

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 19	No. 3	Hal. 141–219	Surabaya Juli 2013	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	--------------	-----------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Caspase-3 Aktif di Leukemia Mielositik Akut (LMA) dan Leukemia Limfoblastik Akut (LLA) (<i>Active Caspase-3 in Acute Myeloid Leukaemia (AML) and Acute Lymphoblastic Leukaemia (ALL)</i>) Agus Setiawan, Indarini, Lyana Setiawan, Siti Boedina Kresno, Nugroho Prayogo, Arini Setiawati	141-145
Modifikasi Prinsip Pemeriksaan β -D-glucan untuk Mendeteksi <i>Candida albicans</i> dalam Serum (<i>Principle Modification of β-Glucan Detection from Candida albicans in Serum</i>) Ruben Dharmawan, Darukutni, Sri Haryati, Murkati, Yulia Sari, Afiono Agung Prasetyo	146-149
Apoptosis Index between Females and Males in Regular Hemodialysis (<i>Indeks Apoptosis antara Perempuan dan Laki-Laki pada Hemodialisis Reguler</i>) Djoko Santoso	150-155
Kekurangan Zat Besi di Perempuan Hamil Menggunakan Hemoglobin Retikulosit (RET-HE) (<i>Iron deficiency in pregnant women by haemoglobin reticulocyte (RET-He)</i>) Petrian Primiasanti, Ninik Sukartini	156-160
Kadar CTX Perempuan Osteoporosis Lebih Tinggi daripada Perempuan Normal dan Osteopenia (<i>Higher Level of CTX in Osteoporotic Women Compared to Normal and Osteopenic Women</i>) Ira Puspitawati, Windarwati, Usi Sukorini, Erlina, Pratiwi Herowati, Arlan Prabowo, Riswan Hadi Kusuma	161-166
Cystatin C, HbA1c, dan Rasio Albumin Kreatinin (<i>Cystatin C, HbA1c and Albumin Creatinine Ratio</i>) Juliani Dewi	167-173
Lactate Dehydrogenase (LDH) Selama Penyimpanan (<i>Lactate Dehydrogenase (LDH) During Storage</i>) Teguh Triyono, Umi Solekhah Intansari, Caesar Haryo Bimoseno	174-177
Limfosit T CD4 ⁺ sebagai Peramal Perjalanan Penyakit Pasien yang Mengalami Sepsis (<i>CD4⁺ T Lymphocyte as a Prognosis Predictor in Sepsis Patients</i>) Lestari Ekowati, Aryati, Hardiono	178-184
Angiotensin II di Perbenihan Adiposit yang Dipajan Glukosa Tinggi (<i>Angiotensin II on Adipocytes Culture Exposed With High Glucose</i>) Novi Khila Firani	185-189
Pengukuran Jumlah Limfosit CD4 Metode <i>Panleucogating</i> pada Pasien Terinfeksi <i>Human Immunodeficiency Virus</i> (HIV) (<i>the Panleucogating Method For Lymphocyte CD4 Counting in HIV Patients</i>) Umi S. Intansari, Budi Mulyono, Usi Sukorini	190-196
Komplemen Serum C3c dan Limfosit T-CD4 ⁺ Darah (<i>C3c Serum Complement and Blood T-CD4⁺ Lymphocyte</i>) I. Komang Parwata, Endang Retnowati, Betty Agustina Tambunan	197-203

TELAAH PUSTAKA

Hemostasis Berlandaskan Sel Hidup (<i>In Vivo</i>) (<i>Cell Based Hemostatis – In Vivo</i>) Liong Boy Kurniawan, Mansyur Arif	204–210
--	---------

LAPORAN KASUS

Neonatal Acute Myeloid Leukaemia (<i>Leukemia Mielosistik Akut pada Neonatus</i>) Luh Putu Rihayani Budi, Ketut Ariawati, Sianny Herawati	211–217
--	---------

INFOMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	218–219
---	---------

Ucapan terima kasih kepada penyunting Vol. 19 No. 3 Juli 2013

Krisnowati, Maimun Z. Arthamin, Rahayuningsih Dharma, Purwanto AP, Ida Parwati, AAG Sudewa,
Endang Retnowati, Jusak Nugraha, Noormartany, M. Yolanda Probohoesodo

Dewan Redaksi Majalah IJCP

ANGIOTENSIN II DI PERBENIHAN ADIPOSIT YANG DIPAJAN GLUKOSA TINGGI

(Angiotensin II on Adipocytes Culture Exposed With High Glucose)

Novi Khila Firani

ABSTRACT

Abdominal obesity is closely linked to the occurrence of metabolic syndrome. In pathomechanism of metabolic syndrome, adiposity plays an important role as an active metabolic endocrine organ. This is accomplished the secretion of various hormones, enzymes, cytokines, and components that play a role in the rennin angiotensin system (RAS). One of the mechanisms linking the occurrence of hypertension in obesity is through the increased activity of RAS. Angiotensin II is the major effector of hypertension. The effect of high glucose exposure in adipocytes culture to angiotensin II secretion up to now is yet unknown. Adipocytes culture from rat visceral adipose tissue were exposed to 5 mM glucose concentration (as a physiological condition), 11 mM and 25 mM glucose concentration as the high glucose condition. Measurement of the angiotensin II level which is secreted in the culture medium was done by ELISA method. The mean (SD) levels of angiotensin II were 56.4 (4.28), 66.05 (2.24), and 69.22 (3.49) ng/mL respectively, for adipocytes cultures exposed to 5 mM, 11 mM and 25 mM glucose concentration. High glucose exposure could increase the secretion of angiotensin II significantly in adipocytes culture. This suggests that the condition of hyperglycemia affects adipocytes dysfunction that play a role in the metabolic syndrome pathomechanism.

Key words: Angiotensin II, adipocytes culture, high glucose exposure

ABSTRAK

Obesitas abdominal berhubungan erat dengan terjadinya gejala metabolik. Pada patomekanisme gejala metabolik, penimbunan lemak (adiposit) berperan penting sebagai organ metabolik endokrin yang aktif. Pelaksanaannya melalui sekresi berbagai: hormon, enzim, sitokin, dan komponen yang berperan dalam sistem renin angiotensin (RAS). Salah satu mekanisme yang menghubungkan terjadinya tekanan darah tinggi pada kegemukan adalah melalui peningkatan aktifitas RAS. Angiotensin II merupakan efektor utama untuk terjadinya tekanan darah tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pajanan glukosa yang tinggi terhadap sekresi angiotensin II di perbenihan adiposit dalam rongga perut (viseral). Perbenihan adiposit dari jaringan lemak (adiposa) viseral tikus dipajan glukosa dengan kepekatan 5 mM (sebagai kondisi fisiologis), 11 mM dan 25 mM sebagai kondisi glukosa yang tinggi. Pengukuran kadar angiotensin II yang disekresikan di medium perbenihan dilakukan dengan metode ELISA. Rerata (SD) kadar angiotensin II adalah 56,4 (4,28), 66,05 (2,24), dan 69,22 (3,49) ng/mL secara berturutan di perbenihan adiposit yang dipajan glukosa 5 mM, 11 mM dan 25 mM. Pajanan glukosa yang tinggi dapat meningkatkan sekresi angiotensin II secara bermakna di perbenihan adiposit. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi kelebihan gula darah (hiperglikemia) berpengaruh terhadap tidak berfungsinya adiposit, yang berperan dalam patomekanisme gejala metabolik.

