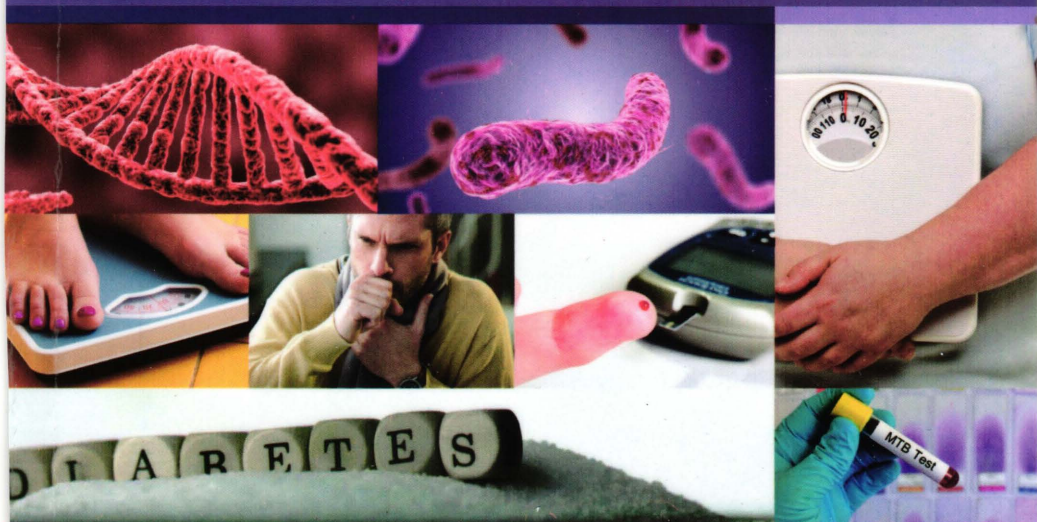




PENERBIT ANDI®

Diabetes Mellitus & Infeksi Tuberkulosis

••• Diagnosis dan
Pendekatan Terapi



Dr. Bernadette Dian Novita Dewi, dr., M.Ked.

DIABETES MELLITUS & INFEKSI TUBERKULOSIS - Diagnosis dan Pendekatan Terapi

Oleh: Dr. Bernadette Dian Novita Dewi, dr., M.Ked.

Hak Cipta ©2019 pada Penulis.

Editor : Ratih Indah Utami
Desain Cover : Dany Nofiyanto
Setter : Andika Sundoro Aji
Korektor : Brigita Swila

Hak Cipta dilindungi undang-undang.

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, baik secara elektronis maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam atau dengan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari Penulis.

Diterbitkan oleh Penerbit ANDI (Anggota IKAPI)

Jl. Beo 38-40, Telp. (0274) 561881 (Hunting), Fax. (0274) 588282
Yogyakarta 55281

Percetakan: CV ANDI OFFSET

Jl. Beo 38-40, Telp. (0274) 561881 (Hunting), Fax. (0274) 588282
Yogyakarta 55281

Perpustakaan Nasional: Katalog dalam Terbitan (KDT)

Dewi, Bernadette Dian Novita

DIABETES MELLITUS & INFEKSI TUBERKULOSIS - Diagnosis dan Pendekatan Terapi / Bernadette Dian Novita Dewi

– Ed. I. – Yogyakarta: ANDI;

28 – 27 – 26 – 25 – 24 – 23 – 22 – 21 – 20 – 19

hlm xviii + 110; 14 x 21 Cm.

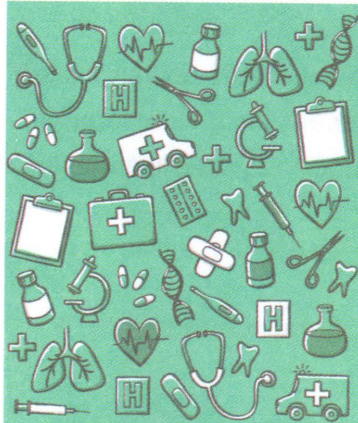
10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ISBN: 978 - 979 - 29 - 9912 - 9

I. Judul

1. Diabetes Mellitus/Medicine

DDC'23 : 616.462



PRAKATA

Buku *Diabetes Mellitus-Infeksi Tuberkulosis : Diagnosis dan Pendekatan Terapi* ini bertujuan untuk memberikan informasi kepada para peneliti muda, mahasiswa, dokter tenaga kesehatan dan para pemerhati diabetes mellitus.

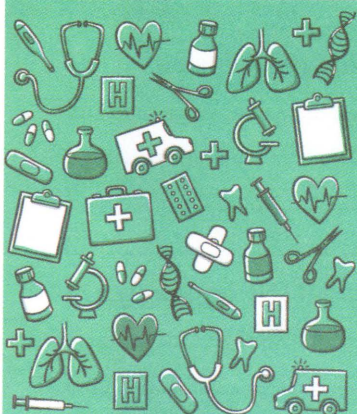
Buku ini menyampaikan informasi tentang imunologi dan mekanisme risiko infeksi tuberkulosis pada pasien diabetes mellitus, mekanisme kegagalan terapi tuberkulosis, dan target pengembangan terapi dengan pendekatan imunofarmakologi.

Informasi ini diharapkan dapat memberikan masukan dan ide untuk pengembangan literasi

kesehatan bagi pasien diabetes mellitus terkait risiko infeksi tuberkulosis, serta penelitian terkait dengan pengembangan terapi infeksi tuberkulosis khusus pasien diabetes mellitus.

Surabaya, Maret 2019

Penulis



DAFTAR ISI

PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB 1 TUBERKULOSIS.....	1
1.1 Definisi Tuberkulosis.....	1
1.2 Patogenesis Tuberkulosis	8
1.3 Respons Imun Tubuh terhadap Infeksi	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
1.3.1 Molekuler Respons Imun Tubuh	
terhadap Infeksi <i>Mycobacterium</i>	
<i>tuberculosis</i>	12
1.3.2 Manifestasi Klinis Infeksi Tuberkulosis..	24

1.4	Perubahan Aspek Imunologi pada Pasien	
	Tuberkulosis.....	25
1.4.1	Makrofag	27
1.4.2	Sel <i>T-helper</i>	29
1.4.3	<i>Toll Like Receptor</i>	32
1.4.4	<i>Nuclear Factor Kappa B</i> (NF kappa B).....	34
1.4.5	Superoxide Dismutase (SOD).....	36
1.5	Autofagia	39
BAB 2	TERAPI TUBERKULOSIS.....	43
2.1	Anti Tuberkulosis.....	43
2.1.1	Rifampicin	48
2.1.2	Isoniazid.....	50
2.1.3	Pyrazinamide.....	53
2.1.4	Ethambutol	54
2.2	<i>Host-Directed Therapy</i> pada Terapi	
	Tuberkulosis.....	55
BAB 3	DIABETES MELLITUS DAN	
TUBERKULOSIS.....		59
3.1	Patogenesis Diabetes Mellitus	59
3.1.1	Kerusakan Molekuler akibat	
	Hiperglikemia	62
3.1.2	Diabetes Mellitus dan Penurunan	
	Respons Imun	63

3.2 Patogenesis Diabetes Mellitus Terinfeksi	
Tuberkulosis	66
3.3 Terapi Tuberkulosis pada Pasien Diabetes	
Mellitus	70

BAB 4 METFORMIN SEBAGAI KANDIDAT

***HOST-DIRECTED* TERAPI PADA PASIEN**

DIABETES MELLITUS DAN TUBERKULOSIS..... 73

4.1 Metformin.....	73
4.1.1 Farmakokinetik dan	
Farmakodinamik Metformin	73
4.1.2 Efek Samping Metformin yang Dapat	
Terjadi	79
4.2 Metformin Kandidat <i>Host-Directed</i>	
Terapi pada Pasien Diabetes Mellitus	
dan Tuberkulosis	80
4.2.1 Metformin dan <i>Superoxide</i>	
<i>Dismutase</i> (SOD)	81
4.2.2 Metformin menginduksi Autofagia.....	82
4.2.3 Metformin, <i>Interferon gamma</i>	
(IFN- γ), <i>Interleukin</i> (IL)-10	
dan Rasio IFN- γ /IL-10	86

DAFTAR PUSTAKA..... 89

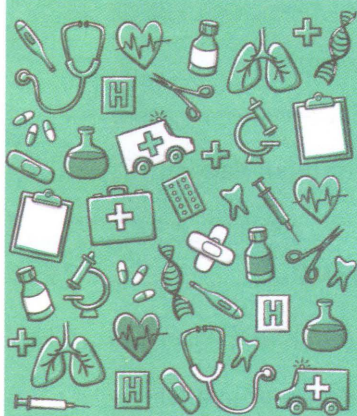
TENTANG PENULIS 109





Tabel 1.1	<i>Grading BTA Pemeriksaan</i>	
	Mikroskopis berdasarkan IUATLD	7
Tabel 2.1	Dosis Rekomendasi Anti TB	
	Kategori I untuk Dewasa	
	(WHO, 2011).....	47





DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Tempat mengambil dahak.....	5
Gambar 1.2	Fase 5 infeksi <i>M.tuberculosis</i>	11
Gambar 1.3	Aktivasi jalur patogenik dan non patogenik pada infeksi <i>M.tuberculosis</i>	13
Gambar 1.4	Penghambatan jalur apoptosis host oleh <i>M.tuberculosis</i>	16
Gambar 1.5	Distrupsi Sel Dendrit <i>signaling</i> <i>pathway M.tuberculosis</i>	19
Gambar 1.6	<i>Pattern Recognition Reseptor</i> oleh Makrofag untuk <i>M.tuberculosis</i>	22

Gambar 1.7	<i>Escape mechanism</i> <i>M.tuberculosis</i>	26
Gambar 1.8	Tahapan Pematangan Fagosit Mononuklear	28
Gambar 1.9	Paradigma M1/M2	29
Gambar 1.10	TLRs dan <i>signaling pathways</i>	33
Gambar 1.11	Hasil aktivasi dan regulasi NF kappa B.....	35
Gambar 1.12	<i>Crosstalk</i> aktivasi NO dan SOD pada proses fagositosis	38
Gambar 1.13	Proses fosforilasi Atg1/ULK1 dan inisiasi kompleks Atg3.....	40
Gambar 1.14	Proses makro-autofagia	41
Gambar 2.1	Mekanisme resistensi OAT terhadap <i>M.tuberculosis</i>	45
Gambar 2.2	Struktur bangun dan Target kerja Rifampicin	48
Gambar 2.3	Struktur Bangun, Aktivasi dan Target Kerja Isoniazid	51
Gambar 2.4	Potensial obat <i>host-directed</i> untuk infeksi TB	56

Gambar 2.5	Mekanisme metformin mencegah inflamasi	57
Gambar 3.1	Efek diabetes mellitus pada metabolisme <i>Neutrofil</i>	64
Gambar 4.1	Rumus Bangun dan Proses metilasi metformin pada reaksi redoks siklus kreb	75
Gambar 4.2	Mekanisme stimulasi AMPK oleh metformin	76
Gambar 4.3	Mekanisme metformin mencegah inflamasi	83
Gambar 4.4	Mekanisme metformin menstimulasi apoptosis makrofag.....	85





DAFTAR SINGKATAN

AMPK	<i>Adeno Mono Phosphat Activated Protein Kinase</i>
AFB	Acid Fast Bacilli
APC	<i>Antigen presenting cell</i>
BTA	Basil Tahan Asam
CMI	<i>Cell Mediated Immunity</i>
DIH	<i>Drug Induced Hepatitis</i>
DM	Diabetes Mellitus
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
GDP	Gula Darah Puasa

IFN	<i>Interferon</i>
IL	<i>Interleukin</i>
INH	<i>Isoniazid</i>
ITAM	<i>Tyrosine-Containing Activation Motive</i>
MALA	<i>Metformin-associated lactoacidosis</i>
MAP1LC3B	<i>Microtubule-Associated Protein 1 Light Chain 3B</i>
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCP	<i>Monocyte Chemoattractant Protein</i>
MIC	<i>Minimal Inhibitory Concentration</i>
MIP	<i>Macrophage Inflammatory Protein</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MMP-9	<i>Matrix Metalloproteinase-9</i>
mTOR	<i>Mechanism Target Of Rapamycin</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NF kappa B	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
PI3K	<i>Phosphatidyl-3-Inositol Kinase</i>
PK	<i>Protein Kinase</i>

PPAR γ	<i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>
OAT	Obat Anti Tuberkulosis
OAD	Oral anti diabetes
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Sec	<i>Scanty</i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
TB	Tuberkulosis
Th	<i>Thelper</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>
Treg	<i>T-regulator</i>
ULK	<i>ubiquitin-like conjugation</i>





BAB I TUBERKULOSIS

I.1 Definisi Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) paru merupakan infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tuberculosis*) yang menyerang jaringan parenkim paru. *Mycobacterium tuberculosis* termasuk bakteri aerob yang sering menginfeksi jaringan yang memiliki kandungan oksigen tinggi. *M.tuberculosis* merupakan batang tahan asam gram positif, serta dapat diidentifikasi dengan pewarnaan asam yang secara mikroskopis disebut Basil Tahan Asam (BTA). Dinding sel *M.tuberculosis* kaya lipid dan lapisan tebal peptidoglikan yang mengandung asam mikolik yang menyebabkan pertumbuhan *M.tuberculosis* menjadi lambat. Di sisi lain hal ini dapat menyebabkan resistensi *M.tuberculosis* yang tinggi terhadap enzim lisosom *host*.

Patogen *M.tuberculosis* cepat mati dengan matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup pada tempat yang gelap dan lembap, serta dapat *dormant* sampai beberapa tahun dalam makrofag dan jaringan tubuh. Penularan TB umumnya terjadi melalui *droplet aerosol* yang dikeluarkan dengan cara batuk, bersin, atau percikan ludah orang terinfeksi TB paru. Diameter *droplet* sangat kecil (0,5-5 μm) dan diproduksi sekitar 40.000 bakteri setiap bersin sehingga penularan TB sangat mudah.

Infeksi *M.tuberculosis* dapat berupa infeksi aktif, *clinically silent*, dan infeksi laten. Terdapat dugaan, sepertiga penduduk dunia terinfeksi *M.tuberculosis* yang sebagian besar bersifat asimtomatis dan menjadi infeksi laten atau *latent tuberculosis infection* (LTBI) terutama pada pasien dengan kondisi *immunosuppressive*, misalnya HIV/AIDS, DM, malnutrisi, kemoterapi atau steroid, dan terapi anti *tumor necrosis factor*. Hanya sekitar 5-10% orang menderita infeksi aktif tuberkulosis, tetapi kondisi hiperglikemia kronis pada pasien DM meningkatkan risiko terinfeksi TB sebesar 2,39 kali dengan risiko mengalami kegagalan terapi meningkat 1,69 kali.

Penegakan diagnosis TB paru adalah 1) semua suspek TB diperiksa tiga kali spesimen dahak dalam waktu dua hari; 2) pada orang dewasa ditemukan kuman TB (BTA) melalui pemeriksaan dahak mikroskopis; dan

3) foto toraks. Selain itu, dapat dilakukan pemeriksaan penunjang lain seperti foto toraks, biakan, dan uji kepekaan. Tidak dibenarkan mendiagnosis TB hanya berdasarkan pemeriksaan foto toraks saja, sebab gambaran kelainan radiologis paru tidak selalu menunjukkan aktivitas penyakit. Terdapat beberapa kategori infeksi TB, yaitu 1) berdasarkan hasil pemeriksaan dahak mikroskopis, terbagi menjadi TB paru BTA positif dan TB paru BTA negatif (tabel 1.1); dan 2) berdasarkan tingkat keparahan penyakit, terbagi menjadi TB paru dengan X-foto paru lesi minimal/*moderate/advance* dan TB ekstra paru ringan (TB KGB, pleuritis, sendi) atau berat (meningitis, milier, perikarditis, peritonitis, pleuritis eksudativa bilateral, TB tulang belakang, TB usus, TB saluran kemih dan alat kelamin).

Pengambilan sputum untuk penentuan diagnosis dilakukan tiga kali Sewaktu-Pagi-Sewaktu (SPS) dalam jangka waktu dua hari pada pusat layanan kesehatan pasien TB dengan memperhatikan beberapa hal berikut ini.

a. Persiapan Pasien

- Pasien diberitahu bahwa contoh uji dahak sangat bernilai untuk menentukan status penyakitnya. Oleh karena itu, anjuran pemeriksaan SPS untuk pasien baru dan SP untuk pasien dalam pemantauan pengobatan harus dipenuhi.

- Dahak yang baik adalah yang berasal dari saluran nafas bagian bawah, berupa lendir yang berwarna kuning kehijauan (mukopurulen). Pasien berdahak dalam keadaan perut kosong, sebelum makan/minum dan membersihkan rongga mulut terlebih dahulu dengan berkumur air bersih.
- Bila ada kesulitan berdahak pasien harus diberi obat ekspektoran yang dapat merangsang pengeluaran dahak dan diminum pada malam sebelum mengeluarkan dahak. Olahraga ringan sebelum berdahak juga dapat merangsang dahak keluar.
- Dahak adalah bahan infeksius sehingga pasien harus berhati-hati saat berdahak dan mencuci tangan.
- Pasien dianjurkan membaca prosedur tetap pengumpulan dahak yang tersedia di tempat/ lokasi berdahak.

b. Ruang Pengumpulan Dahak

Pengumpulan dahak dilakukan di ruang terbuka dan mendapat sinar matahari langsung atau di ruangan dengan ventilasi yang baik, hal ini untuk mengurangi kemungkinan penularan akibat percikan dahak yang infeksius. Tempat pengumpulan dahak dilengkapi dengan petunjuk tentang prosedur mengeluarkan

dahak, tempat cuci tangan dengan air mengalir dan sabun (Gambar 1.1). Dilarang mengeluarkan dahak di ruangan tertutup dengan ventilasi yang buruk, misalnya kamar kecil/toilet, ruang kerja (ruang pendaftaran, ruang pengumpulan sampel, laboratorium), dan ruang tunggu atau ruang umum lainnya



Gambar 1.1 Tempat mengambil dahak

(Sumber: Direktorat Jenderal Bina Upaya Kesehatan Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan RI. Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Mikroskopis TB, 2012)

c. Cara Berdahak

Petunjuk yang diberikan pasien adalah beberapa hal berikut.

- Kumur dengan air sebelum mengeluarkan dahak
- Bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur
- Tarik nafas dalam 2 hingga 3 kali dan setiap kali hembuskan nafas dengan kuat
- Buka tutup pot, dekatkan ke mulut, berdahak dengan kuat dan masukan ke dalam pot dahak
- Tutup pot dengan rapat dengan cara memutar tutupnya
- Pasien harus mencuci tangan dengan air dan sabun
- Bila perlu, hal di atas dapat diulang sampai mendapatkan dahak yang berkualitas baik dan volume yang cukup (3-5 ml)
- Bila dahak sulit dikeluarkan, dapat dilakukan hal sebagai berikut:
 - a) Lakukan olahraga ringan kemudian menarik nafas dalam beberapa kali. Bila terasa akan batuk, nafas ditahan selama mungkin lalu disuruh batuk.
 - b) Malam hari sebelum tidur, banyak minum air atau menelan 1 tablet ekspektoran, seperti glyceril guaiacolat dengan dosis 200 mg.
 - c) Pot berisi dahak diserahkan kepada petugas laboratorium dengan menempatkan pot dahak di tempat yang telah disediakan.

d. Standar Pot Dahak

- bersih dan kering,
- bermulut lebar (diameter 4-5 cm),
- transparan,
- bening,
- bahan kuat, tidak mudah bocor,
- bertutup ulir minimal 3 dan dapat menutup rapat.



Pengambilan sputum untuk monitoring dilakukan dua kali Sewaktu-Pagi (SP) dan dilaksanakan tiga kali selama masa terapi OAT, yaitu 1) pada akhir fase intensif terapi (bulan kedua terapi); 2) saat terapi sisipan; dan 3) akhir masa terapi OAT⁹ dan diberi *grade* seperti pada Tabel 1.1.

