasi kardiovaskular dan mekanisme masih belum jelas (Q. Chen et al., 2017).

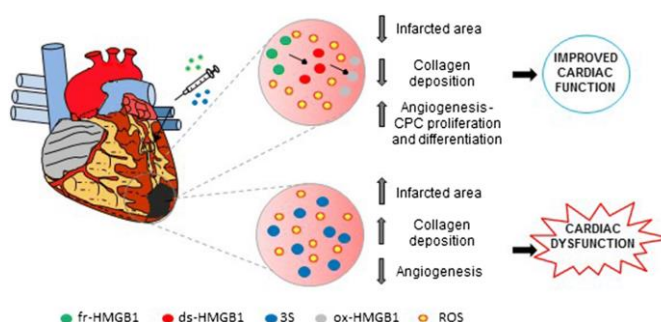


Gambar 2.11. Mekanisme terjadi Penyakit kardiovaskuler (CVD) dan HMGB1 (Raucci et al., 2019).

Pada keadaan iskemia, pengaruh obat kardiotoxik, hiperglikemia, infeksi, respons autoimun atau tekanan mekanis menyebabkan oksidatif stres dan nitrosatif stres yang kemudian menyebabkan nekrosis jaringan dengan akibat pelepasan secara pasif HMGB1 atau peningkatan sekresi HMGB1 asetat dari jantung secara aktif dan perangsangan pada sel-sel inflamasi. Fr-HMGB1 ekstraseluler mengalami oksidasi progresif namun bentuk redoks yang belum ditentukan (?) Dapat memperburuk peradangan dan menyebabkan apoptosis sel, hipertrofi kardiomiosit (CM) dan aktivasi fibroblas jantung (CF) untuk menghasilkan Kolagen. Respon sel ini menentukan perkembangan hipertrofi jantung dan / atau fibrosis dan akhirnya gagal jantung. Modulasi keadaan oksidatif HMGB1 dapat menjadi strategi untuk membatasi peradangan dan kerusakan, dan mendukung

perbaikan jaringan. Selain itu, cedera jantung menyebabkan peningkatan kadar HMGB1 dalam darah dan berbagai bentuk protein yang dimodifikasi dapat dikaitkan dengan tahapan penyakit yang berbeda, dan dapat menggambarkan sebagai penanda prognostik selektif dari tingkat kerusakan jantung dan membantu dalam stratifikasi risiko.

HMGB1 adalah protein kromatin pada inti sel dimana bila terjadi oksidatif stres dan nitrosatif stres maka terjadi pelepasan HMGB1 pada sel jantung. Sampai saat ini, peran bentuk redoks HMGB1 dalam konteks cedera jantung sebagian besar masih belum dieksplorasi, membuka jalan investigasi baru yang menjanjikan di bidang ini. Jelas, stres oksidatif dan nitrosatif setelah penghinaan mempengaruhi ekspresi, sekresi dan pelepasan HMGB1 dari sel jantung. Sangat mungkin bahwa perbedaan tingkat produksi spesies oksigen reaktif (ROS) selama kerusakan jantung mengatur kinetika interkonversi fr-HMGB1 ke ds-HMGB1 dan ox-HMGB1 (Gambar), yang sebagian dapat menjelaskan perbedaan yang diamati setelah administrasi inhibitor HMGB1 dalam berbagai model eksperimental cedera jantung (Raucci et al., 2019).



Gambar 2.12. Pengaruh DOX dan perubahan HMGB1 dalam terjadinya disfungsi jantung (Li et al., 2006).

Fr-HMGB1 dan 3S memberikan efek berlawanan pada infark jantung. Dalam model eksperimental infark miokard yang diinduksi oleh ligasi koroner permanen, injeksi fr-HMGB1 mengurangi area infark dan meningkatkan fungsi jantung karena mampu mendorong angiogenesis dan diferensiasi sel punca jantung residen (CPC) menjadi kardiomyosit. Pelepasan ROS setelah infark dapat secara progresif mengoksidasi fr-HMGB1 menjadi ds-HMGB1 dan kemudian menjadi ox-HMGB1, yang penting untuk efek regeneratif HMGB1. Sebaliknya, injeksi mutan 3S yang tidak dapat dioksidasi mengurangi angiogenesis dan menyebabkan peningkatan area infark dan deposisi kolagen, yang menyebabkan memburuknya disfungsi jantung (Raucci et al., 2019).