Kata kunci: Angiotensin II, perbenihan adiposit, pajanan glukosa tinggi

PENDAHULUAN

Kegemukan merupakan salah satu masalah kesehatan yang saat ini menjadi epidemi di seluruh dunia.¹ Kondisi kegemukan, terutama obesitas abdominal, berperan penting dalam timbulnya gejala metabolik, yang meliputi tekanan darah tinggi, resistensi insulin, dan gangguan lemak darah (dislipidemia).² Dalam patomekanisme gejala metabolik, adiposit berperan sangat penting. Adiposit bukanlah merupakan sel yang statis, yang hanya berfungsi sebagai tempat menyimpan cadangan enersi, melainkan juga sebagai organ metabolik endokrin

yang aktif, melalui sekresi berbagai hormon, enzim, sitokin, dan molekul yang terlibat dalam metabolisme dalam tubuh.³⁻⁵

Dalam keadaan adiposit yang patologis, dapat terjadi abnormalitas fungsi yang berdampak dalam kelainan metabolisme dalam tubuh, yang disebut adiposopati. Terjadinya adiposopati dapat diawali dengan/atau diperburuk oleh penumpukan lemak dalam tubuh pasien yang rentan. Abnormalitas fungsi adiposit dapat menimbulkan beberapa penyakit metabolik seperti: diabetes melitus jenis 2, tekanan darah tinggi dan dislipidemia, yang memicu timbulnya gejala metabolik.^{4,6}

Di kegemukan, sebaran jaringan lemak berperan dalam bahaya timbulnya penyakit tertentu. Berdasarkan sebaran lemak dalam tubuh, ada dua jenis penimbunan lemak, yaitu timbunan lemak di bagian bawah tubuh yang disebut bentuk ginoid. Dan yang di bagian perut disebut android atau lebih dikenal sebagai obesitas abdominal atau pusat. Obesitas abdominal diketahui berperan penting terkait timbulnya gejala metabolik. Beberapa hasil telitian membuktikan ada hubungan antara obesitas abdominal dan terjadinya beberapa penyakit kardiovaskuler, seperti penyakit jantung koroner dan tekanan darah tinggi, serta diabetes melitus jenis 2.^{2,7} Mekanisme yang memperjelaskan hubungan obesitas abdominal dengan kejadian gejala metabolik masih belum jelas. Ada dugaan bahwa adiposit intra abdominal lebih aktif dalam mensekresi berbagai molekul yang berperan dalam metabolisme dibandingkan dengan adiposit di bagian lain dalam tubuh.⁸

Salah satu mekanisme yang menghubungkan terjadinya tekanan darah tinggi di kegemukan adalah melalui peningkatan aktivasi sistem renin angiotensin (RAS). Hal ini diperkuat temuan adiposit ini juga dapat menghasilkan angiotensinogen serta beberapa komponen lainnya yang berperan dalam RAS.⁵ Angiotensin II merupakan efektor utama yang memperantarai tekanan darah tinggi terjadi.⁹ Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa salah satu faktor yang berperan dalam mengatur ekspresi angiotensinogen di adiposit adalah hiperglikemia. Hal ini berdasarkan hasil telitian secara *in vivo* di tikus yang diberi pajanan glukosa tinggi yang menunjukkan ada peningkatan ekspresi gen angiotensinogen di jaringan adiposa.¹⁰ Kondisi hiperglikemia diketahui dapat menimbulkan pengaruh patologis sel. Hasil telitian di perbenihan adiposit diketahui, bahwa pajanan glukosa tinggi menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) terjadi. Di samping itu terjadi pula peningkatan sekresi sitokin proinflamasi.¹¹

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah pajanan glukosa tinggi berperan dalam peningkatan sekresi angiotensin II di perbenihan sel adiposit, yang berpengaruh dalam patomekanisme gejala metabolik.

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan di laboratorium, menggunakan rancangan penelitian *post-test only design with control* di perbenihan adiposit yang diisolasi dari jaringan adiposa visceral tikus.