Tabel 1.1 *Grading* BTA Pemeriksaan Mikroskopis
berdasarkan IUATLD⁹

BTA Mikroskopis	Grading
Tidak ditemukan BTA pada 100 lapangan pandang	0/negatif
Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang (tuliskan jumlah BTA yang ditemukan)	Terdapat BTA (sec)
Ditemukan 10 – 99 BTA dlm 100 lapang pandang	1+

Ditemukan 1 – 10 BTA setiap 1 lapang pandang (periksa minimal 50 lapang pandang)	2+
Ditemukan ≥ 10 BTA dalam 1 lapang pandang (periksa minimal 20 lapang pandang)	3+

Untuk kepentingan pengobatan, TB dikategorikan menjadi 2 kategori, yaitu 1) **kategori 1**, yang termasuk dalam kelompok ini adalah pasien baru TB paru BTA positif, atau pasien TB paru BTA negatif foto toraks positif, atau pasien TB ekstra paru; dan 2) **kategori 2**, yang termasuk dalam kelompok ini adalah pasien TB kambuh, atau pasien TB gagal terapi, atau pasien TB dengan pengobatan setelah *default* (terputus).

1.2 Patogenesis Tuberkulosis

Daya penularan seorang pasien TB ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu 1) jumlah bakteri *M.tuberculosis* di dalam paru maupun *droplet* di udara sekitar pasien; 2) efektivitas ventilasi; 3) lama paparan; dan 4) tingkat keganasan galur *M.tuberculosis*. Sementara itu, terdapat lima fase pada infeksi tuberkulosis paru.

Fase 1, infeksi TB dimulai ketika *M.tuberculosis* mencapai alveoli paru. Pada fase ini pertumbuhan *M.tuberculosis* tidak terjadi karena *M.tuberculosis* sering

kali telah dirusak atau dihambat oleh makrofag alveolar melalui proses fagositosis. Tidak semua *M.tuberculosis* dapat dieliminasi, sebagian *M.tuberculosis* berada dan bermultiplikasi dalam nonaktif makrofag alveolar.

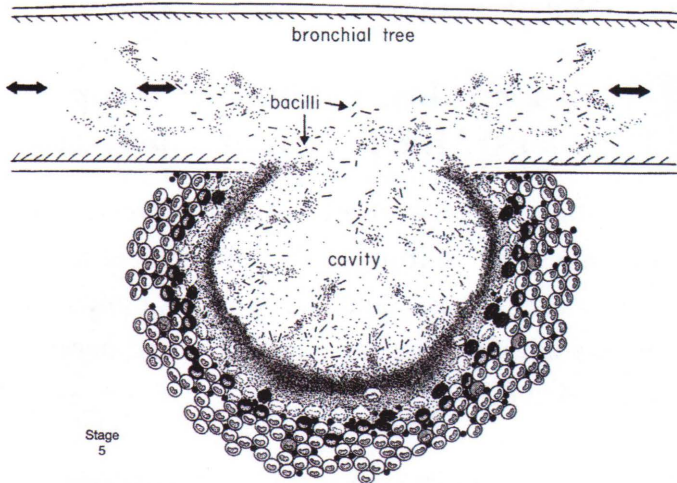
Fase 2, merupakan fase simbiosis, *M.tuberculosis* bermultiplikasi dalam *immature nonactivated* makrofag sehingga membentuk lesi yang disebut *tubercle*. Makrofag nonaktif masuk ke dalam sirkulasi darah melalui *tubercle* disebut monosit. Dua proses utama yang terjadi pada fase simbiosis adalah 1) multiplikasi *M.tuberculosis* tanpa menampakkan kerusakan *host*, dan 2) makrofag dalam terakumulasi, terutama di paru.

Fase 3, fase saat terjadi nekrosis *caseous*, jumlah *M.tuberculosis* yang ada menjadi statis sebab pertumbuhan *M.tuberculosis* dihambat oleh respons imun melawan *tuberculin-like antigens* yang dirilis oleh *M.tuberculosis*. Pada fase ini, terjadi kerusakan jaringan akibat respons imun, terutama yang melibatkan sitotoksik sel limfosit-T (CTL) sehingga memunculkan *delayed-type hypersensitivity* (DTH atau reaksi hipersensitivitas tipe 4). CTL menghancurkan makrofag yang terinfeksi *M.tuberculosis* intraseluler. Lesi yang terjadi akibat proses tersebut mengandung *solid caseous center*. Oleh karena dikelilingi makrofag inaktif maka mempermudah *M.tuberculosis* intraseluler bermultiplikasi dan terbentuk sel epiteloid imatur yang diproduksi CMI.

Fase 4, merupakan fase pengontrol saat infeksi *M.tuberculosis* memberikan gejala klinis, CMI memiliki peran penting pada fase ini. Bila jumlahnya CMI berkurang maka *M.tuberculosis* keluar dari ujung nekrosis *caseous* dan bermultiplikasi serta menjadi aktif. Mekanisme pertahanan CMI diperantarai sel T untuk meningkatkan kemampuan fagosit makrofag *host* terhadap *M.tuberculosis* IFN- γ merupakan sitokin yang memiliki peran dominan pada reaksi *delayed type hypersensitivity* (DTH)/hipersensitif tipe lambat sebagai penggerak utama yang meningkatkan fungsi fagositik dan produksi *reactive oxygen intermediates* (ROIs). Di sisi lain, *M.tuberculosis* melakukan perangsangan terus menerus dan berkelanjutan dalam *host* sehingga terjadi reaksi DTH patologis yang menyebabkan pembentukan granuloma dalam paru dan proses pembentukan granuloma ini menyebabkan kerusakan jaringan dan pembentukan kavitas.

Fase 5, fase *liquefaction*, *M.tuberculosis* memiliki kemampuan menghindari respons imun *host*. Saat *liquefaction* makin banyak bentukan sentra *caseous* dan *M.tuberculosis* bermultiplikasi ekstraseluler mencapai jumlah yang besar sehingga menyebabkan klinis infeksi miliar atau seluruh tubuh (Gambar 1.2). Penyebaran lebih lanjut *M.tuberculosis* melalui aliran darah menuju jaringan dan organ lain yang terdapat lesi sehingga TB

sekunder dapat berkembang, seperti di nodus limfatikus perifer, otak, ginjal dan tulang belakang.



Gambar 1.2 Fase 5 infeksi *M.tuberculosis*

(Sumber: <[http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(07\)70047-6/abstract](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(07)70047-6/abstract)>)

Compliance terhadap regimen terapi tidak selalu menghasilkan eliminasi dan eradikasi bakteri *M.tuberculosis* secara sempurna, infeksi *recurrent* merupakan hasil *endogenous reactivation* dari *M.tuberculosis* yang berhasil “survive” sejak fase 1. Hal ini terjadi karena *M.tuberculosis* memiliki kemampuan untuk “escape” dan menjadi *dormant* di dalam makrofag atau menjadi infeksi laten (LTBI).

Prevalensi TB paru pada DM meningkat 3 kali dibanding non DM, (Connell, 2011). Pasien DM dengan TB

aktif sering kali tidak memerlukan terapi yang berbeda dari pasien TB aktif, tetapi risiko terjadi resistensi antituberkulosis meningkat 2,5 kali.

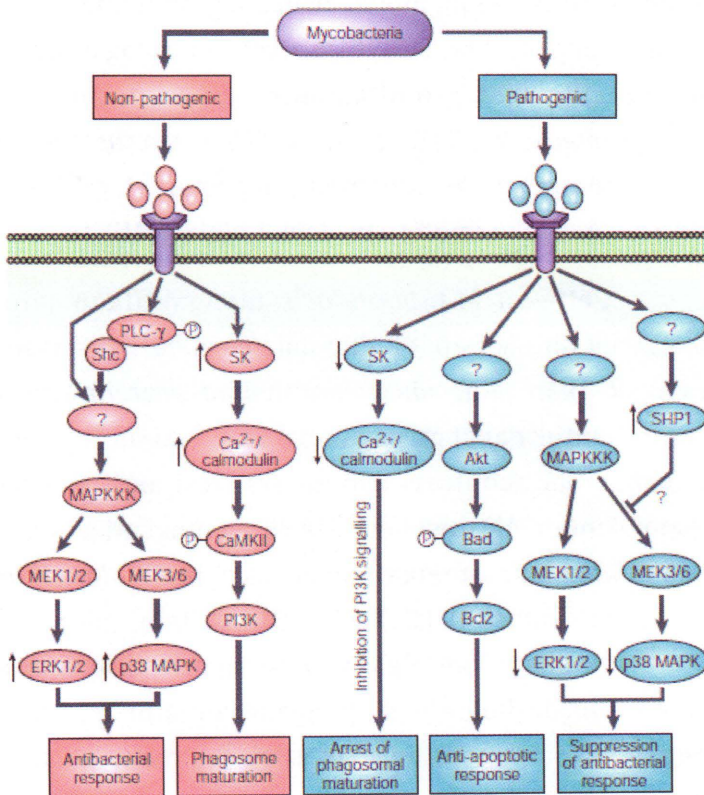
1.3 Respons Imun Tubuh terhadap Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Mekanisme pertahanan/*defensive* terhadap *M.tuberculosis* tergantung pada imunitas alami, yaitu makrofag alveolar, sel dendrit, maupun monosit, dan imunitas adaptif merupakan imunitas yang diperantarai oleh sel T dan B.

1.3.1 Molekuler Respons Imun Tubuh terhadap Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Sel makrofag yang mengenali *M.tuberculosis* melalui mekanisme *toll like receptor* (TLR) (Gambar 1.3) yang mengikat lipoprotein *M.tuberculosis* dan melepas mediator pro-inflamasi seperti IL1, IL6, iNOS, *M.tuberculosis* yang dipresentasikan makrofag ke Th1 serta memengaruhi faktor signaling NF kappa B. Sel Th1 kemudian berproliferasi dan dapat kembali ke awal infeksi. Restimulasi Th1 oleh *antigen presenting cells* (APC) menghasilkan IFN- γ dan aktivasi makrofag. Pada kondisi ini, monosit berperan APC yang bertugas mengenali dan memfagositosis mikroba dalam penelitian

ini adalah *M.tuberculosis*. Pada infeksi TB, ditemukan penurunan jumlah monosit di darah perifer disertai dengan gangguan aktivitas monosit sehingga pasien dengan kondisi *immunocompromised* (misal: HIV/AIDS, DM tipe 2) lebih mudah terkena infeksi.



Gambar 1.3 Aktivasi jalur patogenik dan non patogenik pada infeksi *M.tuberculosis*
(Sumber: Koul, et al., 2004)

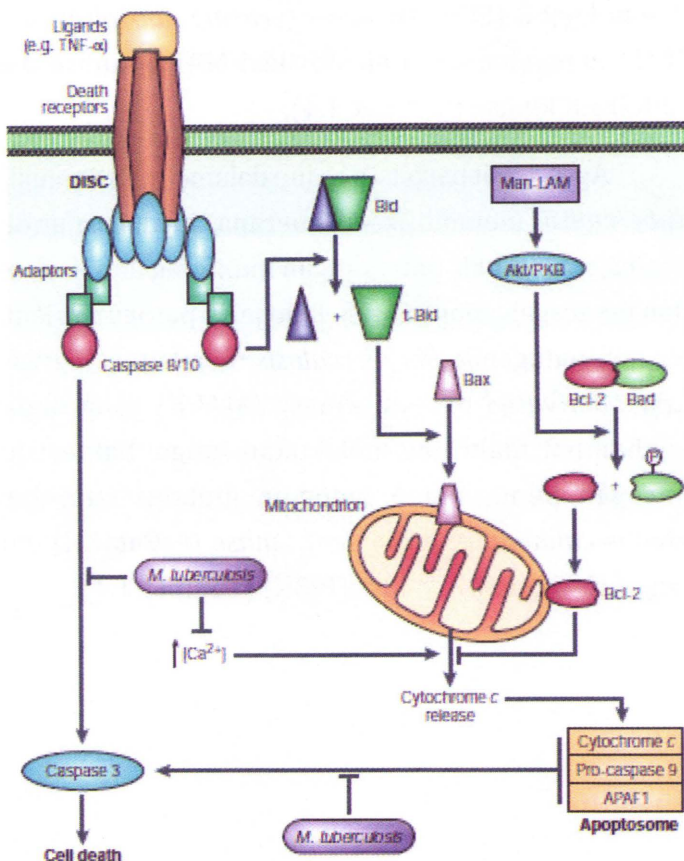
Kegagalan eliminasi dan resistensi infeksi *M.tuberculosis* tergantung pada kemampuan maturasi dan diferensiasi limfosit T menjadi Th 1, CD4, CD8, Tyδ yang melibatkan makrofag alveolar dan sel dendrit. Pada infeksi *M.tuberculosis* aktif, untuk membunuh *M.tuberculosis* dan membuat jaringan granuloma, tubuh segera mengaktifkan Th 1, CD4, CD8, makrofag alveolar, merilis *cytokines* proinflamatori, yaitu *interferon-γ* (IFN-γ), *interleukin-2* (IL-2), IL-12, TNFα, dan *chemokines* (IL-8, monocyte *chemoattractant* protein-1 (MCP-1), *macrophage inflammatory protein-1 alpha* (MIP-1α)³.

Patogen *M.tuberculosis* mengaktifkan jalur patogenik untuk dapat hidup dalam sel *host*, termasuk mengaktifkan jalur *mitogenactivated protein kinase* (MAPK) untuk dapat menghambat maturasi sel fagosit, menghambat apoptosis dan mensupresi antibakterial respons imun. Aktivasi jalur MAPK meningkatkan Ca²⁺ / *calmodulin* level, menstimulasi aktivitas *calmodulin dependent kinase II* (CaMKII). Di sisi lain, jalur non patogenik diaktifkan oleh sel *host* saat *M.tuberculosis* yang berhasil dieliminasi, pengaktifan jalur ini dapat menginduksi respons antibakterial dan meningkatkan maturasi sel fagosit.

Patogen *M.tuberculosis* juga mensupresi jalur apoptosis *host* melalui promosi Man-LAM, fosforilasi Bad melalui Akt, memicu disosiasi Bcl-2, mengaktifkan

Srchomology 2 (SH2) turunan *tyrosine phosphatase 1 (SHP1)* menyebabkan defosforilasi MAPK kinase dan MAPK/ERK kinase (Gambar 1.4).

Agar dapat bertahan hidup dalam tubuh manusia, *M.tuberculosis* memodifikasi beberapa sinyal *host* untuk pertama, memblokir pematangan makrofag dan limfosit T, dan mencegah apoptosis melalui jalur patogenik. Pada jalur non patogenik, *M.tuberculosis* membatasi aktivasi *mitogenactivated* protein kinase (MAPK) yang dapat menghambat makrofag melakukan fungsi bakterisid, mencegah pematangan fagosom melalui stimulasi aktivitas *calmodulin dependent kinase II (CaMKII)* dan *phospatidylinositol-3-kinase (PI3K)* (Gambar 1.4).



Gambar 1.4 Penghambatan jalur apoptosis host oleh *M.tuberculosis*

(Sumber: Koul, et al., 2004)

Jalur apoptosis ekstrinsik dimulai dengan pengikatan ligan, seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF - α) pada reseptor. Reseptor ini berinteraksi dengan protein adaptor yang merekrut dan mengaktifkan caspase 8 dan caspase 10 untuk membentuk DISC (*death-*

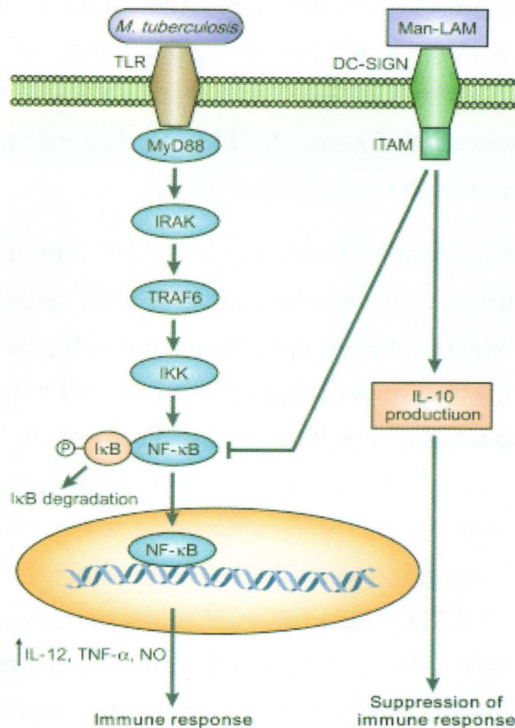
inducing signaling complex) yang kemudian menginisiasi cascade caspase dan mengaktivasi caspase 3. Caspase 3 mencerna substrat penting dalam sel untuk menginduksi kematian sel. Apoptosis jalur ekstrinsik dapat diperkuat dengan mengaktifkan apoptosis jalur intrinsik melalui seluler stres yang dimediasi peristiwa pembelahan Bid (bagian Bcl-2) oleh caspases 8/10. Pro-apoptosis Bcl-2 membentuk kompleks *hetero-oligomeric* di membran luar mitokondria. Bersama dengan pro-caspase 9 dan APAF1 (*apoptosis-activating factor - 1*), sitokrom C membentuk apoptosome yang menginduksi aktivasi caspases 9 dan 3 dan memicu kematian sel. Pelepasan sitokrom C dapat dihambat oleh Bcl-2 dan ikatan Bcl-2/Bad. Kompleks Bcl-2/Bad dapat dirusak dan dipecah oleh fosforilasi Bad oleh Akt. *M.tuberculosis* menginduksi aktivitas Akt melalui Man- LAM, faktor virulensi yang dapat digunakan untuk memblokir aktivasi jalur apoptosis intrinsik, mencegah aktivasi caspases 3 dan menghambat jalur apoptosis ekstrinsik dengan menghambat produksi TNF $-\alpha$, (Gambar 1.4).

Patogen *M.tuberculosis* merupakan bakteri lipopolisakarida (LPS) yang menginduksi maturasi sel dendrit (SD) melalui TLR-2 dan TLR-4 *signaling pathways*. TLR menginisiasi sinyal melalui ikatan dengan protein adaptor (MyD88), kemudian merekrut serine/threonine kinase, *interleukin-1 receptor-associated kinase*

(IRAK). IRAK berasosiasi dengan protein adaptor *TNF-receptor-associated factor 6* (TRAF6), ikatan ini dapat mengaktivasi kompleks *inhibitor of $\kappa\beta$ kinase* (IKK) yang memfosforilasi $\text{I}\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$ *inhibitor*). Fosforilasi $\text{I}\kappa\beta$ menyebabkan degradasi $\text{I}\kappa\beta$ dan translokasi NF- $\kappa\beta$ ke dalam nucleus. NF- $\kappa\beta$ merupakan faktor transkripsi yang memberikan signal pada sel T naif dan SD. Maturasi SD dapat meningkatkan produksi sitokin inflamatori dan aktivasi respons T-sel yang berujung pada eliminasi patogen. Sel T tersebut kemudian berdiferensiasi menjadi sel T-*helper*1 (Th1) dan Th2. Sel Th1 mengeluarkan sitokin IL-2 untuk merangsang proliferasi limfosit sehingga dapat memproduksi immunoglobulin. Selain itu, Th1 juga merilis mediator proinflamasi IL-1 β , TNF- α dan IFN- γ untuk meningkatkan aktivitas makrofag.

Pada respons imun yang insufisien, proses eliminasi dapat meningkatkan produksi Man-LAM dari makrofag yang terinfeksi *M.tuberculosis*. Selain itu, SD meningkatkan ikatan *mannose lipoarabinomannan* (Man-LAM) dengan lectin tipe-C dari DC-SIGN (*Dendritic Cell-specific intracellular-adhesion molecule grabbing non-intergrin*) (Gambar 1.5). penghambatan maturasi SD dapat mensupresi aktivasi sel T. Bakteri *M.tuberculosis* menghasilkan Man-LAM yang kemudian Man-LAM berikatan dengan DC-SIGN dan menghambat TLR *signalling*. Penghambatan maturasi SD meningkatkan

produksi sitokin *immunosuppressive* (IL-10) dan sebagai konsekuensi, aktivasi sel T terganggu.