HMGB1 akan dilepaskan secara pasif oleh sel nekrotik, dan secara aktif oleh makrofag / monosit sebagai respons terhadap rangsangan inflamasi eksogen dan endogen. Setelah berikatan dengan *receptor for advanced glycation end products* (RAGE) atau *toll like receptor 4* (TLR4) maka HMGB1 mengaktifkan sel endotel vaskular dan makrofag /monosit untuk mengekspresikan sitokin proinflamasi, kemokin, dan molekul adhesi. Pada keadaan inflamasi pada penyakit kardiovaskuler maka HMGB1 sebagai sitokin proinflamasi yang berasal dari endotel yang cedera dan sel makrofag/monosit yang diaktifkan, dapat berperan pada kejadian aterosklerosis dan kelainan kardiovaskular lainnya (Li et al., 2006).

Pada pemberian DOX akan meningkatkan ekspresi HMGB1 dan menginduksi sekresi TNF- α melalui TLR4, dimana HMGB1 yang dilepaskan

dari sel kanker nekrotik yang diobati dengan penginduksi nekrosis meningkatkan pertumbuhan kembali dan metastasis sel kanker sisa melalui aktivasi RAGE (Luo et al., 2013; Syukri, dkk,2022).

D. HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 α (HIF-1 α)

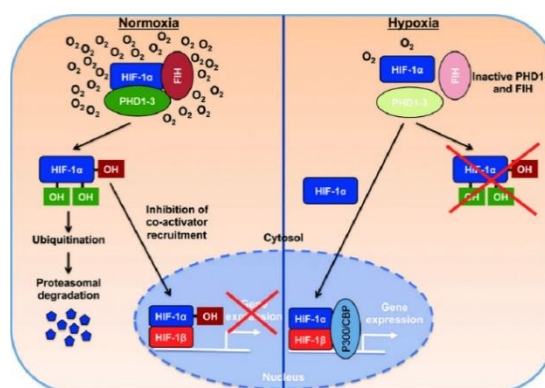
Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) adalah master regulator transkripsi yang diekspresikan gen yang mengatur homeostasis oksigen pada mamalia, antara lain gen yang terlibat dalam proses eritropoiesis, metabolisme besi, angiogenesis, pengontrolan aliran darah, penyerapan glukosa dan glikolisis, pengaturan pH, dan pengontrolan siklus sel. Subunit HIF-1 α ialah HIF-1 α alpha mengatur ekspresi lebih banyak gen selain eritropoietin, dan mekanismenya bergantung pada oksigenasi sel dimana prinsip dasar molekulernya ialah sebagai penginderaan oksigen (Wenger, 2002).

Keadaan hipoksia dikaitkan dengan beragam proses fisiologis dan patofisiologis, termasuk perkembangan sel, penyembuhan luka, peradangan, penyakit pembuluh darah, toksik dan kanker. Proses oksigenasi sel secara molekuler melalui akseptor elektron sebagai rantai transport elektron untuk pemeliharaan pengiriman oksigen dalam sel dan ini adalah proses penting dalam homeostasis bioenergetic dari sel. Sel akan beradaptasi secara efektif pada keadaan terganggunya proses hemeostatis terhadap tekanan hipoksia pada tingkat molekuler melalui faktor transkripsi yang disebut HIF-1 α .

Pada keadaan normal dimana oksigen cukup maka terjadi hidroksilase yang baik dan proses ekspresi dan aktivasi transkripsi HIF-1 α sebagai penginderaan oksigen akan menurun. Dengan demikian maka transkripsi HIF-1 α yang responsif terhadap hipoksia tergantung pada hidroksilase. Disamping itu hidroksilase berperan dalam regulasi *Nuclear Factor- κ B* (NF- κ B) yang mengatur dalam proses sistim imun dan inflamasi dan ini akan bermanfaat dalam penerapan terapi pada kelainan yang berhubungan dengan inflamasi (Scholz & Taylor, 2013).

Gen HIF-1 α terdiri dari 15 ekson dimana transkripsi gen HIF-1 α dimulai pada daerah 15-nt dan pada region 0,7 kb dari urutan 5' sebagai promotor yang berfungsi dalam struktur, fungsi dan regulasi dari gen HIF-1 α (Iyer et al., 1998).