Isolasi dan Perbenihan Adiposit

Untuk pembuatan perbenihan adiposit diperoleh dari hasil isolasi preadiposit jaringan adiposa visceral tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar jantan yang berusia 2–3 minggu. Jaringan serat (fibrosa) dan pembuluh darah terlebih dahulu dibuang, kemudian jaringan adiposa dicuci dengan 10 mL larutan *phosphate buffer saline* (PBS), selanjutnya dicacah. Suspensi jaringan tersebut diinkubasi dengan 0,2% *Collagenase* jenis I selama 45 menit, suhu 37°C dengan pengocokan. Inkubasi dihentikan dengan menambahkan media perbenihan *Dulbecco's modified eagle medium* (DMEM) yang ditambahkan dengan 15 mmol/L 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid buffer solution (HEPES), 14 mmol/L NaHCO₃, 33 µmol/L biotin, 17 µmol/L *D-pantothenate* dan 10% *fetal bovine serum* (FBS). Suspensi sel diputar 1500 rpm selama 7 menit, sehingga didapatkan pelet yang mengandung *fibroblast-like preadipocyte*. Selanjutnya sel diresuspensi dengan media perbenihan, kemudian diputar 1500 rpm selama 7 menit. Pelet diresuspensi lagi dengan perantara yang sama. Suspensi sel ditumbuhkan di *culture plate* dengan inkubasi pada suhu 37 °C, 5% CO₂ selama 24 jam. Sel dicuci setiap 3 hari sekali. Setelah mencapai *monolayer*, preadiposit ditumbuhkan dalam media adipogenik, yaitu DMEM/F12 dengan ditambahkan 100 U/mL penisilin dan 100 U/mL streptomisin, 66 nM insulin, 100 nM deksametason, 0,5 mM *isobutylmethylxanthine* (IBMX) serta 10 µg/mL transferin, untuk merangsang pembedaan preadiposit menjadi adiposit yang dewasa.¹²

Pajanan Glukosa

Di medium perbenihan adiposit dipajankan glukosa dengan 3 kepekatan yang berbeda, yakni: 5 mM sebagai kondisi normal (fisiologis) bertugas untuk pengendali normal, berkepekatan glukosa 11 mM dan sebanyak 25 mM sebagai kondisi glukosa tinggi. Sel diinkubasi selama 24 jam kemudian variabel penelitian diukur.¹¹

Pemeriksaan Morfologi Adiposit dengan Pengecatan Oil Red O

Untuk mengamati morfologi adiposit, maka dilakukan pengecatan dengan metode *Oil Red O*. Di setiap sel diperlakukan difiksasi menggunakan formalin 10%. Sel kemudian dicuci dengan akuades lalu dieringkan. Kemudian sel ditetesi *propylene glycol* dua (2) kali, masing-masing selama 5 menit, lalu ditetesi pewarna *Oil Red O* selama 7 menit. Sel kemudian dicuci dengan akuades dan ditetesi *hematoxylin* selama 1 menit. Sesudah itu sel dicuci lagi dengan akuades dan ditunggu sampai mengering, setelah itu diamati dengan mikroskop cahaya Olympus pada perbesaran 400×.¹³

Pengukuran Kadar Angiotensin II dengan Metode ELISA

Sejumlah 50 μ L sampel dan larutan baku dimasukkan ke dalam sumuran, diinkubasi selama 2 jam kemudian dicuci dengan larutan *wash buffer* 200 μ L sebanyak 5 kali. Larutan *Biotinylated Angiotensin II Antibody* ditambahkan sebanyak 50 μ L dan selanjutnya diinkubasi selama 2 jam. Pencucian dilakukan lagi dengan larutan *wash buffer* 200 μ L, selanjutnya ditambahkan *streptavidin-peroxidase conjugate* sebanyak 50 μ L dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian dicuci. Larutan *chromogen substrate* ditambahkan sebanyak 50 μ L dan diinkubasi selama 20 menit, kemudian diberi larutan *stop solution* 50 μ L. Serapan masuk warna yang terbentuk dibaca menggunakan *microplate reader* di panjang gelombang 450 nm.¹⁴

Analisis Statistik

Data dianalisis sebagai data kelompok dan disajikan dalam bentuk rerata dan simpangan baku [rerata (SD)]. Data diuji dengan uji analisis ragam untuk membandingkan perbedaan rerata di tiap kelompok serta dilakukan uji regresi- kenasaban untuk mengetahui apakah pengaruh pajanan glukosa terhadap angiotensin II, dengan nilai $p<0,05$ dapat dianggap bermakna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Perbenihan Adiposit

Pemeriksaan morfologi perbenihan adiposit menggunakan pengecatan *Oil red O* untuk menemukan adanya tetesan lemak (*lipid droplet*), karena secara fisiologis sel lemak berperan sebagai tempat menyimpan cadangan enersi berupa triasilgliserol yang tampak sebagai tetesan lemak yang berwarna merah.