Gambar 1.5 Distrupsi Sel Dendrit *signaling pathway M.tuberculosis*
(Sumber: Koul, et al., 2004)

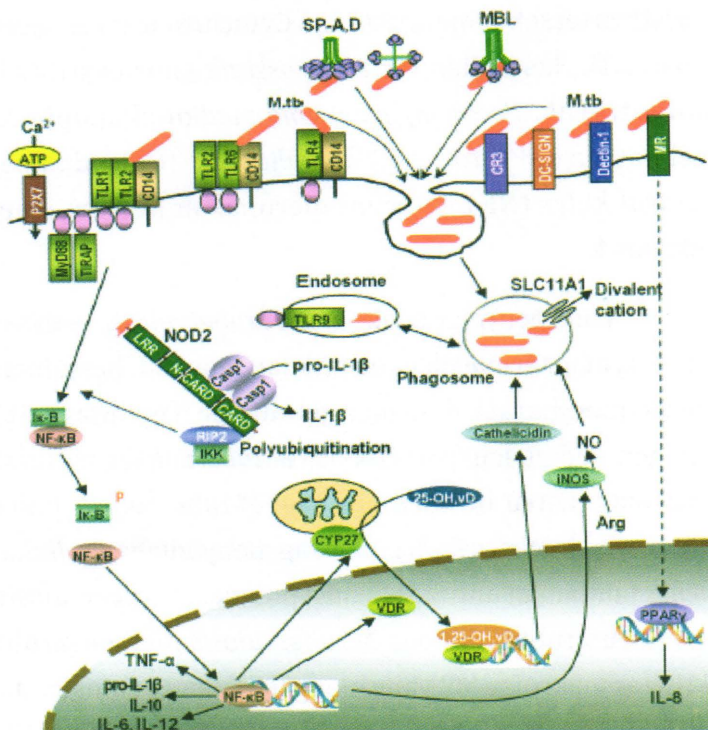
Aktivasi makrofag terjadi setelah proses signaling pengenalan patogen seperti yang telah disebutkan sebelumnya. Proses ini sangat tergantung berbagai macam faktor transkripsi, di antaranya yang terpenting adalah *nuclear factor kappa B* (NFκB) dalam merangsang dan mengoordinasi respons imun *innate* dan *adaptive*

(Gambar 1.5). $\text{NF}\kappa\text{B}$ mengatur gen penyandi sitokin pro-inflamasi, molekul adhesi, kemokin, enzim cyclo-oxygenase (COX2) dan iNOS. $\text{NF}\kappa\text{B}$ distimulasi oleh $\text{TNF}\alpha$ dan $\text{IL-1}\beta$ melalui proses *signaling* yang melibatkan MyD88 mengaktifkan IRAK, sebagai protein adaptor *TNF-receptor-associated factor 6* (TRAF6) dan mengaktifasi kompleks *inhibitor of κB kinase* (IKK).

Proses *endocytosis* dan autofagia oleh makrofag *host* merupakan cara untuk mengeliminasi dan eradikasi *M.tuberculosis*. Proses apoptosis makrofag-terinfeksi *M.tuberculosis* atau autofagia (fagolisosom) yang efektif melibatkan fagosome *mature* dan lisosom. Terdapat 3 jalur inisiasi apoptosis, yaitu 1) jalur ekstrinsik; 2) jalur intrinsik; dan 3) jalur *perforin/granzyme*. Jalur ekstrinsik diawali dengan aktivasi $\text{TNF-}\alpha$ / *tumor necrosis factor receptor* (TNFR1) *ligand* oleh *M.tuberculosis* yang telah dikenali TLR. $\text{TNF-}\alpha$ yang berikatan dengan *trimerizes* TNFR1 memicu aktivasi *TNFR1-associated death domain* (TRADD), *receptor interacting protein kinase* (RIPK)1, *TNFR-associated factor* (TRAF)2, TRAF5, *cellular inhibitor of apoptosis protein* (cIAP)1, dan cIAP2 yang kemudian membentuk *membrane-associated complex I*. Signal dari complex I mengaktifkan $\text{NF}\kappa\text{B}$. Jalur intrinsik terinduksi saat terjadi stres intraseluler, seperti kerusakan DNA, *starvation*, dan stres oksidatif yang memengaruhi permeabilitas *outer mitochondrial membrane* (OMM).

Peristiwa tersebut mengaktifkan Cytochrome c, caspases 9 dan ATG, kemudian terjadi *cross talk* jalur ekstrinsik dan intrinsik. *Perforin/granzyme mediated* apoptosis melibatkan sel *cytotoxic T lymphocytes* (CTL) dan sel *natural killer* (NK), jalur ini merupakan pemicu jalur ekstrinsik.

Pada penyakit infeksi non *M.tuberculosis*, aktivasi sel makrofag termasuk neutrofil dan monosit, bertujuan untuk membatasi dan mengeliminasi (memfagosit) patogen, sedangkan pada infeksi *M.tuberculosis*, aktivasi makrofag justru bermanfaat bagi *M.tuberculosis* pada tahap awal infeksi sebab makrofag menyediakan *cellular niches* tambahan untuk ekspansi populasi *M.tuberculosis* ke seluruh tubuh. Diduga *M.tuberculosis* memengaruhi aktivitas makrofag M2 yang mengakibatkan peningkatan proliferasi *M.tuberculosis* dalam makrofag M2. Peningkatan aktivitas makrofag M2 diduga dapat menekan aktivitas fagositosis *M.tuberculosis* oleh makrofag M1. Peningkatan aktivitas M2 berhubungan reaksi *Delayed Type Hypersensitivity* (DTH)/hipersensitif tipe lambat patologis yang menyebabkan pembentukan granuloma dalam paru dan kerusakan jaringan dan pembentukan kavitas.



Gambar 1.6 *Pattern Recognition Reseptor* oleh Makrofag untuk *M.tuberculosis*
(Sumber: Azad, et al., 2012).

Terdapat beberapa mekanisme manipulasi *cellular niches* yang dilakukan oleh *M.tuberculosis* agar dapat bertahan di dalam *host* (Gambar 1.6). Pertama, *M.tuberculosis* berikatan dengan *Macrophage Binding Lysosome* (MBL), suatu komplemen yang memodulasi perubahan pematangan sel fagosom dan memungkinkan *M.tuberculosis* untuk menghindari mekanisme *lysosomal*

untuk pembatasan, pembunuhan dan degradasi *M.tuberculosis*. Proses tersebut mempermudah *M.tuberculosis* berada di sitoplasma *host* dan mengaktifkan *nucleotide-binding oligomerization domain protein* (NOD) yang merupakan kelompok *inflammasome*. Kedua, *M.tuberculosis* menggunakan beberapa mekanisme virulensi untuk mengoptimalkan penyebaran *M.tuberculosis* dari sel ke sel, misal pemaparan terus-menerus ke makrofag dalam bentuk bakteri intraseluler sehingga *M.tuberculosis* dapat berkembang dalam intrasel dan berekspansi, membentuk *abundant lipid body* dalam sitoplasma *M.tuberculosis*, dan *Toll-Like Receptors* (TLR) menangkap *M.tuberculosis* dan mengaktifkan jalur patogen dan menginduksi rilis $\text{NF}\kappa\text{B}$ sebagai faktor transkripsi yang dapat menyebabkan mutasi DNA sel makrofag sehingga makrofag baru yang terbentuk tidak mengenali *M.tuberculosis* sebagai patogen. Ketiga, menghambat apoptosis/autofagia sel *host*.

Mekanisme tersebut merupakan *escape mechanism M.tuberculosis*, yaitu kemampuan menghindari dari *intracellular killing inside macrophages* sehingga kemampuan menghindari fagositosis makrofag, relatif tinggi. Hal ini menyebabkan *M.tuberculosis* menjadi sulit dikontrol walaupun terdapat pertahanan tubuh terutama pada kondisi *immunocompromised* yang salah satu penyebabnya adalah kondisi hiperglikemia kronis.

1.3.2 Manifestasi Klinis Infeksi Tuberkulosis

Pada sebagian besar pasien TB gejala muncul perlahan sehingga sering kali terabaikan. Gejala awal yang sering dirasakan adalah batuk kronis >2 minggu disertai dahak, penurunan nafsu makan, mudah merasa lelah, berat badan menurun, demam yang dapat terjadi hingga berbulan-bulan. Bila infeksi berlanjut secara progresif dan belum mendapat terapi spesifik dapat menimbulkan komplikasi, antara lain pleuritis, efusi pleura, limfadenitis dan gejala ekstra pulmonal lain.

Penegakan diagnosis dilakukan dengan pemeriksaan sputum BTA dan pemeriksaan radiologis, yang digunakan juga untuk membantu menentukan kerusakan jaringan paru (Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis, 2007). Pembagian derajat kerusakan jaringan paru secara radiologi, yaitu:

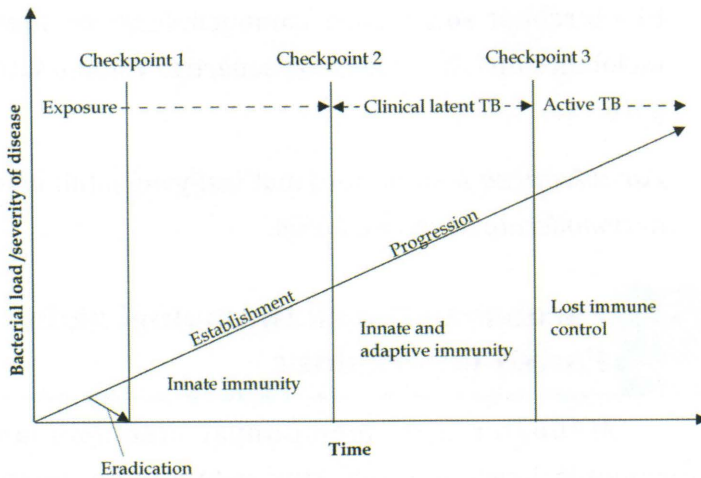
1. **Minimal lesion** : bila terdapat sebagian kecil infiltrat pada satu atau ke dua paru tetapi luas infiltrat tidak melebihi daerah yang dibatasi oleh garis tengah, apeks dan di atas *second chondrosternal junction* serta vertebra torakal 4-5. Tidak ditemukan kavitas.
2. **Moderate advanced lesion** : terdapat infiltrat pada satu atau kedua paru tetapi tidak melebihi luas satu lobus paru. Bila ditemukan kavitas, diameter ≤ 4 cm.

Bila terdapat konsolidasi homogen, luasnya tidak melebihi satu lobus paru atau sepertiga volume satu paru.

3. ***Far advanced lesion*** : terdapat lesi yang lebih luas dari *moderate advanced lesion*.

I.4 Perubahan Aspek Imunologi pada Pasien Tuberkulosis

M.tuberculosis mempunyai kemampuan memanipulasi respon imun, baik sistem imun *innate* dan adaptif atau disebut dengan *escape mechanism M.tuberculosis*, yaitu kemampuan menghindari dari *intracellular killing inside macrophages* sehingga kemampuan menghindari fagositosis makrofag relatif tinggi. Mekanisme tersebut dapat melalui 3 tahap (Gambar 1.7), yaitu 1) menghindari fagositosis makrofag; 2) mengalahkan sistem imun *innate*; 3) mengalahkan sistem imun adaptif.



Gambar 1.7 *Escape mechanism M.tuberculosis*

(Sumber: Brighenti, et al., 2012).

Infeksi TB terjadi terutama akibat gangguan fungsi makrofag dalam melakukan fagositosis *M.tuberculosis*. Hal ini disebabkan makrofag mengalami gangguan aktivasi dan aktivitas makrofag termasuk kemotaksis, perlengketan dan fagositosis, gangguan *major histocompatibility complex* (MHC) dan *toll-like receptor* (TLR) yang merupakan kelompok *pattern recognition receptors* makrofag, perubahan signaling *mitogen activated protein kinase* (MAPK) (Koul, Herget, Klebl, & Ullrich, 2004; Mohammad et al., 2006; Druszczyńska et al., 2012; Azad et al., 2012). Keseimbangan Th1 dan Th2 yang diwakili oleh rasio $\text{IFN-}\gamma / \text{IL-10}$ menentukan efektivitas respons imun penunjang eradikasi *M.tuberculosis* pada pasien DM terinfeksi TB (*Tuberculosis*).

1.4.1 Makrofag

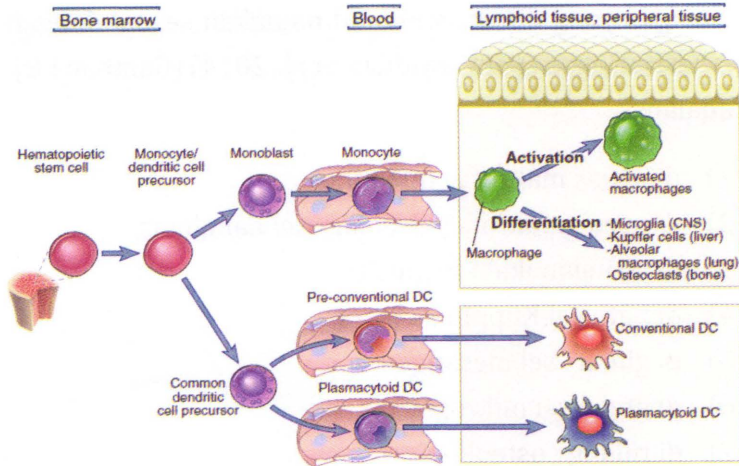
Makrofag merupakan monosit yang hidup dalam jaringan berbentuk khusus yang tergantung dari alat atau jaringan yang ditempati dan dinamakan sesuai dengan lokasi jaringan (Baratawidjaja, et al., 2014) (Gambar 1.8), adalah:

- 1) di usus : makrofag intestinal,
- 2) di paru : makrofag alveolar/ sel Langhans,
- 3) di jaringan ikat : histiosit,
- 4) di hati: sel Kuppfer,
- 5) di ginjal : sel mesangial,
- 6) di otak : sel mikrogial,
- 7) di tulang : osteoklas.

Makrofag berukuran 5-10 kali lebih besar dibanding monosit dan mengandung banyak organel terutama lisosom.

Makrofag dapat berfungsi untuk menangkap, memakan dan mencerna antigen eksogen, seluruh mikroorganisme, partikel tidak larut dan bahan endogen, seperti sel *host* yang cedera atau mati yang dipresentasikan oleh sel T. Pengaktifan makrofag dapat melalui berbagai perangsangan, antara lain fagositosis, kontak reseptor dengan partikel antigen eksogen atau dipicu oleh sitokin yang dilepaskan oleh sel T-*helper* (Th) dan

oleh mediator respons inflamasi. Makrofag memiliki dua fungsi, yaitu 1) sebagai fagosit profesional, dan 2) sebagai APC (Gambar 1.8).

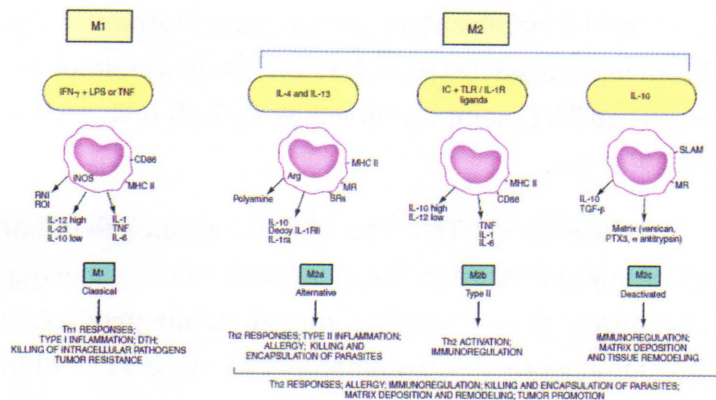


Gambar 1.8 Tahapan Pematangan Fagosit

Mononuklear

(Sumber: Abbas, et al., 2012).

Perkembangan paradigma saat ini, aktivasi makrofag terbagi menjadi 1) aktivasi klasik (M1) dan 2) aktivasi alternatif (M2) yang memberikan efek yang berbeda. Aktivitas M1 meningkatkan respons Th1 antara lain menyebabkan inflamasi, membunuh patogen intraseluler dan DTH serta kerusakan jaringan. Aktivitas M2 meningkatkan respons Th2 sebagai imunomodulator, deposisi matriks dan remodeling jaringan (Gambar 1.9).



Gambar 1.9 Paradigma M1/M2

(Sumber: Martinez, et al., 2014)

Peran makrofag pada infeksi *M.tuberculosis* sangat menentukan kondisi *host*. Bila makrofag dapat secara tuntas melaksanakan proses fagositosis maka *M.tuberculosis* tereliminasi dan *host* tidak terinfeksi. Patogen *M.tuberculosis* dapat dengan mudah menghindari proses fagositosis makrofag dan berhasil menghambat *autophagy* makrofag. Pada pasien DM dengan infeksi TB diperlukan aktivitas M1 yang lebih dominan dibanding M2, terutama pada kemampuan M1 membunuh *M.tuberculosis* yang merupakan obligat intraseluler.

1.4.2 Sel T-helper

Sel T-helper (Th) merupakan bagian dari sel CD4⁺ yang mampu mengenali antigen yang ditampilkan bersama MHC kelas II. Sel Th dikelompokkan dalam subset

Th1 dan Th2 berdasarkan sitokin yang diproduksi. Sel Th1 memproduksi IL-1, IL-2, IFN- γ , TNF α dan limfotoksin, sedangkan Th2 memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13 TH.

Produk sel Th1 dan Th2 saling menghambat fungsi diferensiasi dan fungsi efektor masing-masing, misal IFN- γ secara sefektif menghambat proliferasi Th2, sedangkan IL-10 menghambat sintesis sitokin oleh Th1. Pada infeksi *M.tuberculosis* yang merupakan bakteri intraseluler, diperlukan peran Th1 yang lebih dominan dalam mengeradikasi *M.tuberculosis*. Di sisi lain, IFN- γ sering kali memberikan sinyal negatif pada sel B yang berakibat sel tidak dapat menghasilkan antibodi. Keseimbangan antara Th1 dan Th2 yang diwakilkan rasio IFN- γ dan IL-10 harus terjaga dalam mengeradikasi infeksi *M.tuberculosis* maupun merespons poliklonal sel B terhadap antigen spesifik.

1. Interferon (IFN) – gamma (γ)

Interferon (IFN)- γ , dikenal juga sebagai IFN tipe II atau *hemodimeric glycoprotein* adalah sitokin glikoprotein yang diproduksi makrofag teraktivasi, sel *Natural Killer* (NK), sel T, CD4⁺ yang berdiferensiasi menjadi Th1 yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respons terhadap infeksi. Sel Th1 memerlukan paparan IFN- γ untuk mempertahankan reseptor IL-12 dan memberikan

proteksi terhadap infeksi, sebab IFN- γ meningkatkan ekspresi molekul MHC-II dan mengaktivasi makrofag untuk melakukan fagositosis terhadap *M.tuberculosis*, selain itu IFN- γ juga merangsang perkembangan Th1.

Peran IFN- γ lebih penting sebagai sitokin regulator sebab IFN- γ selain merangsang aktivitas Th1, pada respons imun seluler juga meningkatkan proliferasi sel Th2. Aktivasi Th2 kemudian menghambat respons imun humoral dan menurunkan produksi IL4.

Pemeriksaan IFN- γ juga dilakukan untuk mendeteksi adanya infeksi TB, baik TB paru maupun TB ekstra pulmonal interquartile range (IQR). Fungsi IFN- γ , adalah:

- Aktivator poten pada fagosit mononuclear dengan menginduksi sintesis enzim pada *respiratory burst* sehingga makrofag dapat membunuh mikroba yang ditelan;
- Meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I dan II;
- Merangsang sel T untuk berdiferensiasi dan merangsang sel B untuk meningkatkan *class switching* untuk menghasilkan IgG2a dan IgG3, tetapi menghambat *class switching* untuk menghasilkan IgG1 dan IgE;
- Merangsang aktivitas sitolitik sel NK;
- Aktivasi netrofil dan *respiratory burst*;

- Aktivator sel endotel, meningkatkan adhesi sel T dan perubahan morfologik yang memudahkan ekstrasvasasi limfosit.

Kehadiran IFN- γ merangsang proliferasi sel Th1 sehingga diduga pasien DM dengan infeksi TB memerlukan IFN- γ lebih besar dibanding dengan IL-10.