Disregulasi dan overekspresi dari HIF-1 α pada keadaan hipoksia dari sel mempunyai hubungan yang erat dengan patofisiologi sel terutama vaskularisasi dan angiogenesis, metabolisme dan energi sel, kelangsungan hidup dan kematian sel (Gregg L. Semenza, 2003).



Gambar 2.13. Pathway HIF-1 α pada keadaan normoxia dan hipoksia (Scholz & Taylor, 2013)

Pada normoksia sensor oksigen misalnya *Prolyl Hydroxylase Domain isoform* (PHD1, PHD2, PHD3) dan *Factor inhibiting HIF-1 α* (FIH) dapat menghidroksilat HIF-1 α pada prolin 402 dan 564 dan pada asparagine 803. *Hidroksilasi prolyl* (ditunjukkan dalam warna hijau) menyebabkan poli-ubiquitination dan degradasi HIF-1, sedangkan hidroksilasi asparaginit (ditunjukkan dengan warna merah) menghalangi perekrutan ko-aktivator p300 dan protein pengikat CBP [CREB (*cAMP-response-element-binding protein*)] yang akan menghambat fungsi transaktivasi HIF-1 α .

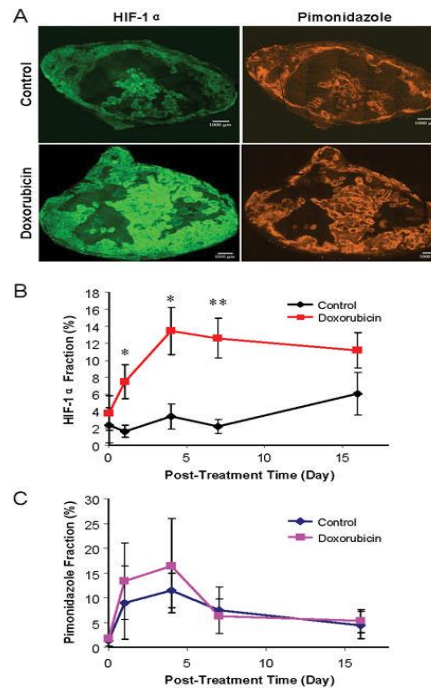
Sedangkan bila dalam keadaan hipoksia, maka hidroksilase terhambat dan mengakibatkan HIF-1 α lolos dari hidroksilasi yang disebabkan terjadinya degradasi dan inaktivasi PDH dan FIH. Hal ini menyebabkan HIF-1 α berpindah ke dalam nukleus, dan mengaktifkan ekspresi gen HIF-1 α

Pada keadaan hipoksia respon transkrip tidak hanya dipengaruhi oleh HIF-1 α namun juga mempunyai hubungan dengan proses hidroksilase sebagai sensor oksigen yang melibatkan PDH dan FIH. Pada keadaan hipoksia juga berhubungan dengan aktivitas NF- κ B yang mengatur proses transkripsi utama dari ekspresi gen pada sel sistim imun dan inflamasi bawaan baik in vitro maupun in vivo (Scholz & Taylor, 2013).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa HIF-1 α berhubungan dengan peningkatan regulasi faktor angiogenik, termasuk VEGF dan DOX yang bersifat kardiotoxik dapat meningkatkan ekspresi HIF-1 α dan VEGF. Namun dengan membuat kapsul yang mengandung *polylactic coglycolic*

acid (PLGA) dan chitosan (NanoDOX) maka dapat menekan ekspresi HIF-1 α dan VEGF pada penderita *Age-related Macular Degeneration* (AMD) (Syukri, dkk., 2022; Kelly et al., 2019).