Sebagai *counterstain* digunakan *hematoxylin* untuk mewarnai bagian sel lainnya yang tampak berwarna biru (Gambar 1).

Kadar Angiotensin II pada Kultur Adiposit

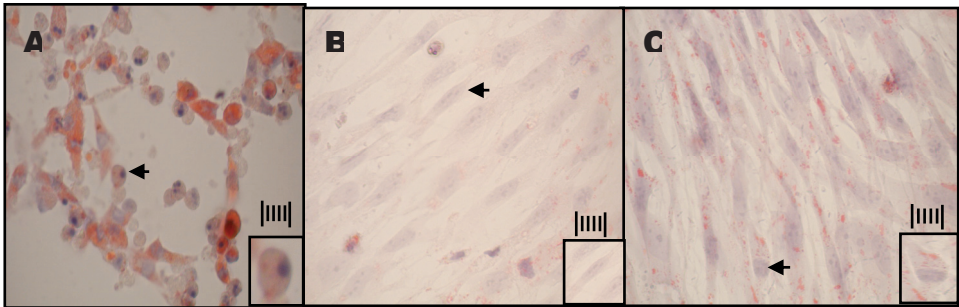
Hasil ukuran rerata kadar angiotensin II yang disekresikan di perbenihan adiposit yang dipajan glukosa 5 mM, 11 mM dan 25 mM dengan *ELISA* disajikan di Tabel 1.

Didasari hasil telitian didapatkan perbedaan yang bermakna antara rerata kadar angiotensin II berkadar glukosa 25 mM dan 11 mM yang disekresikan oleh perbenihan adiposit yang dipajan glukosa tinggi, dan kadar angiotensin II yang disekresikan oleh perbenihan adiposit yang berkadar glukosa normal (5 mM). Hasil uji regresi kenasaban menunjukkan pengaruh pajanan glukosa yang bermakna terhadap kadar angiotensin II ($r= 0,89$; $p=0,001$).

Kondisi hiperglikemia berperan penting dalam mempengaruhi pengembangan patologi adiposit. Glukosa dapat masuk ke dalam adiposit melalui pembauran yang memudahkan dan diperantarai oleh *glucose transporter* (GLUT). Ada beberapa isoform GLUT yang diketahui tersebar di beberapa jaringan, yakni GLUT1 sampai dengan GLUT6. Di adiposit, pengangkutan glukosa melibatkan GLUT1 dan GLUT4. GLUT1. Pengangkut tersebut merupakan pembawa glukosa (*glucose transporter*) yang dominan di jaringan yang tidak bergantung insulin, seperti otak dan

Tabel 1. Rerata (SD) kadar angiotensin II di perbenihan sel adiposit

Kelompok pajanan glukosa perbenihan sel adiposit	Rerata (SD) kadar angiotensin II (ng/mL)
Glukosa 5 mM (pengendali normal)	56,4 (4,28)
Glukosa 11 mM	66,05 (2,24)
Glukosa 25 mM	69,22 (3,49)



Gambar 1. Morfologi perbenihan adiposit dengan pengecatan *oil red O* yang diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 $\times$

- Keterangan:
- A. Perbenihan adiposit yang dipajan glukosa 5 mM
 - B. Perbenihan adiposit yang dipajan glukosa 11 mM
 - C. Perbenihan adiposit yang dipajan glukosa 25 mM

eritrosit. Namun, pengangkut tersebut didapatkan juga di sel otot kerangka (skeletal) dan adiposit, sedangkan GLUT4 merupakan pembawa glukosa yang bergantung pada insulin yang dominan di sel otot skeletal dan adiposit.¹⁵

Hasil amatan morfologi adiposit menggunakan pengecatan *Oil Red O* (lihat Gambar 1), di situ terlihat bahwa pada perbenihan sel adiposit dengan pajanan glukosa 5 mM dalam kondisi fisiologis memiliki ciri morfologi sel adiposit yang normal (lihat Gambar 1A). Gambaran ini sesuai dengan ciri sel adiposit dewasa menurut Junqueira,¹⁶ yang menyatakan bahwa sel adiposit dewasa dari jaringan lemak memiliki bentuk sel bulat dengan tetesan lemak yang sangat besar, sehingga menempatkan nukleus dan sitoplasma di bagian perifer sel.