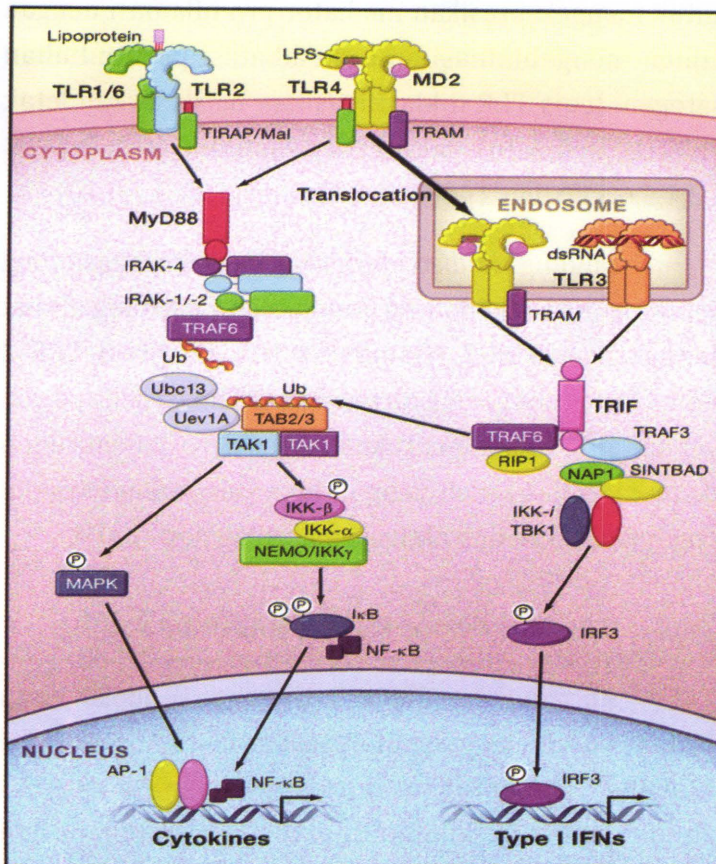
2. *Intereukin (IL)-10*

IL-10 berperan dalam penanganan inflamasi kronis termasuk infeksi kronis, autoimun dan kanker. IL-10 merupakan salah satu sitokin yang dihasilkan oleh Th-2 berperan sebagai inhibitor makrofag dan sel dendritik, berfungsi mengontrol reaksi imun non spesifik dan spesifik. IL-10 diproduksi oleh makrofag teraktivasi dan terinduksi ITAM. IL-10 mencegah ekspresi ko-stimulatori MHC-II pada makrofag dan sel dendritik. IL-10 merupakan regulator negatif *feedback* pada respons imun. Produksi IL-10 oleh T regulator (Treg) berperan penting untuk mencegah inflamasi berlebihan, terutama di usus dan paru interquartile range (IQR).

1.4.3 *Toll Like Receptor*

Toll like receptor (TLR) merupakan anggota terpenting *pattern recognition receptors* (PRRs) yang digunakan untuk mengenali *pathogen-associated molecular pattern* (PAMP). Molekul PAMP diekspresikan

oleh patogen, bukan mamalia, dalam penelitian ini adalah *M.tuberculosis*.



Gambar 1.10 TLRs dan signaling pathways

(Sumber: Takeuchi, et al., 2010)

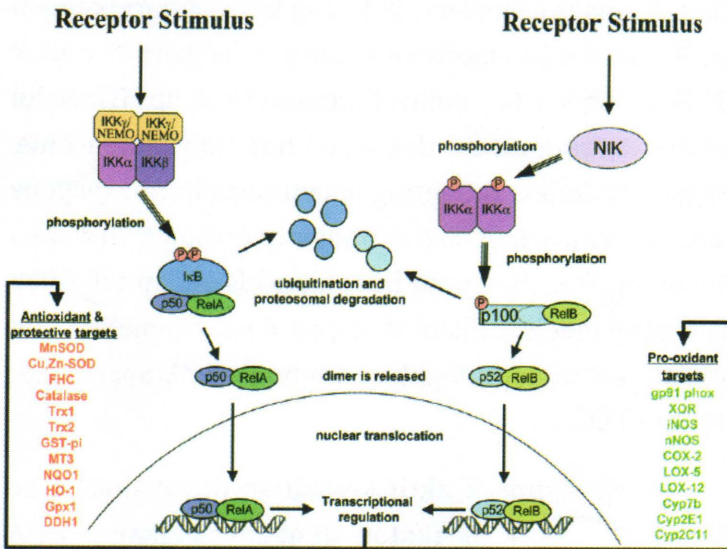
Protein TLR, berperan pada *innate immunity* untuk mendeteksi infeksi patogen dan mengaktifasi respons inflamasi serta respons natural anti mikrobal. Tugas

TLR adalah mengenali dan mengikat ligan mikobakterial, kemudian mengaktivasi faktor transkripsi NF kappa B untuk mengekspresikan mediator proinflamasi dengan tujuan mengeliminasi atau membatasi pertumbuhan patogen. Jenis TLR diklasifikasikan berdasarkan letak TLR (Gambar 1.10), yaitu 1) di membrane plasma (TLR 1,2,4,5,6,11); dan 2) di *endolysosome* (TLR 3,7,9,10).

Dinding *M.tuberculosis* yang banyak mengandung peptidoglikan dikenali terutama oleh makrofag akibat pengaktifan TLR-2 (Gambar 1.10). Ekspresi TLR-2 menurun karena gangguan respons inflamasi pada pasien DM dan proses pembentukan aterosklerosis. Penurunan ekspresi TLR-2 inilah yang diduga yang menyebabkan gangguan fungsi dan aktivasi makrofag pasien DM.

1.4.4 Nuclear Factor Kappa B (NF kappa B)

Nuclear Factor Kappa B (NF kappa B) adalah suatu protein kompleks yang merupakan faktor transkripsi inducibel. Menentukan ekspresi gen yang menyandi sitokin, kemokin, kimokin, faktor pertumbuhan dan molekul sel adesi pada respons imun/inflamasi, proses perkembangan-pertumbuhan sel dan inhibitor apoptosis. NF kappa B dalam keadaan normal ditemukan dalam bentuk inaktif di sitoplasma sebagai heterodimer p50/65 berikatan dengan *inhibitor* κ B (I κ B).



Gambar 1.11 Hasil aktivasi dan regulasi NF kappa B
(Sumber: Morgan, et al., 2011)

Protein NF kappa B juga meregulasi berbagai macam gen yang berperan dalam regulasi pertumbuhan, diferensiasi, perkembangan dan apoptosis sel. Pada mamalia, protein NF kappa B terdiri dari lima Rel-homology (RHD) yang berbeda yang berikatan homodimer dan heterodimer dengan κ B.

Aktivasi NF kappa B melalui jalur klasik, jalur atipikal dan jalur alternatif. NF kappa B dapat aktif bila NF kappa B terlepas dari I κ B kinase, akibat perangsangan beberapa agen termasuk sitokin – IL-1 dan TNF- α , stres fisik, stress oksidatif (ROI), radikal bebas – ROS,

obat, *lipopolisacharide* (LPS) yang berasal dari patogen termasuk *M.tuberculosis*, sinar *ultra violet* dan *nitric oxide* (NO) (Gambar 1.11). Kontrol aktivitas NF kappa B melalui proses *ubiquitination*, degradasi IκB oleh proteasome. Bagian NF kappa B penting dalam pengaturan respons seluler “*rapid acting*” faktor transkripsi primer. NF kappa B memberikan efek yang berbeda pada setiap sel. Salah satu yang mengaktifkan NF kappa B pada penelitian ini adalah ikatan peptidoglikan dinding sel *M.tuberculosis* dengan TLR.

NF kappa B aktif kemudian ditranslokasi ke dalam inti yang berikatan dengan rangkaian DNA spesifik/*response elements* (RE). Kompleks DNA/NF kappa B bersama protein aktivator dan RNA polimerase yang mentranskripsi ekspresi berbagai macam sitokin. NF kappa B, sehingga dinyatakan NF kappa B memiliki berbagai macam respons inflamasi dan pada kadar berlebih, NF kappa B juga bertanggung jawab pada proses angiogenesis sel kanker dan penyakit autoimun (Gambar 1.11).

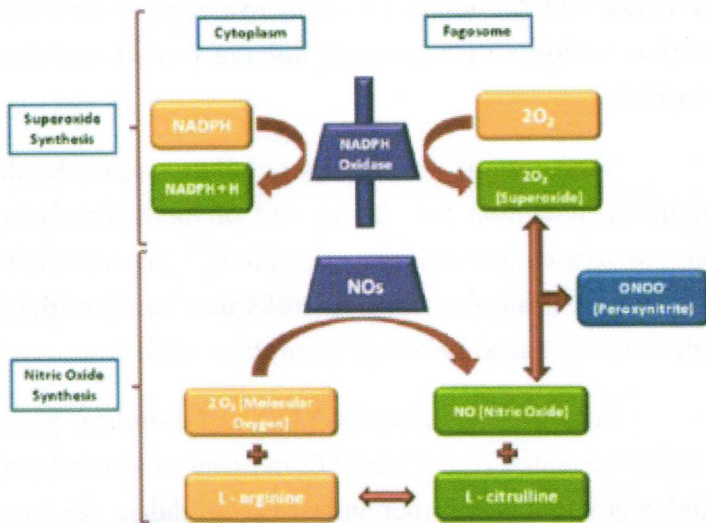
1.4.5 Superoxide Dismutase (SOD)

Superoxide Dismutase (SOD) merupakan enzim yang diproduksi pada sistem pertahanan antioksidan tubuh. Antioksidan merupakan bahan yang dapat

menekan radikal bebas atau senyawa yang melindungi sistem biologis dari potensi bahaya reaksi oksidasi berlebih.

SOD mengkatalisasi perubahan superoksida menjadi hydrogen peroksida dan oksigen. Produksi *reactive oxygen species* (ROS) ($O_2^{\cdot -}$ dan H_2O_2) mitokondria *host* dapat dihambat oleh antioksidan mitokondrial (glutathione dan superoxide dismutase – SOD).

Ada dua jenis enzim SOD mitokondria, yaitu MnSOD di matriks dan CuZnSOD di ruang antarmembran. Kedua enzim tersebut meregulasi $O_2^{\cdot -}$ di dalam sel *host*, dalam penelitian ini adalah sel makrofag, sebab ROS dapat menurunkan sinyal Akt untuk mengaktifkan faktor transkripsi NF kappa B. Aktivasi SOD akibat proses oksidasi NADPH juga mengaktifkan NO sehingga terjadi proses fagositosis (Gambar 1.12).



Gambar 1.12 Crosstalk aktivasi NO dan SOD pada proses fagositosis
(Sumber: Allen, et al., 2009)

Infeksi TB meningkatkan ROS sebagai akibat *respiratory burst* proses fagositosis *M.tuberculosis* oleh makrofag. Produksi ROS yang berlebih dapat menghambat aktivitas makrofag dan meningkatkan kerusakan jaringan akibat aktivasi berlebih Th1. Diperlukan kadar SOD lebih besar daripada ROS untuk menghambat kerusakan akibat *scavenger* (*M.tuberculosis*).

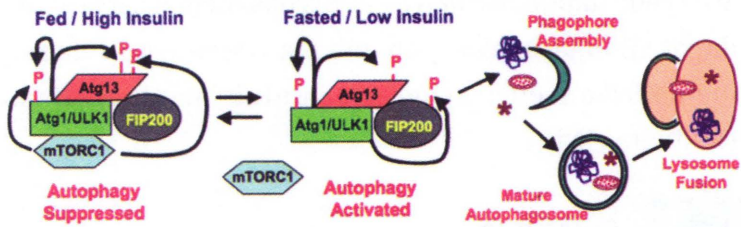
Gen KatG yang mengaktifkan pro-drug INH menjadi aktif, ternyata menghasilkan SOD yang berkontribusi pada efek mikobakterisidal INH. Penelitian Yilmaz tahun 2010 menyatakan bahwa metformin dapat meningkatkan

SOD pada tikus endometriosis. Berdasarkan hal tersebut, dapat diduga bahwa penambahan metformin dapat memberikan efek synergism untuk meningkatkan efektivitas INH.

1.5 Autofagia

Apoptosis dan nekrosis merupakan dua model utama kematian sel yang terjadi secara fisiologis. Autofagia, secara dominan, merupakan proses sitoprotektif yang terkait dengan apoptosis dan nekrosis. Autofagia dapat berfungsi ganda sebagai proses *pro-survival* dan *pro-death*.

Autofagia terjadi sebagai respons seluler terhadap stres, termasuk keterbatasan nutrisi (karbohidrat, asam amino dan factor-faktor pertumbuhan lain), *misfolded* protein dan stres *endoplasmic reticulum* (ER), patogen intraseluler – pada penelitian ini adalah *M.tuberculosis* dan *reactive oxygen species*. Autofagia merupakan bagian dari apoptosis sel, dalam penelitian ini makrofag-terinfeksi *M.tuberculosis* melibatkan aktivasi kompleks I dan PI3K, serta berikatan dengan caspase kemudian fagosome mengalami proses elongasi. Inisiasi autofagia, terutama oleh Ulk1/Atg1 dan fosforilasi ULK1 oleh AMPK (Gambar 1.13).

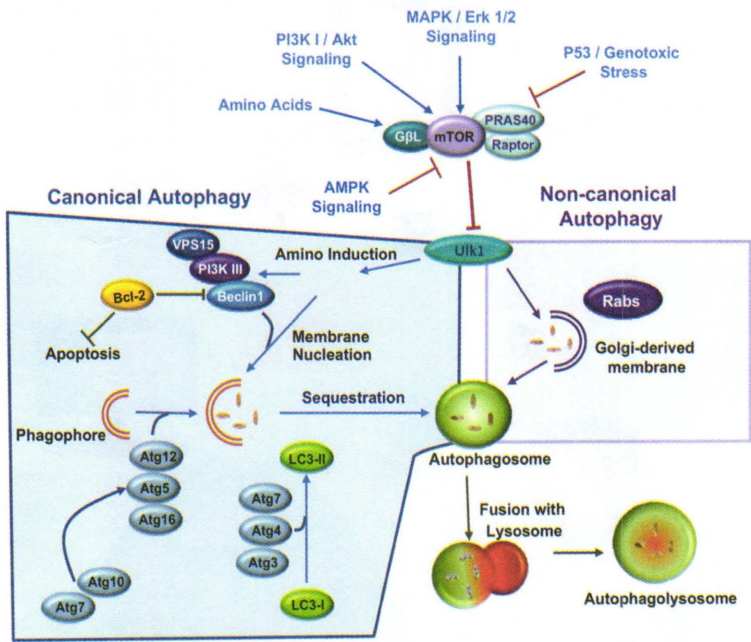


Gambar 1.13 Proses fosforilasi Atg1/ULK1 dan inisiasi kompleks Atg3
(Sumber: Roberta, et al., 2013)

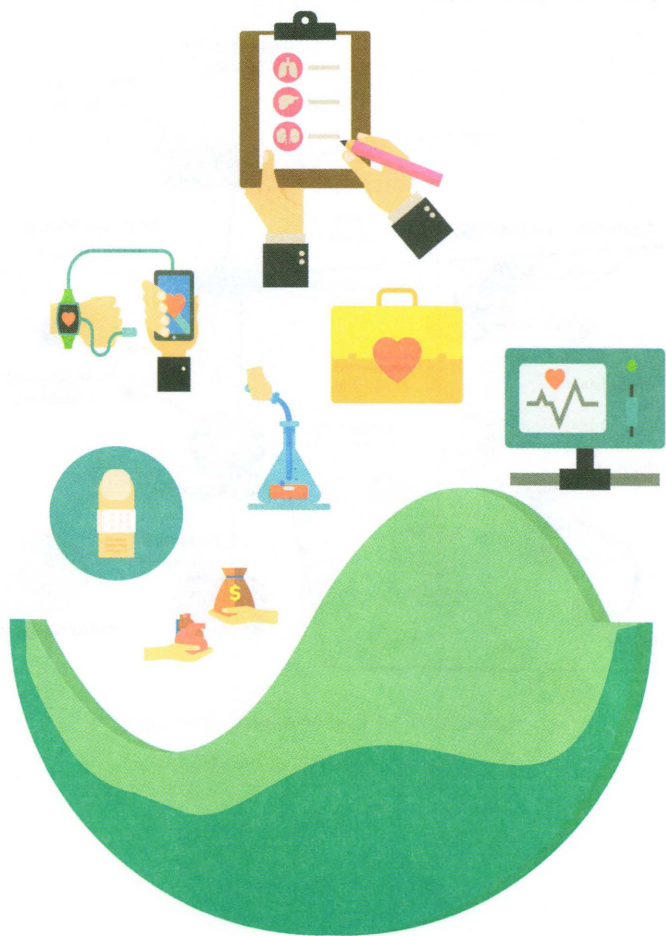
Proses elongasi memerlukan dua sistem *ubiquitin-like conjugation*, yaitu 1) sistem konjugasi ATG5–ATG12 dan 2) sistem konjugasi *microtubule-associated protein light chain 3* (LC3–ATG8) (Gambar 1.5.2). Delesi faktor penting (ATG 5–12) dapat menginaktivkan jalur *canonical* autofagia. LC3 menstimulasi proses *sequestration* dan transportasi sitosol portion menjadi *doublemembrane* sehingga terjadi ikatan fagosom matang dengan lisosom, kemudian terjadi proses fagolisosom atau lebih dikenal autofagia.

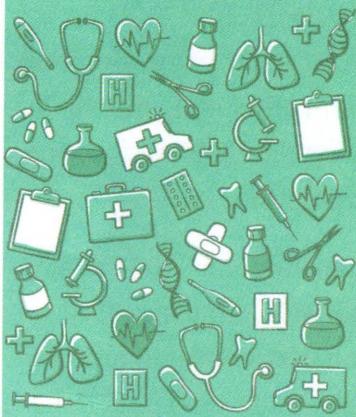
Autofagia pada infeksi *M.tuberculosis* merupakan respons gabungan sistem imun *innate* dan *adaptive host* yang sangat penting untuk proses eliminasi *M.tuberculosis*. *Microtubule-associated protein 1 light chain 3B* (MAP1LC3B/ATG8) merupakan *ubiquitine-like modifier* yang mempresentasikan autofagolisosom. Pada

penelitian MAP1LC3B merupakan marker elisa yang dipilih untuk mewakili autofagia.



Gambar 1.14 Proses makro-autofagia
(Sumber: Roberta, et al., 2013)





BAB 2

TERAPI TUBERKULOSIS

2.1 Anti Tuberkulosis

Pengobatan tuberkulosis bertujuan untuk menyembuhkan pasien, mencegah kematian, mencegah kekambuhan, memutuskan rantai penularan dan mencegah terjadinya resistensi kuman terhadap Anti tuberkulosis (OAT). *M.tuberculosis* merupakan kuman tahan asam yang sifatnya berbeda dengan kuman lain karena tumbuhnya sangat lambat dan cepat sekali timbul resistensi bila terpajan dengan satu obat sehingga pada pengobatan TB digunakan kombinasi beberapa jenis obat.

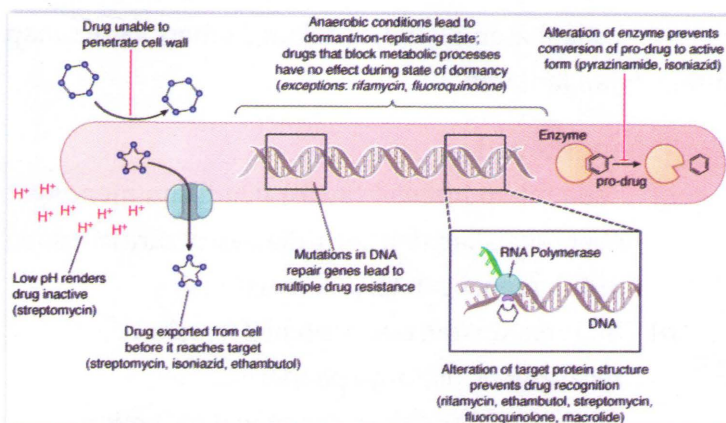
Anti tuberkulosis (OAT) yang digunakan untuk tuberkulosis digolongkan atas dua lini, yaitu lini pertama dan kedua. OAT kategori I adalah rifampicin, isoniazid, pyrazinamid, ethambutol dan streptomycin. Kelompok obat ini memperlihatkan efektivitas yang tinggi dengan

toksisitas yang dapat diterima. OAT lini II, yaitu antibiotik golongan fluoro-quinolon (ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, mofifloxacin), ethionamide, PAS, cycloserine, amikacin, kanamycin, dan capreomycin.