HIF-1 α merupakan faktor transkripsi utama yang mengontrol homeostasis seluler, dimana bermanfaat dalam keadaan normal sebagai sensor oksigenasi, namun pada keadaan hipoksia maka HIF-1 α akan mengaktifkan sel yang berhubungan dengan oksigenasi. Hal ini merupakan faktor risiko utama terjadinya proses angiogenesis, resistensi terapeutik dan prognosis yang buruk pada penderita. Aktivitas HIF-1 α biasanya ditekan dalam kondisi normoksia karena degradasi HIF-1 α yang bergantung pada oksigen. Pada keadaan normoksia maka HIF-1 α diregulasi dalam sel tumor sebagai respons terhadap DOX sebagai terapi kanker. DOX juga dapat meningkatkan ekspresi VEGF oleh sel tumor normoksik dan merangsang angiogenesis tumor. Akumulasi HIF-1 α yang diinduksi DOX dalam sel normoksia disebabkan oleh peningkatan ekspresi dan aktivasi *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT1), aktivasi yang merangsang ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan sintesis *Nitrite oxide* (NO) dalam sel. Penelitian ini menunjukkan bahwa dengan menghambat sintesis NO atau aktivasi STAT1 akan menekan ekspresi HIF-1 α pada sel yang diinduksi dengan DOX. Dengan mengetahui adanya pengaruh DOX terhadap perubahan ekspresi HIF-1 α maka dapat dipakai sebagai alternatif kombinasi pengobatan DOX dan dapat mencegah kemungkinan efek kardiotoxik berupa gagal jantung (Cao et al., 2013).



Gambar 2.14. Peningkatan distribusi HIF-1 α pada pemberian DOX (Cao et al., 2013)

Pada gambar dengan menggunakan pewarnaan imunofloresen, terlihat peningkatan distribusi HIF-1 α pada 4T1ODD-luc sel tumor yang diinduksi DOX dibandingkan kontrol (hijau) dan pimonidazol (merah). Perbedaan signifikan terlihat pada hari ke 5 setelah induksi DOX.

Hypoxia Inducible factor-1 α (HIF-1 α) adalah faktor transkripsi utama yang mengontrol homeostasis seluler. Sementara aktivasinya menguntungkan jaringan normal, aktivasi HIF-1 α pada tumor merupakan faktor risiko utama angiogenesis, resistensi terapeutik dan prognosis yang buruk.

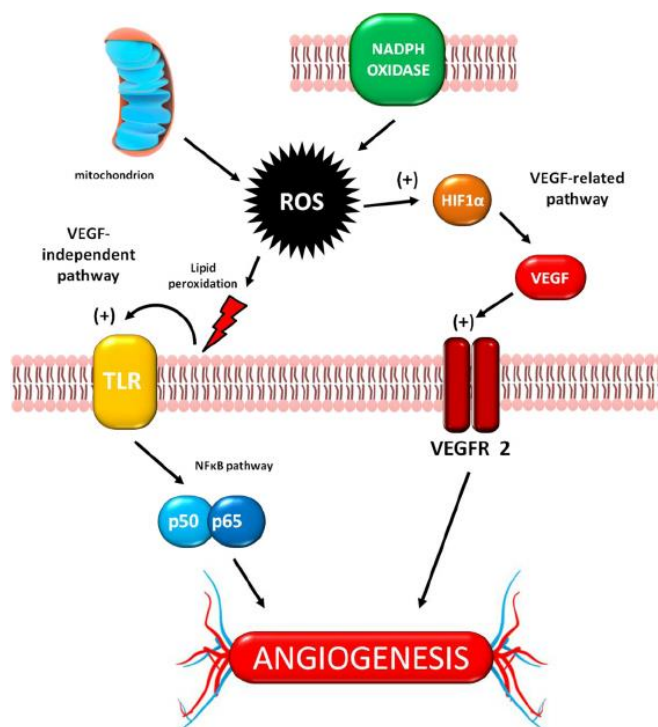
Penelitian lain menunjukkan bahwa DOX dapat menghambat aktivitas transkripsi yang diinduksi HIF-1 α dengan cara menghalangi ikatannya pada

DNA sel binatang percobaan (kelinci). DOX juga dapat menekan neovaskularisasi (NV) pada koroid dan retinal, tetapi juga mengganggu fungsi retina seperti yang ditunjukkan oleh *electroretinograms* (ERGs). Dengan menggunakan DOX yang dikonjugasikan dengan polyethylene glycol and poly(sebacic acid) maka akan mengurangi ekspresi HIF-1 α , menekan kuat NV koroidal dan retinal, dan tidak menyebabkan toksisitas retina. Pada penelitian ini menyimpulkan bahwa konjugasi DOX kemungkinan bisa diterapkan pada ocular NV dengan efek toksis yang kurang (Iwase et al., 2013).

E. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dimodulasi oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan stres oksidatif dengan jalan merangsang produksi VEGF pada beberapa jenis sel, termasuk sel endotel, sel otot polos dan makrofag. ROS meningkatkan angiogenesis dengan meningkatkan HIF-1 α , serta ekspresi dan aktivitas reseptor-2 VEGF (VEGFR2). Hubungan antara ROS dengan VEGF ini menjadi lebih kompleks pada saat VEGF mendorong migrasi dan proliferasi sel dengan meningkatkan level ROS intraseluler. Selain itu, stres oksidatif juga menginduksi angiogenesis dalam cara VEGF-independen dengan oksidasi fosfolipid, menghasilkan metabolit yang bertindak baik sebagai ligan atau dengan menginduksi modifikasi pasca-translasi (misalnya *carboxyalkylpyrrole*: CAP) protein dalam proses angiogenesis

Selain itu melalui jalur VEGF independent maka proses terjadinya angiogenesis akan melibatkan *Toll like receptor* (TLR) dan aktivasi NFκB. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa survivin sebagai *Inhibitor of apoptosis family of proteins* (IAP) dapat mengontrol pembelahan sel, apoptosis, metastasis dan angiogenesis yang berlebihan pada kelainan diakibatkan hipoksia sel (Sanhueza et al., 2015).

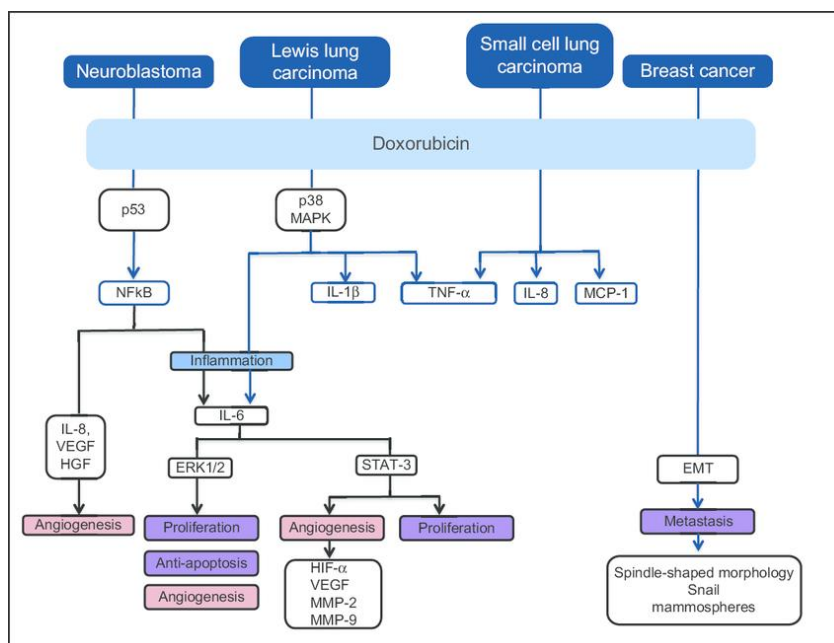


Gambar 2.15. Peran VEGF pada oxidative stress (Sanhueza et al., 2015)

Sumber utama stres oksidatif dapat berasal dari mitokondria dan NADPH oksidase dimana akan menghasilkan ROS dan memicu terjadinya angiogenesis melalui jalur HIF-1α dan VEGF. Selain itu jalur angiogenesis dapat juga terjadi melalui VEGF independent yaitu TLR dan NFκB

Prolin hydroxylase (PHD) sebagai sensor oksigen utama yang memediasi respon seluler pada keadaan hipoksia, dimana mitokondria akan merespon terhadap tekanan oksigen rendah, menghasilkan ROS, yang kemudian mengaktifkan jalur intraseluler untuk mengontrol ekspresi beberapa gen yang mengatur kelangsungan hidup sel.

Proses sensor terhadap hipoksia pada mitokondria akan melibatkan ROS untuk meningkatkan ekspresi HIF-1 α . Selain itu, ROS mitokondria diperlukan untuk pengikatan DNA HIF-1 α dan induksi ekspresi Erythropoietin (EPO), VEGF, serta enzim glikolitik yang dimediasi oleh HIF-1 α . Dengan demikian, ROS mitokondria memainkan peran penting dalam stabilisasi dan ekspresi gen HIF-1 α dan VEGF pada keadaan hipoksia (Sanhueza et al., 2015).