Di perbenihan sel adiposit yang dipajan glukosa 11 mM dan 25 mM tampak terjadi kematian jaringan (nekrosis) (lihat Gambar 1B dan Gambar 1C). Di kedua perbenihan adiposit yang dipajan glukosa 11 mM dan 25 mM juga tampak sedikit tetesan lemak. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat gangguan fungsi adiposit sebagai tempat penyimpanan triasilgliserol. Menurut Robbins,¹⁷ perubahan morfologis dasar apoptosis dan nekrosis disebabkan terjadi denaturasi protein dan pencernaan enzimatis organel dan sitosol. Patomekanisme kematian sel yang terjadi disebabkan oleh jejas di sel. Hal tersebut salah satunya akibat senyawa oksigen reaktif (ROS) di dalam sel yang berasal dari reaksi oksidatif metabolik yang berlebihan. ROS yang dihasilkan pajanan glukosa tinggi dan dapat mengaktifkan *apoptosis signal-regulating kinase* (ASK1) yang merupakan pengindera stres oksidatif.

Penyebab utama terjadinya stres oksidatif sel dalam kondisi hiperglikemia selain akibat meningkatnya pembentukan ROS mitokondria, juga disebabkan oleh aktifitas enzim NADPH oksidase yang berperan dalam pembentukan superoksida radikal.¹⁸ Mitokondria merupakan organel sel yang berperan dalam reaksi fosforilasi oksidatif dalam kaitannya dengan oksidasi glukosa menjadi ATP, yaitu sumber energi bagi sel. Adanya peningkatan *mitochondrial ROS* dalam kondisi hiperglikemia disebabkan oksidasi glukosa meningkat di siklus asam sitrat, yang menyebabkan peningkatan sumbangan elektron yang mendorong rantai angkutan elektron di mitokondria. Akibatnya peningkatan voltase di membran mitokondria terjadi, hingga mencapai titik nilai ambang yang gawat (*critical threshold*). Di titik ini pengalihan elektron di dalam kompleks III menjadi terhambat, menyebabkan elektron kembali ke koenzim Q, dan menyumbangkan elektron ke molekul oksigen, sehingga menghasilkan radikal superoksida.¹⁹

Pada pajanan glukosa tinggi, selain menimbulkan kelainan struktur sel adiposit, juga dapat menyebabkan kelainan fungsi sel, akibat terjadi ketidakseimbangan

jalur biokimia intraseluler. Pengaruh pajanan glukosa tinggi dilaporkan dapat mengaktifkan beberapa jalur reaksi biokimia, yaitu: jalur *polyol*, heksosamin, protein kinase C (PKC) dan *Advance glycosylation end products* (AGE), yang berakibat *stress-sensitive signaling pathway* teraktifkan.^{18,19} Gangguan fungsi sel pada perbenihan adiposit yang terjadi akibat terpajan glukosa 11 mM dan 25 mM, yang salah satunya ditandai dengan kemampuan menyimpan cadangan energi dalam bentuk triasil gliserol menurun, keadaan ini terlihat dengan berkurangnya tetesan lemak. Gangguan fungsi adiposit juga tampak pada pengaturan sekresi protein, dalam hal ini yang diamati adalah sekresi angiotensin II.