Tujuan pemberian terapi kombinasi OAT adalah 1) meningkatkan aktivitas bakterisida, dimulai sejak awal terapi; 2) mencegah resistensi obat; dan 3) meningkatkan proses eliminasi *M.tuberculosis* pada area terinfeksi. Isoniazid merupakan OAT dengan aktivitas bakterisida tertinggi di awal pengobatan TB yang menjadi lebih efektif bila dikombinasi bersama ethambutol, rifampicin, pyrazinamide dan streptomycin. Rifampicin memiliki kemampuan eliminasi *M.tuberculosis* yang tertinggi tetapi di sisi lain, Isoniazid dan rifampicin merupakan OAT yang sering mengalami resistensi. Pembahasan terkait OAT dilakukan pada subbab berikutnya. Resistensi OAT dapat terjadi melalui beberapa mekanisme (Gambar 2.1), yaitu:

- Ketidakmampuan OAT untuk melakukan penetrasi pada sel *M.tuberculosis* yang dindingnya mengandung banyak lipopolisakarida dan mannose;
- Kondisi anaerob menyebabkan *M.tuberculosis* menjadi *dormant* sehingga OAT, selain rifampicin dan fluoroquinolone, yang bertujuan menghambat proses metabolik menjadi tidak efektif pada kondisi *dormant*;

- Perubahan enzim yang bertanggung jawab mengaktifkan *pro-drug* (pyrazinamide dan isoniazid);
- Mutase DNA; dan
- Perubahan struktur protein target sehingga kemampuan rifampicin, ethambutol, streptomycin, fluoroquinolone dan macrolide sehingga menurunkan *efficacy* OAT.



Gambar 2.1 Mekanisme resistensi OAT terhadap *M.tuberculosis*

(Sumber: Bruton, et al., 2011)

Rifampicin menghambat *M.tuberculosis* (*in vitro*) pada konsentrasi 0.06-0.25 mg/L. Prevalensi resistensi rifampicin terjadi pada 1 di setiap 10^7 - 10^8 bacilli *M.tuberculosis*. Pyrazinamide memiliki aktivitas antimikrobal activity *in vitro* pada pH asam 5.8-5.95 dan 80-90% isolate klinis memiliki *minimal inhibitory concentration* (MIC) 100 mg/L. Resistensi pyrazinamide

terjadi akibat *single point mutations* (*pncA* gene). Daya hambat minimal atau MIC isoniazid adalah 0.025-0.05 mg/L dan prevalensi resistensi isoniazide terjadi pada 1 di setiap 10^6 *bacilli*. Daya hambat ethambutol adalah 0.5-2 mg/L dan resistensi terjadi akibat mutase gen *embB*. Berdasarkan hal tersebut, untuk mencegah resistensi OAT maka terapi TB diberi kombinasi.

Pengobatan TB diberi dalam 2 tahap, yaitu tahap intensif dan lanjutan.

1. Tahap Intensif :

- a) Pada tahap intensif (awal) penderita mendapat obat setiap hari dan perlu diawasi secara langsung untuk mencegah terjadi resistensi;
- b) Bila pengobatan tahap intensif tersebut diberikan secara tepat, biasanya penderita menular menjadi tidak menular dalam kurun waktu 2 minggu.
- c) Sebagian besar penderita TB BTA positif menjadi BTA negatif (konversi) dalam 1-2 bulan.

2. Tahap Lanjutan : Pada tahap lanjutan penderita mendapat jenis obat lebih sedikit, tetapi dalam jangka waktu yang lebih lama. Tahap lanjutan penting untuk membunuh kuman *persister* (*dormant*) sehingga mencegah kekambuhan.

Tabel 2.1 Dosis Rekomendasi Anti TB kategori I
untuk dewasa (WHO, 2011)

Anti TB lini I	Dosis Rekomendasi			
	Harian		3 kali/minggu	
	Dosis (mg/ kgBB)	Maksimum (mg)	Dosis (mg/ kgBB)	Maksimum (mg)
Isoniazid	5 (4-6)	300	10 (8-12)	900
Rifampicin	10 (8-12)	600	10 (8-12)	600
Pyrazinamide	25 (20-30)	-	35 (30-40)	-
Ethambutol	15 (15-20)	-	30 (25-35)	-

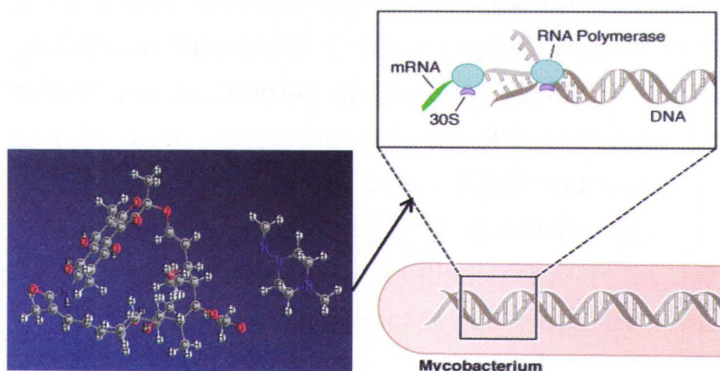
Terapi kategori 1 mendapatkan 2HRZE/4H3R3, yaitu pada **tahap intensif** setiap hari selama 56 hari R (Rifampicin), H (INH), Z (Pyrazinamide) dan E (Ethambutol). Pada **tahap lanjutan**, 3 kali seminggu selama 16 minggu RH. Dapat ditambahkan 1 bulan terapi sisipan. Terapi kategori 2 mendapatkan 2HRZES/HRZE/5H3R3E3, yaitu **tahap intensif** selama 56 hari mendapatkan HRZES (Streptomycin) dan 28 hari mendapatkan HRZE, serta **tahap lanjutan** tiga kali seminggu selama 20 minggu mendapatkan terapi HRE (Tabel 2.1). Pada penelitian ini subyek penelitian adalah pasien TB baru sehingga mendapat terapi OAT kategori I.

Beberapa mekanisme resistensi *M.tuberculosis* terhadap terapi anti TB lini pertama, adalah 1) *M.tuberculosis* memiliki kemampuan untuk mutasi DNA sehingga dinding sel *M.tuberculosis* tidak mudah dirusak oleh rifampicin dan ethambutol 2) mengakumulasi lemak

sehingga INH tidak dapat menghambat sintesis dinding sel *M.tuberculosis*.

2.1.1 Rifampicin

Rifampicin merupakan anti TB yang berasal dari derivat semisintetis rifamycin. Target kerja rifampicin secara spesifik mengikat sub unit β enzim *RNA polymerase* (Gambar 2.2), mengakibatkan hambatan transkripsi dan menyebabkan kematian *M.tuberculosis*. Resistensi rifampicin dapat terjadi akibat mutasi DNA-*dependent RNA polymerase* (*rpoB*) gen penyandi β enzim *RNA polymerase* sehingga ikatan rifampicin dan *RNA polymerase* menurun.



Gambar 2.2 Struktur bangun dan target kerja Rifampicin
(Sumber: Brunton, et al., 2011)

Rifampicin memengaruhi sistem imun *host* melalui penghambatan $\text{NF}\kappa\beta$ dan $\text{PPAR}\gamma$. Metformin dapat

meningkatkan ekspresi *organic cation transporter* (OCT)-1 rifampicin yang berperan penghambatan transkripsi *M.tuberculosis*.

Rifampicin diabsorpsi dengan baik di saluran cerna dan diekskresi sebagian besar oleh hepar melalui sekresi empedu kemudian menuju sirkulasi enterohepatik serta dikeluarkan bersama *faeces*. Rifampicin bersifat hepatotoksik, sedangkan pada pasien dengan gangguan hepar (penyakit hepar kronis, *alcoholism*, pasien lanjut usia) rifampicin sering kali menyebabkan gangguan hepar semakin parah. Efek samping rifampicin antara lain mual muntah, demam dan *rash* kulit hingga hemolisis, hemoglobinuria, hematuria, renal *insufficiency*, dan gagal ginjal akut. Rifampicin dosis tinggi seyogyanya tidak diberikan lebih dari tiga kali seminggu, hal tersebut dikaitkan dengan efek samping *interstitial nephritis*, *acute tubular necrosis*, *thrombocytopenia*, *hemolytic anemia*, dan syok.

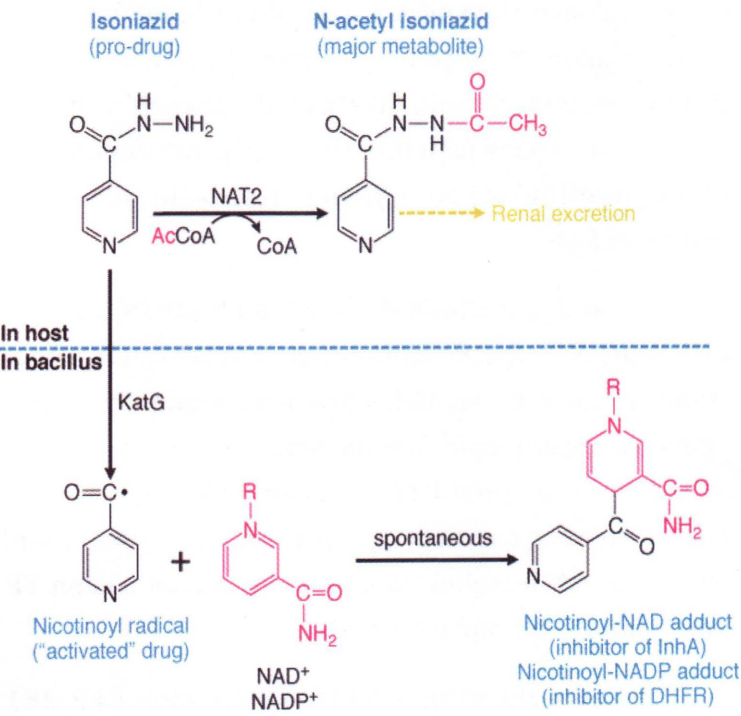
Rifampicin dimetabolisme di sitokrom P450 (Cyp 1A2, 2C9, 2C19, dan 3A4) dan merupakan enzim *inducer* yang dapat menyebabkan interaksi obat, antara lain menurunkan efektivitas KB hormonal yang mengandung estrogen, anti virus (*HIV protease* dan *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors*), obat jantung (digoxin, propranolol, verapamil, metoprolol, quinidine), anti

jamur (ketoconazole, fluconazole), anti dyslipidemia (clofibrate), methadone, cyclosporine, corticosteroids, antikoagulan (coumarin), theophylline, barbiturates, halothane, oral anti diabetes golongan sulfonyleureas, thiazolidinediones dan *dipeptidyl peptidase-4 inhibitors*.

2.1.2 Isoniazid

Isoniazid (INH) merupakan anti TB primer yang memiliki target kerja menghambat sintesis *mycolic acid* dinding sel. Isoniazid merupakan pro-drug yang memerlukan produk toksik *M.tuberculosis*, yaitu gen struktural Kat-G penyandi enzim *catalase peroxidase* (Gambar 2.3). Bentuk aktif isoniazid membentuk kompleks kovalen dengan *acyl carrier protein* (AcpM) dan β -*ketoacyl acyl carrier protein synthase* (KasA), yang kemudian menghambat sintesis *mycolic acid* dan membunuh *M.tuberculosis*. Aktivasi KatG juga menghasilkan superoxide, H_2O_2 , alkyl hydroperoxides dan radikal yang berkontribusi pada efek mikobakterisidal INH. Patogen *M.tuberculosis* dapat mengalami kematian akibat radikal bebas dan oksidatif stres yang dihasilkan oleh makrofag *host*, tetapi *M.tuberculosis* melakukan mekanisme pertahanan dengan mengeluarkan alkyl hydroperoxide reductase (dikode *ahpC*) yang berfungsi mendetoksifikasi radikal bebas tersebut. Peningkatan ekspresi *ahpC* dapat menurunkan efektivitas INH.

Superoxide dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim yang dikode oleh NF kappa B makrofag *host* dan digunakan untuk menetralkan radikal bebas yang dihasilkan pada proses fagositosis. Penurunan SOD diduga dapat menurunkan efektivitas INH.



Gambar 2.3 Struktur Bangun, Aktivasi dan Target Kerja Isoniazid
(Sumber: Brunton, et al., 2011)

Farmakokinetik isoniazid diabsorpsi di saluran cerna, didistribusikan secara luas ke cairan dan jaringan tubuh. Isoniazid mengalami metabolisme asetilasi oleh

N-acetyl transferase hepar, proses ini dipengaruhi genetik. Komponen aktif dapat menghambat enzim *enoyl-ACP (CoA) reductase* yang disandi oleh gen *inhA* pada NAD^+ yang berperan pada *elongasi fatty acids* rifampin (RIF). Beberapa penyebab resistansi isoniazid adalah 1) mutasi gen *katG* dan *inhA*, yang dapat terjadi pada setiap 1×10^6 CFU/ml koloni *M.tuberculosis*; serta 2) penurunan SOD. Penambahan metformin diketahui dapat meningkatkan SOD sehingga pada penelitian ini metformin diharapkan dapat meningkatkan *efficacy* isoniazid terhadap *M.tuberculosis*.

Isoniazid dimetabolisme oleh enzim *hepatic arylamine N-acetyltransferase type 2 (NAT2)*. *Clearance* isoniazid pada pasien diklasifikasikan menjadi tiga grup *phenotypic*, yaitu *rapid*, *intermediate* dan *slow acetylators*. Sebagian besar populasi termasuk dalam grup *rapid acetylators* yang terkait dengan peningkatan metabolisme isoniazid. Hal tersebut dapat menyebabkan pasien TB mengalami subterapi isoniazid.

Isoniazid yang dimetabolisme oleh CYP 2E1 menghasilkan metabolit yang bersifat hepatotoksik. Interaksi rifampicin dan *slow acetylators* isoniazid dapat meningkatkan potensi isoniazid *neurotoxicity*. Peningkatan serum aspartate dan alanine transaminases

biasa terjadi pada pasien yang mendapat isoniazid, tetapi hanya ~0.1% yang mengalami *severe hepatic injury*.

2.1.3 Pyrazinamide

Pyrazinamide diaktivasi pada suasana asam, sehingga dapat diasumsikan pyrazinamide efektif bekerja di dalam fagosom makrofag yang bersuasana asam, tetapi pada jaringan kavitas suasana asam hanya pada ujung area kavitas nekrosis.

Basil *M.tuberculosis* menghasilkan *nicotinamidase* atau *pyrazinaminidase* yang mengdeaminasi pyrazinamide menjadi asam pyrazinoic (POA⁻) yang kemudian ditransport ke ekstraseluler melalui *efflux pump*. Protonated POA⁻ kemudian direabsorpsi ke dalam basil *M.tuberculosis* dalam bentuk lebih *lipid-soluble*. Mekanisme pyrazinamide mengeradikasi *M.tuberculosis* hingga saat ini belum jelas, tetapi dibagi menjadi tiga teori, yaitu 1) menghambat sintesis asam mycolic; 2) menurunkan intraseluler *M.tuberculosis* pH; dan 3) mengganggu transport HPOA. Salah satu penyebab resistensi pyrazinamide adalah mutasi gen penyandi pyrazinaminidase (*pncA*). Pyrazinamide tidak dapat menghambat replikasi *M.tuberculosis* bila diberikan tanpa rifampicin dan isoniazid.

Liver injury sering terjadi pada pasien yang mendapat terapi pyrazinamide, ~15% pasien terdapat tanda dan gejala, seperti *jaundice*, 2-3% meninggal akibat *hepatic necrosis*. Pyrazinamide juga menghambat ekskresi urat sehingga menyebabkan hyperuricemia pada hampir semua pasien dan dapat menyebabkan *acute episodes of gout*. Selain itu, pyrazinamide dapat menyebabkan *arthralgias, anorexia, nausea - vomiting, dysuria, malaise*, dan demam. Pyrazinamide seyogyanya tidak diberikan pada ibu hamil.

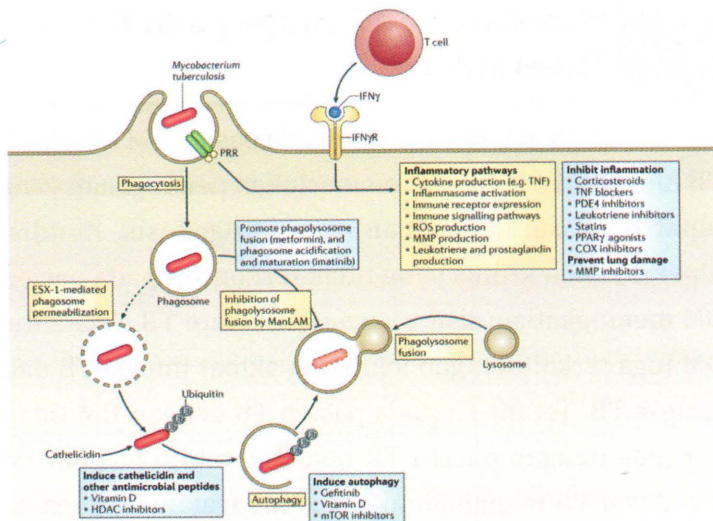
2.1.4 Ethambutol

Ethambutol menghambat arabinosyl transferase III yang mengkode gen biosintesis arabinogalactan yang merupakan faktor biosintesis dinding sel *M.tuberculosis*. Efek samping ethambutol adalah demam, optic neuritis yang dapat menyebabkan gangguan penglihatan, peripheral neuritis, *pruritus, joint pain, abdominal pain, malaise, headache, dizziness, mental confusion, disorientation* dan halusinasi.

2.2 *Host-Directed Therapy* pada Terapi Tuberkulosis

Strategi terapi optimal pada pasien DM terinfeksi TB hingga saat ini masih memerlukan penanganan yang tepat berdasarkan mekanisme patogenesis. Kondisi hiperglikemia kronis yang tidak terkontrol pada pasien DM meningkatkan risiko kegagalan terapi TB. Selain itu, DM juga terkait dengan kematian akibat infeksi TB dan *relapse* TB. Terapi TB pada pasien TB dengan DM tidak berbeda dengan pasien TB non DM, tetapi pasien DM terinfeksi TB menghadapi risiko mengalami kegagalan terapi yang meningkat 1,69 kali.

Identifikasi *host-directed* terapi baru yang bertujuan memperbaiki *outcome* klinis pasien TB merupakan prioritas WHO. Terapi *adjuvant* tersebut bertujuan, yaitu 1) mempersingkat durasi pengobatan tuberkulosis; 2) mencegah resistensi dan mengurangi kerusakan jaringan paru melalui peningkatan autofagia, produksi peptida antimikroba; 3) perubahan mekanisme efektor makrofag dan modifikasi mekanisme spesifik untuk mencegah inflamasi paru dan destruksi matriks; dan 4) beberapa obat yang bekerja pada regulasi imunitas (Gambar 2.4).



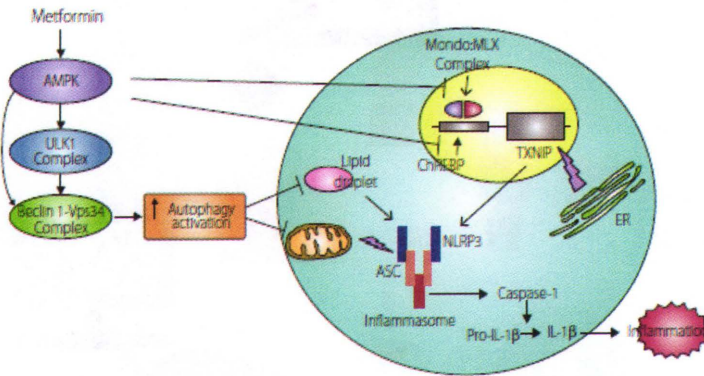
Gambar 2.4 Potensial obat *host-directed* untuk infeksi TB

(Sumber: Wallis, et al., 2015)

Beberapa penelitian interaksi *additive* farmakodinamik telah dilakukan pada obat yang tidak memiliki efek bakterisida *M.tuberculosis* tetapi bekerja pada regulasi imunitas yang diduga memiliki potensi meningkatkan efek bakterisida OAT, antara lain agen immunomodulator seperti corticosteroids, TNF *blockers*, thalidomide, non-steroidal anti-inflammatory (NSAIDs).