Gambar 2.16. Pengaruh DOX terhadap HIF-1 α dan VEGF (Vyas et al., 2014)

(singkatan: eMT, epithelial–mesenchymal transition; eRK, mitogen-activated protein kinase; HGF, hepatocyte growth factor; HIF-1 α , hypoxia-inducible factor; IL, interleukin; MAPK, mitogen activated protein kinase; MMP, matrix metalloproteinase; NF κ B, nuclear factor kappa B; STAT-3, signal transducer and activator of transcription; TNF- α , tumor necrosis factor alpha; VEGF, vascular endothelial growth factor)

Inflamasi yang terjadi akibat DOX akan meningkatkan ekspresi NF κ B, IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α dan monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Pada sel neuroblastoma diperlukan p53 untuk DOX dapat mengaktifkan NF κ B. Pada karsinoma paru Lewis akan meningkatkan regulasi IL-1 β dan IL-6 melalui jalur p38 / mitogen activated protein kinase (MAPK). DOX dapat menginduksi oksorubisin menginduksi akuisisi epithelial-mesenchymal transition (eMT) pada sel kanker payudara (Vyas et al., 2014).

Baik VEGF dan HIF-1 α berperan penting dalam proses angiogenesis, dimana obat perusak DNA cisplatin dan doxorubicin serta mikrotubulus inhibitor docetaxel dan paclitaxel dapat mempengaruhi ekspresi VEGF dan aktivitas HIF-1 α pada sel manusia

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa DOX dapat menekan induksi hipoksia, ekspresi VEGF dengan menghambat HIF-1 α melalui mekanisme yang berbeda dan temuan ini mungkin bermanfaat dalam mempelajari patogenesis molekuler hipoksia pada pemberian DOX. (Syukri, dkk, 2022; Duyndam et al., 2007).

DOX dapat menyebabkan kardiotosik, kardiomiopati, dan gagal jantung kongestif melalui mekanisme inflamasi, misalnya dengan peningkatan prostaglandin E2 dan IL-1 β . Demikian pula beberapa

penelitian sebelumnya menunjukkan terjadinya peningkatan IL-8, NFkB, TNF- α , *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) pada binatang percobaan tikus yang diinduksi dengan DOX

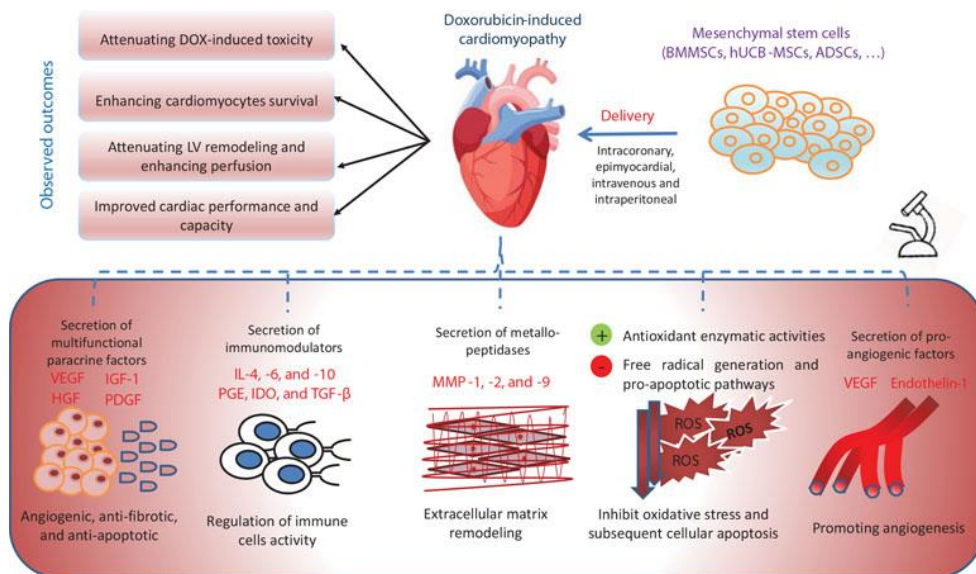
Aktivasi yang dimediasi doksorubisin dari NFkB dan sitokin inflamasi telah ditunjukkan dengan efek DOX pada jaringan adiposa, sehingga meningkatkan kolesterol total serum, trigliserida, dan kadar lipoprotein densitas rendah. Hal ini dapat dijelaskan dengan terjadinya downregulasi dari peroxisome proliferasi aktivasi reseptor gamma yang diinduksi dengan DOX pada jaringan adiposa. Hal ini disebabkan adanya penurunan dalam sirkulasi pembersihan asam lemak bebas, peningkatan sel makrofag, dan aktivasi NFkB dan sitokin inflamasi (Vyas et al., 2014).