Dalam hasil penelitian ini terjadi peningkatan sekresi angiotensin II yang bermakna pada pajanan glukosa 11 mM dan 25 mM dibandingkan dengan adiposit yang dipajan glukosa 5 mM. Hasil uji regresi-kenasaban menunjukkan bahwa glukosa berpengaruh secara bermakna terhadap peningkatan kadar angiotensin II. Mekanisme peningkatan kadar angiotensin II di adiposit pada pajanan glukosa tinggi diduga melalui beberapa jalur biokimia yang diaktifkan akibat peningkatan ROS, yang menyebabkan penurunan aktivitas enzim *glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase* (GAPDH) yang mengkatalisis reaksi pembentukan 1,3 difosfoglisarat dari gliseraldehid-3-fosfat. Ada empat jalur reaksi biokimia yang diaktifkan dalam kondisi hiperglikemia, yaitu jalur *polyol*, jalur heksosamin, jalur PKC dan jalur AGE.¹⁹ Aktivasi jalur *polyol* menyebabkan peningkatan hasil sorbitol yang bersifat toksik, yang selanjutnya dapat mengaktifkan enzim *p38 mitogen-activated protein kinase* (MAPK).^{18,20} Jalur penting lain yang diaktifkan dalam kondisi hiperglikemia yaitu aktivasi enzim PKC. PKC adalah enzim yang memfosforkan substrat protein dalam sisa serin atau treonin. Aktivasi PKC dapat menimbulkan berbagai pengaruh pada ekspresi beberapa gen intrasel.²¹

Pajanan glukosa tinggi berpengaruh secara bermakna terhadap perubahan fungsi benihan adiposit sebagai salah satu sel yang dapat mensekresikan angiotensin II.^{9,22} Di adiposit, angiotensin II berperan yang sangat penting, yakni meningkatkan pertumbuhan dan pendewasaan adiposit.^{22,23} Namun, dari penelitian lain ditemukan bahwa angiotensin II dalam kadar tinggi berpengaruh anti adipogenik, sehingga menyebabkan penurunan pembedaan adiposit. Pengaruh anti adipogenik dari angiotensin II ini diduga melalui peningkatan aktifitas enzim MAPK atau *extracellular signal-regulated kinase* (ERK).²⁴ Hal ini juga terbukti dalam penelitian ini, tampak bahwa perbenihan adiposit yang terpajan glukosa tinggi 11 mM dan 25 mM mengalami nekrosis yang sebanding dengan peningkatan sekresi

angiotensin II. Didasari hasil telitian ini diketahui bahwa pajanan glukosa tinggi menyebabkan terjadi peningkatan sekresi angiotensin II. Peningkatan sekresi angiotensin II di benihan adiposit yang dipajan glukosa tinggi menyebabkannya mengalami nekrosis, yang berdampak terjadi adiposopati, sehingga terjadi gangguan adiposit. Gangguan adiposit ini yang menjelaskan patomekanisme gejala metabolik dalam kondisi obesitas abdominal. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut untuk membuktikan peran inhibitor angiotensin II di benihan adiposit guna mencegah gejala metabolik dalam kondisi kegemukan.