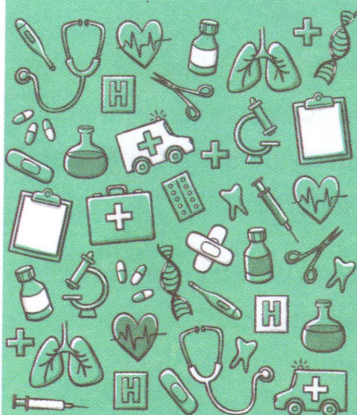
Metformin pada penelitian yang telah dilakukan *in silico*, *in vitro* dan *in vivo* pada hewan dinyatakan sebagai kandidat penting *adjunct* terapi OAT, meningkatkan efficacy OAT dan menurunkan resistensi. Pada penelitian ini metformin diduga berpotensi sebagai *additive* yang

dapat meningkatkan efek bakterisida OAT melalui 1) peningkatan SOD; 2) induksi autofagia sebagai salah agen potensial mTOR *inhibitor* melalui aktivasi AMPK; dan 3) induksi autofagia melalui stimulasi IFN- γ (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Mekanisme metformin mencegah inflamasi
(Sumber: Singhal, et al., 2016)





BAB 3

DIABETES MELLITUS DAN TUBERKULOSIS

3.1 Patogenesis Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) disebabkan karena fungsi pankreas tidak memproduksi insulin yang cukup atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif. DM sering kali ditandai dengan kondisi hiperglikemia kronis.

Hiperglikemia adalah kondisi peningkatan kadar glukosa dalam darah yang dapat berlangsung akut dan kronis. Hiperglikemia dapat disebabkan oleh berbagai sebab yang bila berlangsung kronis dapat menimbulkan berbagai komplikasi. Hiperglikemia kronis yang persisten dapat diukur dengan A1c, sebagian besar disebabkan oleh DM.

Hiperglikemia kronis merupakan salah satu gejala penderita DM. Diabetes Mellitus tipe 2 merupakan tipe diabetes yang angka kejadiannya lebih tinggi

dibandingkan dengan DM tipe 1. Hiperglikemia kronis pada DM tipe 2 terjadi akibat resistensi reseptor insulin. Seseorang dapat dikatakan mengalami DM bila hasil tesnya memenuhi diagnostik, seperti:

- a. Tanda dan gejala diabetes (poliuria, polidipsia, ketonuria, dan kehilangan berat badan) dengan kadar plasma glukosa ≥ 200 mg/dL.
- b. Gula darah puasa ≥ 126 mg/dL.
- c. $HbA_{1c} \geq 6,5\%$
- d. Setelah pemberian glukosa secara oral (75 g glukosa untuk dewasa atau 1,75 g/kg untuk anak-anak), kadar plasma glukosa ≥ 200 mg/dL.

Resistensi reseptor insulin merupakan salah faktor penyebab DM tipe 2, hal tersebut disebabkan ketidakmampuan reseptor insulin mengenali insulin. Resistensi reseptor insulin terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu 1) *post receptor defect* sehingga terjadi hiperinsulinemia sekunder; 2) Penurunan jumlah reseptor insulin yang berkaitan dengan mutasi gen HNF 1 α , gen HNF 4 α , dan gen HNF 1 β , serta penurunan produksi GLUT-4; 3) Keadaan *glucotoxicity* yang disebabkan oleh hiperglikemia kronis yang meningkatkan proses glikogenolisis dan glukoneogenesis. Berdasarkan patofisiologi tersebut, terapi DM tipe 2 dikelompokkan menjadi 1) *secretagogues insulin*, 2) memperbaiki sensitivitas reseptor insulin dan

3) menghambat pemecahan glukosa. Keadaan *glucotoxicity* selalu dikaitkan dengan peningkatan trigliserida dan asam lemak dalam darah (dislipidemia), sedangkan dislipidemi kronis dapat memicu terjadi *lipotoxicity*, kedua keadaan tersebut dapat memengaruhi kerja sel-jaringan-organ tubuh. Pada tingkat sel yang paling berpengaruh adalah mitokondria sel β pankreas yang dapat menyebabkan penurunan produksi ATP, kemudian terjadi keadaan hipoksia dan menyebabkan apoptosis sel β pankreas.

Hiperglikemia, di sisi lain, juga dapat terjadi karena gangguan sistem saraf otonom yang mengganggu rilis insulin, gangguan pada kelenjar adrenal akibat penyakit, misal penyakit Cushing atau karena penggunaan obat golongan glucocorticoid. Hiperglikemia dapat juga merupakan efek samping obat, misalnya golongan loop diuretic (Furosemid) dan Thiazid (HCT), golongan opioid, golongan β -adrenegik agonis. Selain itu, obesitas dan *chronic obstructive pulmonary diseases* (COPD) merupakan faktor predisposisi DM, terutama karena peningkatan *free fatty acid* (FFA) dapat menyebabkan inflamasi dan kerusakan pankreas.

3.1.1 Kerusakan Molekuler akibat Hiperglikemia

Hiperglikemia menyebabkan kerusakan molekuler akibat proses metabolisme, perubahan tersebut dapat bersifat *reversible* dan *irreversible*. Kondisi perubahan metabolisme yang bersifat *reversible* akibat hiperglikemia, yaitu metabolisme sorbitol intraseluler yang dapat meningkatkan sintesis *de-nove diasilgliserol* (DAG), sintesis dan aktivasi protein kinase C (PKC), penurunan kadar $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase.

Peningkatan kadar glukosa baik di dalam sel maupun di jaringan menyebabkan aktivitas jalur glikolisis meningkat berlebihan dan jaringan mengaktifkan jalur sorbitol. Glukosa di dalam sel diubah menjadi sorbitol oleh enzim aldose reduktase. Peningkatan sorbitol jaringan menyebabkan peningkatan tekanan osmotik sehingga menyebabkan pembengkakan dan kerusakan sel terutama endotel.

Hiperglikemia mengaktifkan sebagian besar jalur biokimia yang berperan penting terjadinya komplikasi DM, diantaranya 1) memicu aktivitas jalur poliol, menyebabkan akumulasi sorbitol dan fruktosa, 2) meningkatkan pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs), yaitu glikosilasi non enzimatis protein, dan 3) aktivasi PKC dan $\text{NF}\kappa\beta$. Hiperglikemia menyebabkan lemak

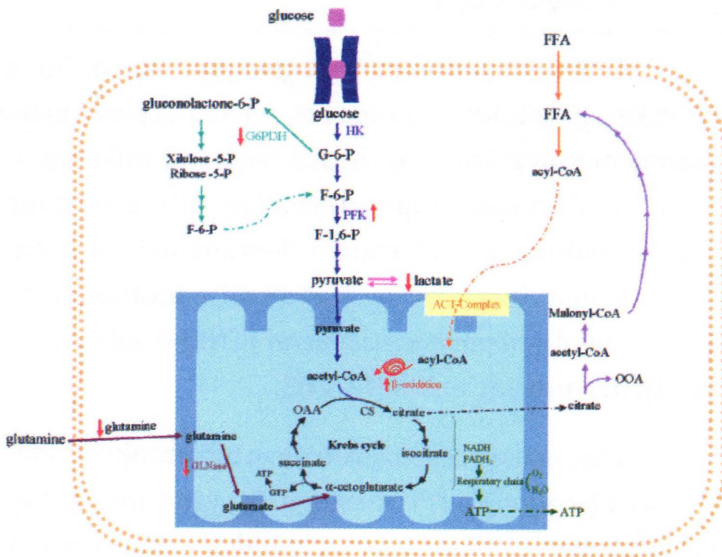
dan protein mengalami glikosilat secara non enzimatis membentuk basa Schiff yang kemudian membentuk *Amadori products*, senyawa karbonil yang reaktif dan beraksi dengan gugus amino bebas dan kemudian membentuk AGEs yang dapat mengganggu fungsi endotel melalui induksi proses koagulasi yang menimbulkan thrombosis dan merangsang substansi vasokonstriktor, yaitu *vascular endothelial growth factor* (VEGF).

3.1.2 Diabetes Mellitus dan Penurunan Respons Imun

Hiperglikemia dapat mengganggu respons imun tubuh karena terjadi beberapa hal, seperti 1) penurunan respons mikrovaskulaer terhadap mediator inflamatori seperti penurunan respon terhadap rilis histamine dan bradykinin; 2) penurunan degranulasi sel *mast*; 3) penurunan interaksi *leukocyte*-sel endotelial; 4) penurunan rilis *tumor necrosis factor* (TNF)- α , *interleukin* (IL)-1 β dan prostaglandin (PG)-E₂.

Hiperglikemia mengakibatkan terbentuk senyawa *Advance Glycation End Products* (AGEs) yang merupakan reaksi nonenzimatis antara karbohidrat dengan lemak dan protein yang teroksidasi (Alikhani Z., 2005). Interaksi AGEs dengan reseptor AGEs mengaktifkan adenilat siklase dan fosforilasi Protein Kinase-A (PKA) serta memengaruhi

cyclic adeno-monophosphat (cAMP) response element binding (CREB). Aktivasi CREB memengaruhi disfungsi neutrophil, salah satu makrofag terbanyak dalam tubuh sehingga kondisi hiperglikemia pasien DM menyebabkan gangguan aktivasi dan kemotaksis makrofag. Hiperglikemia juga menyebabkan gangguan perfusi jaringan akibat peningkatan rilis *hypoxia inducible factor- α* (HIF- α) *subunits*, HIF- α merupakan faktor induksi rilis iNOS yang dapat mengganggu kemampuan dilatasi vaskuler (Gambar 3.1).



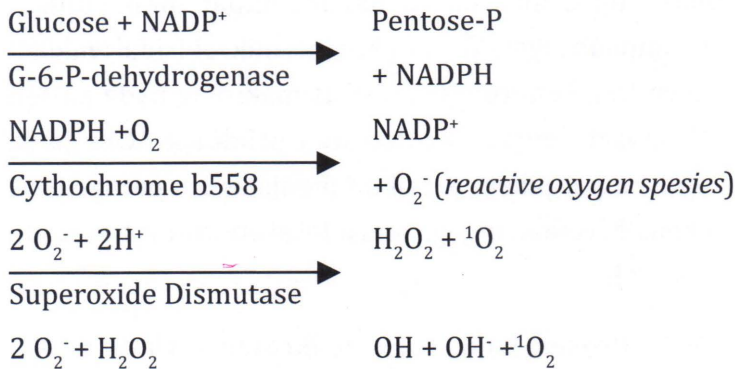
Gambar 3.1. Efek Diabetes Mellitus pada metabolisme *Neutrofil*

(Sumber: Munhoz, et al., 2007)

Makrofag memiliki peranan penting pada respons inflamasi saat terjadi infeksi. Pada pasien DM aktivitas kemotaktik neutrofil signifikan lebih rendah dibanding orang sehat, hal ini dapat menurunkan kemampuan fagositik dan aktivitas mikrobisidal leukosit pasien DM. Penurunan aktivitas makrofag pada pasien DM terkait dengan peningkatan produksi AGEs pada kondisi hiperglikemia. Hal ini menjelaskan patogenesis pasien DM rentan mengalami infeksi oportunistik termasuk infeksi TB.

Proses fagositosis makrofag terjadi reaksi biokimia proses oksidatif yang melibatkan glukosa dan menghasilkan ROI. Proses selanjutnya, ROI oleh SOD dan enzim katalase dinetralkan menjadi H_2O dan O_2 (Gambar 3.1). Pada kondisi hiperglikemia kronis yang dialami pasien DM, makrofag menjadi lebih sulit dalam melakukan proses fagositosis patogen, hal ini terkait karena produksi ROI yang berlebihan, kemudian terjadi peningkatan *oxidative burst* yang dapat mengganggu aktivitas membunuh bakteri. Selain memerlukan bantuan ATP pada proses fagositosis, makrofag juga memerlukan glutamine, asam amino *abundant* yang diproduksi di otot, paru dan liver serta banyak terdapat di plasma dan otot rangka (Gambar 3.1). Glutamine merupakan hasil konversi glutamate, aspartate, lactate dan CO_2 .

Proses fagositosis makrofag terjadi reaksi biokimia proses oksidatif yang melibatkan glukosa dan menghasilkan reaksi berikut.



Reactive oxygen spesies (ROI) merupakan hasil proses oksidatif metabolisme glukosa. Produksi ROI yang berlebihan dapat menyebabkan *oxidative burst* dan mengganggu proses fagositosis. Hiperglikemia kronis yang dialami oleh pasien DM meningkatkan ROS, glukosa tidak dapat diubah secara efektif menjadi ATP dan lactate oleh sel terjadi peningkatan glutamin.

3.2 Patogenesis Diabetes Mellitus Terinfeksi Tuberkulosis

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu faktor risiko tersering pada pasien tuberkulosis (TB) paru. Saat ini, prevalensi terjadinya TB paru meningkat

seiring dengan peningkatan prevalensi pasien DM (Cahyadi, 2011). Hiperglikemia mengganggu aktivitas *innate immunity* tetapi terjadi hiperaktivitas *adaptive immunity*. Hal ini merugikan pada infeksi TB, sebab sel Th1 meningkatkan rilis IFN- γ yang memiliki peran dominan pada reaksi *delayed type hypersensitivity* (DTH)/hipersensitif tipe lambat. Paparan *M.tuberculosis* secara terus-menerus serta berkelanjutan dan kondisi hiperglikemia dapat mempercepat proses pembentukan granuloma. Berdasarkan hal tersebut, diduga kerusakan jaringan paru dan pembentukan kavitas lebih mudah terjadi pada pasien DM yang tidak terkontrol. Kondisi hiperglikemia menyebabkan perubahan ekspresi dan sensitivitas TLR terhadap *M.tuberculosis*, hal ini menyebabkan makrofag *host* tidak efektif melakukan fagositosis.

Pada proses fagositosis makrofag terjadi reaksi biokimia proses oksidatif yang melibatkan glukosa dan menghasilkan ROI, produksi ROI yang berlebihan dapat menyebabkan *oxidative burst* dan mengganggu proses fagositosis. Keadaan hiperglikemia cenderung terbentuk sorbitol oleh enzim aldose reduktase dengan bantuan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH). Peningkatan penggunaan NADPH untuk membentuk sorbitol menyebabkan penurunan aktivitas makrofag membunuh patogen. Aspek fungsi PMNL yang terganggu

pada proses fagositosis digolongkan menjadi beberapa tahap, yaitu:

- **Aktivasi** : Makrofag teraktivasi oleh berbagai mediator inflamasi seperti produk mikroba, protein komplemen, sitokin proinflamasi dan prostaglandin. Makrofag memproduksi TLR di permukaan, terutama TLR-2 untuk meningkatkan kemampuan menangkap dan mengenali *M.tuberculosis* yang dinding mengandung banyak lipopolisakarida dan mannose. Ikatan tersebut mengaktifkan faktor transkripsi NF kappa B yang meningkatkan metabolisme dan efek mikrobisidal melalui peningkatan produksi ATP, enzim-enzim lisosom dan oksidan letal.
- **Kemotaksis** : Pergerakan sel fagosit karena adanya zat penarik (*attractant*) dari dinding *M.tuberculosis* dan aktivasi komplemen sel *host*.
- **Penangkapan (*attachment*)** : Proses penangkapan dapat terjadi melalui opsonisasi terlebih dahulu maupun tidak. Beberapa zat yang terdapat pada dinding *M.tuberculosis*, seperti peptidoglikan, lipopolisakarida dan mannose dapat menyebabkan *attachment* tanpa opsonisasi.
- **Penelanan (*ingestion*)** : setelah terjadi *attachment*, filamen aktin membentuk pseudopodia yang

melingkupi kemudian menelan mikroba dan menempatkannya pada suatu fagosom. Di dalam fagosom terjadilah proses survival dari *M.tuberculosis* *Host* memerlukan zat besi sebagai kofaktor untuk menimbulkan mekanisme degradasi patogen yang terfagosit, sedangkan *M.tuberculosis* memerlukan zat besi untuk kelangsungan hidupnya. *M.tuberculosis* membuat beberapa strategi agar kebutuhan zat besi dapat terpenuhi, yaitu 1) mencegah maturasi dari fagosom pada kondisi endosom awal sehingga *M.tuberculosis* dapat mengakses langsung zat besi yang ada pada endosom tersebut; 2) memproduksi enzim *siderophores* yang memiliki afinitas tinggi terhadap zat besi intraseluler dan memindahkannya dari protein *host* ke enzim *mycobactin* pada dinding sel *M.tuberculosis*. Fagosom yang mengandung mikroba selain *M.tuberculosis* akan meneruskan maturasinya sehingga menjadi semakin asam. Kondisi yang asam ini akan memicu terjadinya fusi dengan lisosom yang banyak mengandung enzim hidrolisa. Di samping itu fagosom yang *mature* juga menghasilkan oksigen dan nitrogen reaktif yang fatal bagi *M.tuberculosis*. Penghambatan proses maturasi ini menyebabkan *M.tuberculosis* selamat dari degradasi oleh lisosom. Metformin diduga berperan dalam proses maturase fagosom.

- **Destruksi** : Sel fagosit memiliki kantung yang disebut lisosom dan mengandung berbagai enzim digestif, zat kimia mikrobisidal dan oksigen radikal yang toksik. Lisosom kemudian berfusi dengan fagosom mengakibatkan destruksi mikroba.

Amatlah penting melakukan regulasi kondisi hiperglikemia secara cepat, terutama pada pasien DM dengan infeksi tuberkulosis, sebab normalisasi kadar gula darah dapat meningkatkan fagositosis makrofag dalam 24 jam.

3.3 Terapi Tuberkulosis pada Pasien Diabetes Mellitus

Prinsip pengobatan TB paru pada pasien DM serupa dengan yang bukan pasien DM dengan syarat kadar gula darah terkontrol. Prinsip pengobatan dengan obat anti tuberkulosis (OAT) dibagi menjadi dua fase, yaitu fase intensif yang berlangsung selama 2-3 bulan dan dilanjutkan dengan fase lanjutan selama 4-6 bulan. Terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam memberikan pengobatan TB paru pada pasien DM, salah satunya adalah kontrol kadar gula darah dan efek samping OAT. Obat lini pertama yang biasa digunakan adalah isoniazid, rifampisin, pirazinamid, etambutol, dan streptomycin (Cahyadi, 2011).

Kombinasi rifampicin dengan golongan sulfonilurea (glibenclamide, glimepiride, glipizide), golongan *dipeptidyl peptidase-4 inhibitors* (sitagliptin) dan golongan thiazolidinediones (rosiglitazone, pioglitazone) seyogyanya tidak diberikan pada pasien DM yang terinfeksi TB sebab rifampicin meningkatkan metabolisme obat golongan tersebut sehingga mengurangi efektivitas OAD. Khusus golongan sulfonilurea, interaksi dengan rifampicin terjadi karena metabolisme ke dua obat tersebut terjadi di CYP2C9.





BAB 4

METFORMIN SEBAGAI KANDIDAT HOST- DIRECTED TERAPI PADA PASIEN DIABETES MELLITUS DAN TUBERKULOSIS

4.1 Metformin

4.1.1 Farmakokinetik dan Farmakodinamik Metformin

Metformin merupakan *hydrochloride salt* biguanide yang terdiri dari komponen molekul $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ (*N,N*-Dimethylimidodicarbonimidic diamide). Metformin tidak dimetabolisme, terdistribusi secara luas ke seluruh jaringan tubuh termasuk usus, hepar dan ginjal serta diekskresi dalam bentuk *unchanged* di ginjal. Metformin mengalami proses metilasi berikatan dengan monoamine transporter, kelompok *organic cation transporter* (SLC 29A4/ SLC 22A1/ SLC 47A1) kemudian berperan pada reaksi redoks proses sintesis DNA dan menstimulasi AMPK melalui penghambatan

reaksi *mitochondrial complex I* dan aktivasi *mitochondrial reactive nitrogen species* (RNS) serta *phosphoinoside-3-kinase* (PI3K) (Gambar 4.1).

Metformin merupakan ikatan kompleks ion Carbon, Nitrogen dan Hidrogen, serta merupakan salah satu *oral anti diabetic* pada pasien DM tipe-2 yang bekerja melalui aktivasi AMPK dan bertujuan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin melalui peningkatan kinerja IRS. Pengaktifan AMPK dapat menghambat pemecahan asam lemak dan menghambat *hepatic* glukoneogenesis dan glikogenolisis. Penghambatan terhadap proses glukoneogenesis dan glikogenolisis dapat meningkatkan *uptake* glukosa tetapi juga meningkatkan produksi asam laktat, terutama bila terjadi proses metabolisme glukosa anaerob. Selain itu, metformin dapat meningkatkan aktivitas insulin pada muskuloskeletal dan liver dengan berolahraga atau melakukan aktivitas fisik sehingga meningkatkan kebutuhan energi dan respons metabolisme di seluruh tubuh.