Kadar serum VEGF terlihat meningkat tajam pada penyakit metabolik misalnya sindrom POEMS (polyneuropathy (P), organomegaly (O), endocrinopathy (E), M-protein (M), and skin changes (S). (Nobile-Orazio et al., 2009)

Pada neuroblastoma dengan ekspresi VEGF yang tinggi dan pada penelitian ini menunjukkan bahwa SiO₂ @ LDH-Bev dapat meningkatkan kemampuan penargetan VEGF, anti-neuroblastoma dan efisiensi anti-angiogenesis DOX. Pada saat yang bersamaan, SiO₂ @ LDH-Bev-DOX dapat menghilangkan toksisitas jantung dan kerusakan hati yang disebabkan oleh DOX. Dengan demikian pemberian gabungan Bevacizumab (Bev) dan DOX akan lebih aman dan efisien pada Neuroblastoma dan masih diperlukan mempelajari mekanisme fungsi

pembawa nanoDOX dalam terapi kanker baik in vitro maupun in vivo (Zhu et al., 2017).

Toksisitas pada kardiovaskular akibat pemberian DOX yang telah menjadi resiko dalam pengobatan kanker, dapat dihubungkan dengan agen anti-VEGF dimana penekanan ekspresi VEGF, melalui perubahan pada inhibisi NO dan stimulasi Endothelin (ET1), menentukan disfungsi endotel dan vasokonstriksi, yang merupakan faktor utama terjadinya hipertensi. Mekanisme dan efek samping lainnya dari pemberian anti-VEGF ini belum diketahui secara jelas. Penelitian yang mendasari toksisitas pada kardiovaskular dapat membantu menentukan mekanisme yang tumpang tindih antara penyakit kardiovaskular dan toksisitas obat yang ada atau yang akan datang. Untuk meningkatkan manajemennya, pengembangan pedoman pencegahan, pemantauan dan pengobatan DOX yang toksik pada kardiovaskular, maka kemungkinan pemberian anti VEGF/VEGFR mungkin dapat melindungi pasien yang cenderung mengalami toksisitas kardiovaskular (Jiang et al., 2020).



Gambar 2.17. Pengaruh DOX dan stem cell terhadap peningkatan VEGF (Abushouk et al., 2019)

Dengan pemberian stem sel akan menghindari terjadi kardiotoxik pada sel yang diinduksi dengan Mekanisme terjadinya kardiomiopati akibat induksi DOX melibatkan stres oksidatif, proses inflamasi dan apoptosis. Mekanisme lain ialah bahwa DOX mengganggu siklus sel dan menginduksi stres oksidatif dalam sel C-kit + (umumnya dikenal sebagai sel progenitor jantung), sehingga mengurangi kapasitas regeneratifnya. Regenerasi jantung melalui peningkatan kapasitas regeneratif sel-sel dapat diatasi dengan pemberian stem cell.

Beberapa percobaan mengungkapkan bahwa pemberian mesenchymal stem cells (MSCs) secara local dan sistemik dapat dikaitkan dengan peningkatan fungsi jantung secara signifikan, perbaikan respon

inflamasi, dan penurunan fibrosis miokard. Faktor yang dapat mempengaruhi pemberian MSC pada kardiomiopati yang disebabkan induksi DOX ialah jenis MSC, dosis, rute, dan waktu pemberian. Namun, ada bukti yang berkembang bahwa sel C-kit + tidak memiliki potensi regeneratif jantung di jantung mamalia dewasa. Demikian pula, mekanisme perlindungan MSCs terhadap kardiomiopati yang disebabkan induksi DOX tidak mungkin termasuk diferensiasi langsung menjadi kardiomyosit dan mungkin terjadi melalui sekresi parakrin, antioksidan dan efek anti-inflamasi.

Pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme yang terlibat dan faktor yang mengatur hasil terapi MSC sangat penting sebelum beralih ke aplikasi klinis pada pasien dengan kardiomiopati yang disebabkan DOX (Abushouk et al., 2019).