SIMPULAN DAN SARAN

Dalam telitian ini didapatkan peningkatan sekresi angiotensin II benihan adiposit yang terpajan glukosa tinggi 11 mM dan 25 mM, dibandingkan dengan pajanan glukosa 5 mM sebagai pembanding normal. Pajanan glukosa tinggi dapat meningkatkan kadar angiotensin II yang disekresi oleh adiposit secara bermakna. Perlu diteliti lebih lanjut masalah kajian ini untuk membuktikan peran inhibitor angiotensin II di benihan adiposit dalam menghambat gejala metabolik di obesitas abdominal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Unit Pengembangan Penelitian FK Universitas Brawijaya atas pendanaan penelitian ini. Penghargaan dan ucapan terimakasih disampaikan juga kepada Prof. Dr. dr. M. Rasjad Indra, MS., Prof. Dr. drh. Aulanniam, DESS., Satuman, SSi., MKes., Budi, Amd dan Umi, Amd atas semua bimbingan dan bantuan selama pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wahba IM, Mak RH. Obesity and Obesity-Initiated Metabolic Syndrome: Mechanistic Links to Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007; 2: 550–562.
2. Grundy SM. Metabolic Syndrome: Connecting and Reconciling Cardiovascular and Diabetes Worlds. *J Am Coll Cardiol*, 2006; 47: 1093–100.
3. Alaniz MHF, Takada J, Vale MIC, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr (Rio J)*, 2007; 83: S192–203.
4. Bays H, Abate N, and Chandalia M. Adiposopathy: sick fat causes high blood sugar, high blood pressure and dyslipidaemia. *Future Cardiol*, 2005; 1: 39–59.
5. Kershaw E and Flier J. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2004; 89 (6): 2548–2556.
6. Bays H and Ballantyne C. Adiposopathy: Why do adiposity and obesity cause metabolic disease ? *Future Lipidology*, 2006; 1: 389–420.
7. Sironi AM, Gastaldelli A, Mari A, Ciociaro D, Postano V, Buzzigoli E, et al. Visceral Fat in Hypertension Influence on Insulin Resistance and β -Cell Function. *Hypertension*, 2004; 44:127–133.
8. Fruchbeck G, Javier G, Muruzabal FJ, and Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab*, 2001; 280: E827–E847.
9. Vikrant S and Tiwari SC. Essential Hypertension–Pathogenesis and Pathophysiology. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, 2001; 2 (3): 140–162.
10. Gabrieli I, Xiao MY, and Cases JA. Hyperglycemia modulates angiotensinogen gene expression. *Am Jphysiol IntegrativeComp. Physiol*, 2001; 281: R795–R802.
11. Ying L, Berg AH and Iyengar P. The Hyperglycemia-induced Inflammatory Response in Adipocytes. The Role of Reactive Oxygen Species. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005; 280 (6): 4617–4626.
12. Indra MR, Satuman, Widodo E. Optimalisasi proliferasi dan diferensiasi sel adiposit tikus. *Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Unibraw*. 2005; 3–10.
13. Gregoire F, Smas CM, and Sul HS. Understanding Adipocyte Differentiation. *Physiological Reviews*. 1998; 78 (3): 783–809.
14. Instruction for use. Abcam Angiotensin II ELISA kit. 2009; 4–8.
15. Midori F, Yukiko G, Hideki K, Hideyuki S, Takehide O, Motonobu A, et al. MKK6/3 and p38 MAPK Pathway Activation Is Not Necessary for Insulin-induced Glucose Uptake but Regulates Glucose Transporter Expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001; 276 (23): 19800–19806.
16. Junquera LC and Carneiro J. *Basic Histology, Text and Atlas*. 11th Ed., Singapore, McGraw-Hill, 2005; 25–29.
17. Robbins S L, Cotran RS and Kumar V. *Pathologic Basis of Disease*. 8th Ed., Philadelphia, Pennsylvania, WB Saunders Company, 2007; 6–13.
18. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, and Grodsky GM. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*. 2002; 23 (5): 599–622.
19. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism. *Diabetes*, 2005; 54: 1615–1625.
20. Hsieh T, Zhang S, Filep J, Tang S, Ingelfinger JR, and Chan J. High Glucose Stimulates Angiotensinogen Gene Expression via Reactive Oxygen Species Generation in Rat Kidney Proximal Tubular Cells. *Endocrinology*, 2002; 143 (8): 2975–2985.
21. Talior I, Tennenbaum T, Kuroki T, and Hagit E. PKC- δ -dependent activation of oxidative stress in adipocytes of obese and insulin-resistant mice: role for NADPH oxidase. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005; 288: E405–E411.
22. Engeli S, Schling P, Gorzelniak K, Boschmann M, Janke J, Ailhaud G, Teboul M, Massiéra F, Sharma AM. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? *Int J Biochem Cell Biol*, 2003; 35 (6): 807–25.
23. Paul M, Mehr AP, and Kreutz R. Physiology of Local Renin-Angiotensin Systems. *Physiol Rev*, 2006; 86: 747–803.
24. Fuentes P, Acunˆa MJ, Cifuentes M and Rojas CV. The anti-adipogenic effect of angiotensin II on human preadipose cells involves ERK1,2 activation and PPARG phosphorylation. *Journal of Endocrinology*, 2010; 206: 75–83.