[illegible]

(AMP) yang berkontribusi pada aktivitas AMPK. Produksi ROS merupakan hasil penghambatan mitochondrial complex I dan mencetuskan *integrated stress response* (ISR) melalui aktivasi *double-stranded ribonucleic acid* (DNA)-*activated protein kinase-like endoplasmic reticulum* (ER) kinase di mitokondria, kemudian terjadi fosforilasi dan transkripsi DNA. Metformin menghambat *mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase* (mGPD), tetapi tidak *cytosolic glycerophosphate dehydrogenase* (cGPD). Penghambatan mGPD menghambat konversi *glycerol-3-phosphate* (G3P) menjadi *dihydroxyacetone phosphate* (DHAP) (Gambar 4.2). Hal ini yang menjelaskan mekanisme metformin menghambat *gluconeogenesis* dari *glycerol* sebab proses tersebut memerlukan konversi G3P menjadi DHAP. Di sisi lain, penghambatan *cytosolic oxidized form* pada nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) terkait dengan peningkatan laktat merupakan hal yang harus dipantau selama terapi metformin. Setelah pemberian metformin terjadi menurunkan 30-50-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) sehingga menurunkan ekspresi gen glucagon-induced gluconeogenic oleh protein kinase A (PKA).

Kontraindikasi pemberian metformin wanita hamil dan menyusui, gangguan fungsi ginjal atau hati, predisposisi asidosis laktat, gagal jantung, infeksi atau trauma berat, dehidrasi, alkoholisme.

Laju filtrasi glomerulus atau *Glomerulus Filtration Rate* (GFR), yang diwakili oleh kadar BUN dapat dikatakan berbanding terbalik antara kadar BUN dengan nilai GFR. Kehilangan sekitar 2/3 fungsi ginjal seluruhnya maka sudah dapat ditemukan adanya peningkatan kadar BUN yang cukup signifikan sehingga pembacaan kadar BUN akan lebih mudah daripada kreatinin. Metformin diekskresi oleh ginjal dalam bentuk *unchanged* sehingga pemberian metformin perlu memperhatikan fungsi ginjal pasien. Hasil beberapa penelitian menyampaikan metformin masih dapat diberikan pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal dan tidak memerlukan dosis *adjustment* saat GFR > 40%.

Syarat penggunaan terapi metformin pada penelitian ini adalah 1) HbA1c $\geq 6,5$; 2) fungsi hepar dalam batas normal dan fungsi ginjal dalam batas normal (GFR ≥ 40), pada penelitian ini digunakan kadar BUN < 40 mg/dL untuk mencegah terjadi komplikasi laktoasidosis maka ditambahkan persyaratan; 3) kadar laktat ≤ 2.5 mmol/L dan saturasi oksigen $\geq 92\%$; serta 4) pemeriksaan x-foto didapatkan lesi paru minimal sampai dengan moderate. Dosis metformin yang diberikan pada penelitian ini adalah 1000mg-1500mg yang merupakan *range* dosis terapi metformin yang telah terdapat perubahan respons imun.

4.1.2 Efek Samping Metformin yang Dapat Terjadi

Efek samping penggunaan metformin : gangguan saluran cerna (anoreksia, mual, muntah, dan diare), peningkatan kadar laktat atau *Metformin-associated lactoacidosis* (MALA), gangguan penyerapan vitamin B₁₂, gangguan fungsi hati/ginjal atau pada orang usia lanjut. Kejadian *Metformin-associated lacto-acidosis* (MALA), meskipun tergolong rendah, tetap harus dicegah karena dapat mengancam jiwa. Pada penelitian ini risiko terjadi MALA meningkat terutama pada situasi, seperti 1) bila terjadi *drug-induced hepatitis* (DIH) yang disebabkan oleh OAT dan atau metformin, 2) kerusakan paru yang makin parah sehingga menyebabkan hipoksia, contohnya bila terjadi fibrosis and bronchiectasis.

Usaha preventif MALA pada penelitian ini telah ditetapkan pada kriteria inklusi, seperti 1) lesi paru minimal – *moderate advaced*; 2) saturasi oksigen > 92%; 3) normal fungsi hati (SGOT, SGPT) dan normal fungsi ginjal (BUN, SK). Pemberian konsultasi, informasi dan edukasi terkait dengan gejala *lacto-acidosis* juga dilakukan pada penelitian ini. Saat terjadi DIH akibat terapi OAT dan atau metformin maka pemberian terapi OAT dan atau metformin segera dihentikan, dan pasien dipantau kondisi klinisnya selama satu minggu.

Meskipun metformin meningkatkan laktat tetapi tidak meningkatkan risiko pasien diabetes mellitus mengalami asidosis laktat sehingga metformin relatif aman digunakan pada pasien diabetes mellitus terinfeksi TB.

4.2 Metformin Kandidat *Host-Directed* Terapi pada Pasien Diabetes Mellitus dan Tuberkulosis

Metformin, penelitian *in silico*, *in vitro* dan *in vivo* pada hewan dinyatakan sebagai kandidat penting *adjunct* terapi OAT, meningkatkan efficacy OAT dan menurunkan resistensi. Penelitian ini bertujuan menjelaskan mekanisme metformin sebagai terapi yang memiliki efek imunomodulator dalam meningkatkan efektivitas terapi OAT. Efikasi terapi OAT dalam penelitian ini dilihat pada eliminasi *M.tuberculosis*. Pada penelitian ini, sebagai standar terapi, pasien DM-TB mendapat terapi insulin dan obat anti TB (OAT) dengan dosis regimen merujuk *World Health Organization* (WHO), dan pada kelompok perlakuan ditambahkan terapi metformin dengan dosis 1000-1500 mg/hari, diberikan 2-3 kali saat makan atau segera setelah makan untuk mengurangi keluhan saluran cerna.

4.2.1 Metformin dan Superoxide Dismutase (SOD)

Superoxide Dismutase (SOD) merupakan enzim yang diproduksi pada sistem pertahanan antioksidan tubuh. Infeksi TB meningkatkan ROS sebagai akibat *respiratory burst* pada proses fagositosis *M.tuberculosis* oleh makrofag. Produksi ROS yang berlebih dapat menghambat aktivitas makrofag dan meningkatkan kerusakan jaringan akibat aktivasi berlebih Th1. Di sisi lain, metformin juga memberikan efek peningkatan SOD akibat proses aktivasi AMPK. Kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan ROS sehingga kadar SOD dapat meningkat juga pada pasien diabetes mellitus.

Gen KatG yang mengaktifkan pro-drug INH menjadi aktif, ternyata menghasilkan SOD yang berkontribusi pada efek mikobakterisidal INH. Berdasarkan hal tersebut, penambahan metformin dapat memberikan efek *synergism* untuk meningkatkan efektivitas INH melalui pencegah resistensi INH yang dikaitkan dengan peningkatan kadar SOD. Hal ini merupakan informasi penting sebagai dasar pengembangan terapi baru, seperti yang telah diketahui isoniazid risiko resistensi dapat terjadi pada setiap 1×10^6 CFU. Informasi ini melengkapi data sebelumnya yang menyatakan metformin memiliki efek sinergisme dengan rifampicin untuk meningkatkan

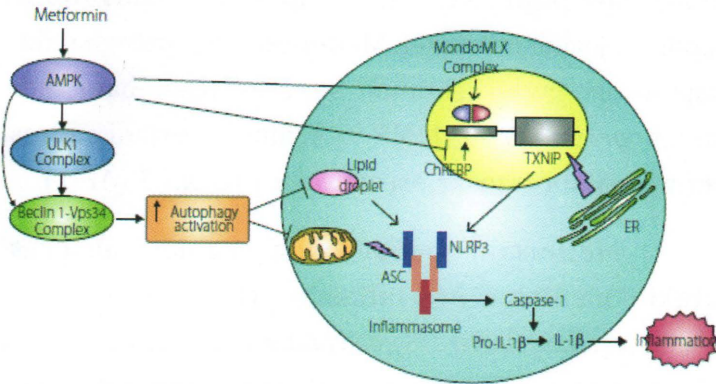
ekspresi *organic cation transporter* (OCT)-1. Ekspresi OCT-1 berperan penghambatan transkripsi *M.tuberculosis*.

4.2.2 Metformin Menginduksi Autofagia

M.tuberculosis memiliki *escape mechanism* melalui penghambatan apoptosis/autofagia sel makrofag *host*, sehingga diperlukan terapi *adjuvant* untuk meningkatkan proses autofagia sehingga efikasi OAT meningkat untuk eliminasi *M.tuberculosis*. Autofagia pada infeksi *M.tuberculosis* merupakan respons gabungan sistem imun *innate* dan *adaptive host* yang sangat penting untuk proses eliminasi *M.tuberculosis*. *Microtubule-associated protein 1 light chain 3B* (MAP1LC3B/ATG8) merupakan *ubiquitine-like modifier* yang mempresentasikan autofagolisosom atau lebih dikenal dengan autofagia.

Beberapa penelitian interaksi *additive* farmakodinamik telah dilakukan pada obat yang tidak memiliki efek bakterisida *M.tuberculosis* tetapi bekerja pada regulasi imunitas diduga memiliki potensi meninduksi autofagia, antara lain gefitinib (golongan epidermal growth factor receptor (EGFR) *inhibitors*), Vitamin D, mTOR *inhibitor*, misal obat yang mengaktifkan AMPK contoh metformin. Metformin pada penelitian yang telah dilakukan *in silico*, *in vitro* dan *in vivo* pada hewan,

dinyatakan sebagai kandidat penting *adjunct* terapi OAT, meningkatkan efficacy OAT dan menurunkan resistensi.



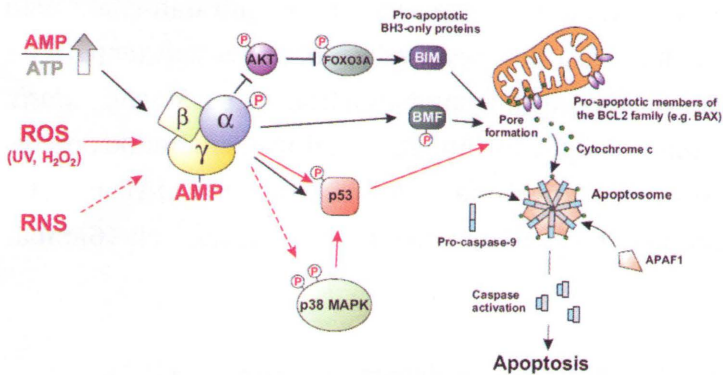
Gambar 4.3 Mekanisme metformin mencegah inflamasi

(sumber: Hur, et al., 2015)

Metformin mengaktifkan *autophagy* melalui aktivasi AMPK dan *subsequent phosphorylation of unc-51-like kinase 1* (ULK1). *Autophagy* menurunkan aktivasi *inflammasome* dan mencegah agar tidak terjadi proses inflamasi berlebih (Gambar 4.3). Aktivasi AMPK melalui *thioredoxin-interacting protein* (TXNIP) menurunkan aktivasi *inflammasome* dan faktor transkripsi, termasuk NF kappa B yang menyandi mediator proinflamasi. Selain itu, pada infeksi intraseluler, di penelitian ini adalah *M.tuberculosis*, metformin melalui AMPK juga menstimulasi apoptosis makrofag (Gambar 4.3) sehingga mempercepat proses eliminasi *M.tuberculosis* tanpa proses inflamasi berlebih yang dapat merusak jaringan.

Efek anti neoplastik metformin berasal dari aktivasi AMPK yang menghambat *mammalian target of rapamycin* (mTOR) yang terupregulasi pada proses replikasi jaringan kanker. Metformin juga menghambat migrasi dan invasi sel tumor, serta menghambat *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9) sehingga terjadi supresi aktivasi faktor transkripsi activator protein-1 (AP-1).

Metformin menurunkan regulasi ekspresi sitokin mediator pro-inflamasi (IL-1, IL-6, IL-17, cyclooxygenase dan iNOS), *cell adhesion molecules*, *matrix metalloproteinase-9* dan *chemokine* di pembuluh darah. Metformin menghambat faktor migrasi makrofag dan NF- κ B melalui jalur PI3-Kinase/Akt di sel otot polos pembuluh darah, menghambat proses adhesi monosit terinduksi AGEs pada pembuluh darah dan mencegah formasi foam cells. Hal tersebut untuk mencegah terjadi arterosklerosis dan komplikasi kardiovaskular pada pasien DM serta menghambat terjadi penyakit autoimun pada pasien DM. Metformin mengaktifkan AMPK makrofag, meningkatkan NO dan SOD untuk menghambat toksik radikal bebas pada sel endometrium.



Gambar 4.4 Mekanisme metformin menstimulasi apoptosis makrofag
(Sumber: Cardaci, et al., 2012)

Metformin menurunkan pertumbuhan intrasel *M.tuberculosis* dan strain *M.tuberculosis resistens* melalui proses AMPK, serta meningkatkan produksi *mitochondrial reactive oxygen species* (mROS) dan memfasilitasi fusi *phagosome-lysosome* fusion. Pada tikus yang terinfeksi *M.tuberculosis*, metformin dapat mencegah kerusakan jaringan paru melalui penurunan respons inflamasi kronis dan meningkatkan respons imun serta *efficacy* OAT. Diharapkan metformin dapat meningkatkan efek bakterisida OAT terutama pada pasien DM-TB melalui modulasi sistem imun.

Beberapa penelitian terkait interaksi metformin dengan OAT menunjukkan bahwa metformin yang tidak dimetabolisme enzim P450, tidak menurunkan efikasi

terapi rifampicin. Interaksi metformin dan rifampicin meningkatkan ekspresi *organic cation transporter* (OCT)-1 yang berperan penghambatan transkripsi *M.tuberculosis*, sehingga dapat disimpulkan metformin memiliki potensi untuk meningkatkan efek bakterisida OAT melalui peningkatan SOD dan melalui proses autofagia (Gambar 4.4).

4.2.3 Metformin, Interferon gamma (IFN- γ), Interleukin (IL)-10 dan Rasio IFN- γ /IL-10

Respons imun tubuh terhadap infeksi TB berupa peningkatan IFN- γ yang merupakan hasil aktivasi Th1 untuk mempertahankan reseptor IL-12 dan memberikan proteksi terhadap infeksi. Proses inflamasi pada pasien DM dan TB merupakan inflamasi kronis.

Metformin beberapa penelitian menurunkan respon inflamasi, namun metformin juga dapat meningkatkan proses autofagia makrofag sehingga aktivitas Th1 meningkat sehingga mediator proinflamasi dapat meningkat setelah metformin pada pasien diabetes mellitus dan tuberkulosis.

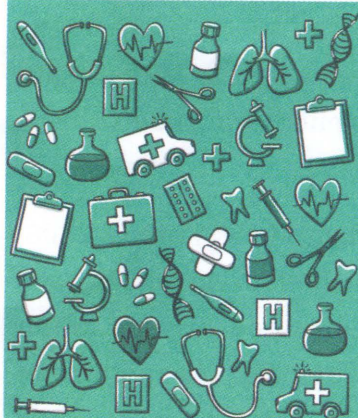
Peningkatan IFN- γ pada infeksi kronis *M.tuberculosis* merupakan respons imun selular tubuh. Saat ini IFN- γ *release assay* (IGRA) digunakan sebagai salah satu alat diagnosis infeksi TB laten dan peningkatan kadar

IFN- γ merupakan salah satu indikator keberhasilan terapi pada infeksi TB aktif. Terapi metformin meningkatkan IFN- γ dan hal ini menunjang keberhasilan terapi infeksi TB aktif.

IL-10 merupakan regulator negatif *feedback* pada respons imun yang dihasilkan oleh Th2 untuk menghambat produksi sitokin antiinflamasi. Hambatan fungsi makrofag terjadi karena IL-10 menekan ekspresi molekul MHC kelas II dan mengurangi ekspresi kostimulator. Dampak akhir aktivitas IL-10 adalah hambatan reaksi inflamasi spesifik dan non spesifik. Peningkatan IL-10 ini dapat diasumsikan sebagai upaya kompensasi tubuh untuk menurunkan respons inflamasi dan aktivasi Treg untuk melakukan regulasi respons imun selular *host* terhadap infeksi TB dan upaya eliminasi *M.tuberculosis*.

Rasio IFN- γ /IL-10 menggambarkan secara bersamaan proses inflamasi yang berlangsung, yaitu respons tubuh menyeimbangkan anti inflamasi (IL-10) terhadap inflamasi yang terjadi (IFN- γ). Bila rasio IFN- γ / IL-10 > 1 maka proinflamasi lebih besar dari antiinflamasi, semakin besar rasio IFN- γ /IL-10 maka semakin besar proses inflamasi yang terjadi. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui bahwa metformin dapat mengontrol rasio IFN- γ /IL-10 atau dapat mengontrol keseimbangan antara proses proinflamasi dengan

antiinflamasi yang merupakan suatu reaksi – interaksi regulasi optimal untuk aktivasi fagositosis sel makrofag pada infeksi *M.tuberculosis*.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K. & Lichtman, A. 2012. *Cellular and Molecular Immunology*. Saunders.
- Afanas'ev, I. B. 2009. *Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals*. CRC Press.
- Allen, B. W.; Demchenko, I. T. & Piantadosi, C. A. 2009. Two faces of nitric oxide: implications for cellular mechanisms of oxygen toxicity. *J. Appl. Physiol.* 106, 662-7.
- Andrew, M. & Hardy, K. 2015. Cell Death and Autophagy in TB. *Semin Immunol.* 26, 497-511.
- Asghar, A. & Gorski, J. 2002. Induction of multidrug resistance-1 and cytochrome P450 mRNAs in human mononuclear cells by rifampin. *Am. Soc. Pharmacol. Ecperimental Ther.* 30, 20-26.

- Azad, A. K.; Sadee, W. & Schlesinger, L. S. 2012. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. *Infect. Immun.* 80, 3343–59.
- Bachmakov, I.; Glaeser, H.; Fromm, M. F. & König, J. 2008. Interaction of oral antidiabetic drugs with hepatic uptake transporters: focus on organic anion transporting polypeptides and organic cation transporter 1. *Diabetes* 57, 1463–9.
- Baker, M. A. *et al.* 2011. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes : A systematic review. *BMC Med.* 9, 1–15.
- Bakker, J.; Nijsten, M. W. & Jansen, T. C. 2013. Clinical use of lactate monitoring in critically ill patients. *Ann. Intensive Care* 3, 12.
- Brighenti, S. & Lerm, M. 2012. In *Understanding Tuberculosis - Analyzing Origin Mycobacterium Tuberculosis Pathogenicity* (ed. Cardona, P.-J.) 208–2016 (InTech, 2012). doi:10.5772/2478.
- Brunton, L.; Chapner, B. & Knollmann, B. 2011. *The Pharmacological Basis of Therapeutics-Goodman & Gillman-Ed.* McGraw Hill Medical.
- Buse, J. B. *et al.* 2007. Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus: a scientific

- statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 30, 162–72.
- Cahyadi, A. 2011. Tuberkulosis Paru pada Pasien Diabetes Mellitus. *J. Indones. Med. Assoc.* 61, 173–178.
- Caire-Brändli, I. *et al.* 2014. Reversible lipid accumulation and associated division arrest of *Mycobacterium avium* in lipoprotein-induced foamy macrophages may resemble key events during latency and reactivation of tuberculosis. *Infect. Immun.* 82, 476–90.
- Campbell, P. J. *et al.* 2011. Molecular detection of mutations associated with first- and second-line drug resistance compared with conventional drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 2032–41.
- Cardaci, S.; Filomeni, G. & Ciriolo, M. R. 2012. Redox implications of AMPK-mediated signal transduction beyond energetic clues. *J. Cell Sci.* 125, 2115–2125.
- Cardona, P.-J. 2012. *Understanding Tuberculosis- Deciphering The Secret Life of The Bacilli.*
- Chee, C. B. E. *et al.* 2010. Tuberculosis treatment effect on T-cell interferon-gamma responses to

- Mycobacterium tuberculosis-specific antigens. *Eur. Respir. J.* 36, 355–61.
- Connell, D.; Berry, M.; Cooke, G. & Kon, O. 2011. Update on tuberculosis: TB in the early 21st century. *Eur. Respir. Updat.* 20, 71–84.
- Cuccu, B.; Freer, G.; Genovesi, A.; Garzelli, C. & Rindi, L. 2011. Identification of a human immunodominant T-cell epitope of mycobacterium tuberculosis antigen PPE44. *BMC Microbiol.* 11, 167.
- Costanzi, S.; Neumann, S. & Gershengorn, M. C. 2008. Seven transmembrane-spanning receptors for free fatty acids as therapeutic targets for diabetes mellitus: pharmacological, phylogenetic, and drug discovery aspects. *J. Biol. Chem.* 283, 16269–73.
- Dannenbergh, A. M. 2010. Perspectives on clinical and preclinical testing of new tuberculosis vaccines. *Clin. Microbiol. Rev.* 23, 781–94.
- Deng, M. *et al.* 2012. Visual detection of rpoB mutations in rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by use of an asymmetrically split peroxidase DNAzyme. *J. Clin. Microbiol.* 50, 3443–50.
- Dheda, K. *et al.* 2005. Lung Remodeling in Pulmonary Tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 192, 1201–1210.

Direktorat Jenderal Bina Upaya Kesehatan Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan RI. 2012. Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Mikroskopis TB.

Drouin, P. *et al.* 2009. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 32, S62–S67.

Druszczyńska, M.; Kulbat, M. K. & Fol, M. Latent M. 2012. Tuberculosis Infection – Pathogenesis, Diagnosis, Treatment and Prevention Strategies. *Polish J. Microbiol.* 61, 3–10.

Elia, E. M. *et al.* 2009. The effects of metformin on uterine tissue of hyperandrogenized BALB/c mice. *Mol. Hum. Reprod.* 15, 421–32.

Ernst, J. D. 2012. The immunological life cycle of tuberculosis. *Nat. Rev. Immunol.* 12, 581–91.

Escalante, P. & Brenda, J. 2006. In *Tropical Lung Disease* (eds. Sharma, O. P. & Lenfant, C.) 508–527.

Febbaro, T.; Lengyel, E. & Romero, L. 2015. Old drug, new trick : Repurposing metformin for gynecologic cancers? *NIH Public Access* 135, 614–621.

- Finco, G.; Pani, L. & Landoni, G. 2013. Metformin-associated lactic acidosis requiring hospitalization . A national 10 year. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 17, 45–49.
- Gaultier, A. *et al.* 2008. Regulation of tumor necrosis factor receptor-1 and the IKK-NF-kappaB pathway by LDL receptor-related protein explains the antiinflammatory activity of this receptor. *Blood* 111, 5316–25.
- Geffner, L. *et al.* 2009. Patients with multidrug-resistant tuberculosis display impaired Th1 responses and enhanced regulatory T-cell levels in response to an outbreak of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis M and Ra strains. *Infect. Immun.* 77, 5025–34.
- Girard, M.; Israël-Assayag, E. & Cormier, Y. 2011. Impaired function of regulatory T-cells in hypersensitivity pneumonitis. *Eur. Respir. J.* 37, 632–9.
- Gosh, S. 2007. *Transcription Factor NF-kappaB*. CRC Press.
- Grange, J.; Donald, P. R.; Pai, M.; Reviglione, M. & Starke, J. 2009. *Tuberculosis : A Comprehensive Clinical Reference*. (Saunders Elsevier, 2009).
- Harries, A. D. *et al.* 2013. Epidemiology and interaction of diabetes mellitus and tuberculosis and challenges

for care : a review OF DIABETES MELLITUS. *Public Heal. Action I*, S3-9.

Herzmann, C. *et al.* 2012. Increased frequencies of pulmonary regulatory T-cells in latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur. Respir. J.* 40, 1450-7.

Hofmann-Thiel, S. *et al.* 2009. Mechanisms of heteroresistance to isoniazid and rifampin of *Mycobacterium tuberculosis* in Tashkent, Uzbekistan. *Eur. Respir. J.* 33, 368-74.

Holman, R. R. *et al.* 2007. Addition of Biphasic, Prandial, or Basal Insulin to Oral Therapy in Type 2 Diabetes. *N. Engl. J. Med.* 357, 1716-30.

Hu, X.; Chen, J.; Wang, L. & Ivashkiv, L. B. 2007. Crosstalk among Jak-STAT, Toll-like receptor, and ITAM-dependent pathways in macrophage activation. *J. Leukoc. Biol.* 82, 237-43.

Hur, K. Y. & Lee, M.-S. 2015. New mechanisms of metformin action. *J. Diabetes Investig.* 4, n/a-n/a.

Isoda, K. *et al.* 2006. Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB in human vascular wall cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26, 611-7.

- Ito, S. *et al.* 2012. Competitive inhibition of the luminal efflux by multidrug and toxin extrusions, but not basolateral uptake by organic cation transporter 2, is the likely mechanism underlying the pharmacokinetic drug-drug interactions caused by cimetidine in the kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 340, 393–403.
- Kaminski, M.; Kiessling, M.; Süss, D.; Krammer, P. H. & Gülow, K. 2007. Novel role for mitochondria: protein kinase C θ -dependent oxidative signaling organelles in activation-induced T-cell death. *Mol. Cell. Biol.* 27, 3625–39.
- Katzung, B. G.; Mastres, S. B. & Trevor, A. J. 2012. *Basic & Clinical Pharmacology*. Asia: McGraw Hill Education.
- Kawai, T. & Akira, S. 2008. Signaling to NF- κ B by Toll-like receptors. *Trends Mol. Med.* At <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471491407001840>>.
- Khan, M. M. 2008. *Immunopharmacology*. US: Springer. doi:10.1007/978-0-387-77976-8.
- Koul, A.; Herget, T.; Klebl, B. & Ullrich, A. 2004. Interplay between mycobacteria and host signalling pathways. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 189–202.

- Kourelis, T. V. & Siegel, R. D. 2012. Metformin and cancer: new applications for an old drug. *Med. Oncol.* 29, 1314–27.
- Kresno, S. B. 2013. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Lamb, C. A.; Dooley, H. C. & Tooze, S. A. 2013. Endocytosis and autophagy: Shared machinery for degradation. *BioEssays* 35, 34–45.
- Lange, C.; Pai, M.; Drobniewski, F. & Migliori, G. B. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of active tuberculosis: sensible or silly? *Eur. Respir. J.* 33, 1250–3.
- Lemos, M. P.; Rhee, K. Y. & McKinney, J. D. 2011. Expression of the leptin receptor outside of bone marrow-derived cells regulates tuberculosis control and lung macrophage MHC expression. *J. Immunol.* 187, 3776–84 (2011).
- Li Gong, Srijib Goswami, Kathleen M. Giacomini, Russ B. Altman, b, and T. E. K. 2013. Metformin pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 22, 820–827.

- Lyons, M. a, Reisfeld, B.; Yang, R. S. H. & Lenaerts, A. J. 2013. A physiologically based pharmacokinetic model of rifampin in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57, 1763–71.
- Madiraju, A. K. *et al.* 2014. Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. *Nature* 510, 542–6.
- Mamputu, J.-C., Wiernsperger, N. & Renier, G. 2003. Metformin inhibits monocyte adhesion to endothelial cells and foam cell formation. *Br. J. Diabetes Vasc. Dis.* 3, 302–310.
- Martinez, F. O. & Gordon, S. 2014. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* 6, 13.
- Matsushita, I. *et al.* 2015. Dynamics of immune parameters during the treatment of active tuberculosis showing negative interferon gamma response at the time of diagnosis. *Int. J. Infect. Dis.* 40, 39–44.
- Milburn, H. *et al.* 2010. Guidelines for the prevention and management of Mycobacterium tuberculosis infection and disease in adult patients with chronic kidney disease. *Thorax* 65, 557–70.

- Mohammad, M. K. *et al.* 2006. Dysregulated Toll-like receptor expression and signaling in bone marrow-derived macrophages at the onset of diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Int. Immunol.* 18, 1101–1113.
- Morgan, M. J. & Liu, Z. 2011. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res.* 21, 103–115.
- Munhoz, C. D. *et al.* 2007. Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 40, 1037–1044.
- Naranbhai, V. *et al.* 2014. Ratio of monocytes to lymphocytes in peripheral blood identifies adults at risk of incident tuberculosis among HIV-infected adults initiating antiretroviral therapy. *J. Infect. Dis.* 209, 500–9.
- Niemi, M. 2001. Effects of rifampin on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide and glipizide. *Clin. Pharmacol. Ther.* 69, 400–406.
- Nath, N. *et al.* 2009. Metformin attenuated the autoimmune disease of the central nervous system in animal models of multiple sclerosis. *J. Immunol.* 182, 8005–14 (2009).
- Nathan, D. M. *et al.* 2006. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A consensus algorithm for the initiation

and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 29, 1963–72.

Novita, B. D.; Pranoto, A.; Wuryani, Soediono, E. I. & Mertaniasih, N. M. 2017. A Case Risk-Study of Lactic Acidosis Risk in Metformin Use in Type 2 Diabetes Mellitus Tuberculosis co-Infection Patients. *Indian J. Tuberc.* doi:10.1016/j.ijtb.2017.05.008.

Ogawa, M.; Mimuro, H.; Yoshikawa, Y.; Ashida, H. & Sasakawa, C. 2011. Manipulation of autophagy by bacteria for their own benefit. *Microbiol. Immunol.* 459–471. doi:10.1111/j.1348-0421.2011.00343.

Ogbera, A. O. *et al.* 2015. Clinical profile of diabetes mellitus in tuberculosis. *BMJ Open Diabetes Res Care* 3, e000112.

Oh, H. & Ghosh, S. 2013. NF- κ B: roles and regulation in different CD4(+) T-cell subsets. *Immunol. Rev.* 252, 41–51.

Omori, K. *et al.* 2008. Priming of neutrophil oxidative burst in diabetes requires preassembly of the NADPH oxidase. *J. Leukoc. Biol.* 84, 292–301.

Palanisamy, N. & Manian, S. 2012. Protective effects of *Asparagus racemosus* on oxidative damage in

- isoniazid-induced hepatotoxic rats: an in vivo study. *Toxicol. Ind. Health* 28, 238–44.
- Parwati, I. *et al.* 2008. Mycobacterium tuberculosis population structures differ significantly on two Indonesian Islands. *J. Clin. Microbiol.* 46, 3639–45.
- Paul, W. E. & Zhu, J. 2010. How are T(H)2-type immune responses initiated and amplified? *Nat. Rev. Immunol.* 10, 225–35.
- Prezzemolo, T. *et al.* 2014. Functional Signatures of Human CD4 and CD8 T Cell Responses to Mycobacterium tuberculosis. *Front. Immunol.* 5, 180.
- Pulendran, B. & Katsikis, P. 2011. *Crossroads between Innate and Adaptive Immunity*. Springer. doi:10.1007/978-1-4419-5632-3.
- Raja, A. 2004. Immunology of tuberculosis. *Indian J. Med. Respir.* 120, 213–232.
- Restrepo, B. I. *et al.* 2008. Tuberculosis in poorly controlled type 2 diabetes: altered cytokine expression in peripheral white blood cells. *Clin. Infect. Dis.* 47, 634–641.
- Restrepo, B. I. 2016. Metformin: Candidate host-directed therapy for tuberculosis in diabetes and non-diabetes patients. *Tuberculosis* 101, S69–S72.

- Riza, A. L. *et al.* 2016. Clinical management of concurrent diabetes and tuberculosis and the Implications for Patient Services. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2, 740–753.
- Rizzo, M. R.; Barbieri, M.; Marfella, R. & Paolisso, G. 2012. Reduction of oxidative stress and inflammation by blunting daily acute glucose fluctuations in patients with type 2 diabetes: role of dipeptidyl peptidase-IV inhibition. *Diabetes Care* 35, 2076–82.
- Roberta, G. 2013. *Autophagy in Health and Disease*. Elsevier.
- Rulifson, I. C. *et al.* 2007. Wnt signaling regulates pancreatic^α cell proliferation. *PNAS* 104, 6247–6252.
- Saitoh, T. & Akira, S. 2010. Regulation of innate immune responses by autophagy-related proteins. *J. Cell Biol.* 189, 925–35.
- Salpeter, S.; Greyber, E.; Pasternak, G. & Salpeter, E. 2003. Risk of Fatal and Nonfatal Lactic Acidosis With Metformin Use in Type 2 Diabetes Mellitus. *Arch intern Med.* 163, 2594–2602.
- Schlossberg, D. 2006. *Tuberculosis and nontuberculosis mycobacterial infections. The Lancet Infectious*

Diseases. Mc Graw Hill Medical. at <[http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(07\)70047-6/abstract](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(07)70047-6/abstract)>.

Senbagavalli, P. *et al.* 2012. Immune complexes isolated from patients with pulmonary tuberculosis modulate the activation and function of normal granulocytes. *Clin. Vaccine Immunol.* 19, 1965–71.

Singhal, A. *et al.* 2014. Metformin as adjunct antituberculosis therapy. *Sci. Transl. Med.* 6, 1–10.

Singhal, A. *et al.* 2014. Metformin as adjunct antituberculosis therapy. *Sci. Transl. Med.* 6, 159–263.

Siomek, A. 2012. NF- κ B signaling pathway and free radical impact. *Acta Biochim. Pol.* 59, 323–331.

Soares, R. & Costa, C. 2009. *Oxidative stress, inflammation and angiogenesis in the metabolic syndrome*. Springer. At <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=orfBsNw8qVEC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Oxidative+Stress,+Inflammation+and+Angiogenesis+in+the+Metabolic+Syndrome&ots=H3BakoTMcO&sig=Wox36Ubjl8GMZ56wI7gPq_Tr3Vs>.

Son, H.-J. *et al.* 2014. Metformin Attenuates Experimental Autoimmune Arthritis through

Reciprocal Regulation of Th17/Treg Balance and Osteoclastogenesis. *Mediators Inflamm.* 2014, 1–13.

Stevenson, C. R. *et al.* 2007. Diabetes and the risk of tuberculosis: a neglected threat to public health? *Chronic Illn.* 3, 228–45.

Takeuchi, O. & Akira, S. 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 140, 805–20.

Thee, S. *et al.* 2011. Pharmacokinetics of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in children younger than two years of age with tuberculosis: evidence for implementation of revised World Health Organization recommendations. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 5560–7.

Uchida, K. *et al.* 2014. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activity in the lungs of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. High-affinity autoantibodies specifically eliminate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activity in the lungs of. *Blood* 1089–1098. doi:10.1182/blood-2003-05-1565

Uhlin, M.; Andersson, J.; Zumla, A. & Maeurer, M. 2012. Adjunct Immunotherapies for Tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 205, 325–334.

- V Almeida, D. 2014. Revisiting Anti-tuberculosis Activity of Pyrazinamide in Mice. *Mycobact. Dis.* 4, 2–7.
- Vashisht, R. & Brahmachari, S. K. 2015. Metformin as a potential combination therapy with existing front-line antibiotics for Tuberculosis. *J. Transl. Med.* 13, 1–3.
- Verspohl, E. J. 2012. Novel Pharmacological Approaches to the Treatment of Type 2 Diabetes. *Am. Soc. Pharmacol. Experimental Ther.* 64, 188–237.
- Wajchenberg, B. L. 2007. β -Cell Failure in Diabetes and Preservation by Clinical Treatment. *Endocr. Rev.* 28, 187–218.
- Wallis, R. S. & Hafner, R. 2015. Advancing host-directed therapy for tuberculosis. *Nature Reviews Immunology* 15, 255–263.
- Wan, X. *et al.* 2013. 5'-AMP-activated protein kinase-activating transcription factor 1 cascade modulates human monocyte-derived macrophages to atheroprotective functions in response to heme or metformin. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33, 2470–80.
- Welin, A. 2011. Survival strategies of *Mycobacterium tuberculosis* inside the human macrophage. Linköping University.

White, G.; Iqbal, A. & Greaves, D. 2013. CC chemokine receptors and chronic inflammation—therapeutic opportunities and pharmacological challenges. *Pharmacol. Rev.* 47–89. At <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:CC+Chemokine+Receptors+and+Chronic+Inflammation+—+Therapeutic+Opportunities+and+Pharmacological+Challenges#0>>.

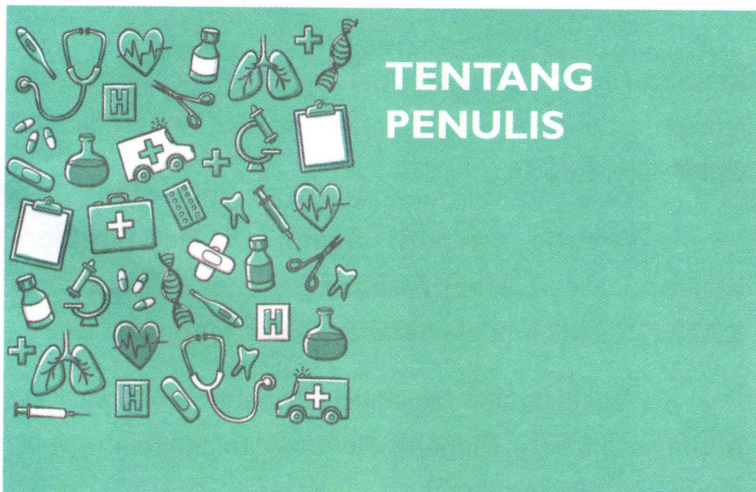
World Health Organization. 2011. *Collaborative framework for care and control of tuberculosis and diabetes*. at <<http://extranet.who.int/iris/handle/10665/44698>>.

Yilmaz, B. *et al.* 2010. Metformin regresses endometriotic implants in rats by improving implant levels of superoxide dismutase, vascular endothelial growth factor, tissue inhibitor of metalloproteinase-2, and matrix metalloproteinase-9. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 202, 368.e1-8.

Yuhas, Y.; Berent, E.; Cohen, R. & Ashkenazi, S. 2009. Roles of NF-kappaB activation and peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibition in the effect of rifampin on inducible nitric oxide synthase transcription in human lung epithelial cells. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 1539–1545.

- Zhuang, Y. & Miskimins, W. K. 2011. Metformin induces both caspase-dependent and poly(ADP-ribose) polymerase-dependent cell death in breast cancer cells. *Mol. Cancer Res.* 9, 603–15.
- Zou, M.-H. *et al.* 2004. Activation of the AMP-activated protein kinase by the anti-diabetic drug metformin in vivo. Role of mitochondrial reactive nitrogen species. *J. Biol. Chem.* 279, 43940–43951.





BERNADETTE DIAN NOVITA DEWI lahir di Surabaya, Jawa Timur, tanggal 05 November 1978. Penulis telah menikah pada tahun 2005 dan memiliki seorang putra serta seorang putri. Ia menempuh pendidikan di SD dan SMP Santa Clara Surabaya, berlanjut ke SMA St. Louis 1 Surabaya.

Hasratnya untuk menjadi seorang dosen dan peneliti muncul saat menempuh pendidikan dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Ketertarikannya pada Ilmu Kedokteran Dasar bidang minat Farmakologi membuatnya menyelesaikan S2 dan S3 di Fakultas

Kedokteran Universitas Airlangga, serta mengikuti *fellowship* di Universitas Kobe, Jepang, dan Taipei Medical University, Taiwan.

Penulis menjadi dosen di Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya sejak tahun 2011.

Saat ini ia aktif melakukan kegiatan penelitian dan Abdimas di bidang Diabetes Mellitus dan pengembangan pendidikan Farmakologi.

Diabetes Mellitus & Infeksi Tuberkulosis

••• **Diagnosis dan
Pendekatan Terapi**

Tuberkulosis (TB) paru merupakan infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) yang menyerang jaringan parenkim paru. Buku *Diabetes Mellitus dan Infeksi Tuberkulosis: Diagnosis dan Pendekatan Terapi* ini memberikan informasi tentang imunologi dan mekanisme risiko infeksi tuberkulosis pada pasien diabetes mellitus. Informasi ini diharapkan dapat memberikan masukan dan ide untuk pengembangan literasi kesehatan bagi pasien diabetes mellitus.

Selain itu, buku ini juga memberikan informasi tentang mekanisme kegagalan terapi tuberkulosis dan target pengembangan terapi dengan pendekatan imunofarmakologi. Buku ini akan sangat bermanfaat untuk memberikan informasi kepada para peneliti muda, mahasiswa, dokter tenaga kesehatan, dan para pemerhati diabetes mellitus.

Penerbit ANDI

Jl. Beo 38-40 Yogyakarta

Telp.(0274) 561881 Fax.(0274) 588282

✉ : andipenerbitan@gmail.com

🌐 : www.andipublisher.com



MEDICAL

ISBN: 978-979-29-9912-9



9 789792 999129 1 2301
Harga di Pulau Jawa: Rp68.000,00

Dapatkan Info Buku Baru, Kirim e-mail: info@andipublisher.com | andipublishercom@yahoo.com

