

EVALUASI POTENSI HEPAR SEBAGAI SUMBER ENZIM *PLATELET ACTIVATING FACTOR ACETYLDROLASE* (PAF-AH) PADA PROSES ATEROGENESIS

Oleh: Retno Susilowati

ABSTRACT

The atherogenesis is a fairly complicated process that deposit cholesterol in wall of arterial blood. Pathogenic atherosclerotic plaque formation requires very long time and it is often called as the silent killer. PAF-AH is a proatherogenic enzyme whose levels in serum rise rapidly since the beginning of the process atherogenesis. The sources of PAF-AH other than macrophages in the atherosclerotic plaque not been widely studied. The liver is the organ where the place of lipid metabolism and susceptible to oxidative stress. Oxidized Lipids serve as a stimulator of the synthesis of PAF-AH, so it needs to be explored its potential as a source of PAF-AH. This study aims to evaluate the liver as the source of PAF-AH on atherogenesis process that occurs in mice.

This research was conducted based on post Test Control Design. This research is to observe PAF-AH levels in the lysates serum and liver. Histological observations of the presence of PAF-AH enzymes in liver tissue with the Immunohistochemistry are also observed in normocholesterol mice than hypercholesterolemic rats' diet for 30 days. Data were analyzed with Anova test and correlation analysis.

The results showed that hypercholesterolemia rats had higher levels of PAF-AH in serum than normocholesterolemia mice ($408.35 \pm 142.23 > 218.93 \pm 106.07$ ng /ml). Hypercholesterolemia mice had higher levels of PAF-AH in the liver lysate than normocholesterolemia mice ($554.81 \pm 143.33 > 275.60 \pm 89.68$ ng /ml). PAF-AH levels in serum correlate with levels in serum, PAF-AH liver lysate is more than the levels in serum. Immunohistochemistry show that enzyme PAF-AH found in liver tissue constituent cells.

Keywords: PAF-AH, hepar, hyperlipidemic

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular masih menjadi penyebab utama kematian terbesar di semua Negara (WHO, 2011), sebanyak 50% penderita CAD ditemukan pada kondisi lanjut (Syah, 2007). Proses atherogenesis pada manusia memerlukan waktu bertahun-tahun dan tanpa disertai gejala klinik. Gejala klinik mulai dirasakan saat terjadi penyumbatan pembuluh darah yang dapat berakibat fatal (Plutzky dan Libby, 2003). Hiperkolesterol masih

digunakan sebagai faktor risiko utama atherosclerosis, namun sebanyak 35-40% kasus CHD pasien memiliki kadar kolesterol normal (Ballatyne *et al.*, 2007).

Platelet Activating Factor Acetyl Hydrolase (PAF-AH) adalah enzim penghidrolisis phosphatidil-kolin teroksidasi (oxPC) sebagai bagian dari LDL teroksidasi (oxLDL) sehingga menghasilkan lysoPC dan oxFA yang sangat proaterogenik karena menyebabkan feedback positif terhadap produksi

ROS dan PAF-AH yang keduanya secara bersama-sama menyebabkan multiplikasi proses aterosgenesis. PAF-AH yang dihasilkan makrofag sel busa sebagian dilepaskan ke sekitar lesi aterosklerotik dan ke sirkulasi.

PAF-AH dalam sirkulasi dalam bentuk tidak aktif, sebanyak 80% PAF-AH dalam sirkulasi terikat pada apoB di LDL (Irribaren, 2006), sehingga pada saat terjadi infiltrasi LDL ke sub endotel dinding pembuluh darah, PAF-AH terbawa masuk ke jaringan pembuluh darah dan PAF-AH akan menjadi aktif pada saat LDL mengalami oksidasi.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa, kadar enzim PAF-AH plasma darah babi yang diinduksi DM/HC mengalami peningkatan secara eksponensial pada paparan 1 bulan dan relative stabil sampai lama paparan 6 bulan (Shi, *et al.*, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi sehat, tubuh sedikit menghasilkan PAF-AH sedangkan pada DM/HC kadar PAF-AH terus tinggi sehingga dapat digunakan indikator. kondisi patologis/aterogenesis

PAF-AH atau yang kemudian lebih dikenal sebagai Lp-PLA₂ dihasilkan oleh sel-sel inflamasi seperti monosit, makrofag, sel T, mast Cell (Zalewski dan Macphee, 2005; Howard dan Oslon, 2000) sebagai respon terhadap stimulasi oleh oxLDL (Shi, *et al.*, 2007) khususnya oxPC yang merupakan substrat Lp-PLA₂ (Wang *et al.*, 2009). Induksi hiperkolesterol selama 2 dan 4 minggu menunjukkan peningkatan ekspresi Lp-PLA₂ di hepar dan juga di jaringan sub endotel pembuluh darah tikus.

Peningkatan kadar glukosa darah seperti pada diabetes mellitus

dan hiperkolesterol juga meningkatkan ekspresi dan sekresi Lp-PLA₂ secara sangat signifikan (Shi, *et al.*, 2007). Wang (2009) juga menunjukkan bahwa oxLDL menyebabkan upregulasi Lp-PLA₂ yang terjadi melalui induksi aktivasi p38 *mitogen activating protein kinase* (MAPK). Lp-PLA₂ yang dihasilkan disekresikan kemudian terikat apoB dari lipoprotein. Ekspresi Lp-PLA₂ secara signifikan lebih tinggi pada daerah core lipid dari plak yang banyak mengandung makrofag dan banyak oxLDL (Manhein *et al.*, 2007).

Terdapat dua sumber Lp-PLA₂ dalam plak yaitu dari sirkulasi terikat LDL masuk ke intima dan dari hasil sintesis *de novo* oleh sel-sel inflamasi dalam plak aterosklerotik seperti makrofag, T cell dan mast cell (Zalewski dan Macphee, 2005). Penderita diabetes dan hiperkolesterol mengalami peningkatan Lp-PLA₂ (Feistein, 2008). Aktivitas Lp-PLA₂ plasma meningkat mulai 1 bulan induksi dan terus meningkat sebanding dengan lama perlakuan. Transkripsi dan translasi gen Lp-PLA₂ pada kultur PBMC meningkat pada media dengan perlakuan LPS dan AGE (Shi, *et al.*, 2007). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sintesis Lp-PLA₂ dapat dipengaruhi oleh kadar gula dan hiperkolesterol.

PBMC yang dikultur pada media dengan penambahan IL-1 β dan TNF- α menunjukkan peningkatan transkripsi dan translasi Lp-PLA₂ (Shi, *et al.*, 2007). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa transkripsi gen Lp-PLA₂ diregulasi oleh sitokin inflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α , namun hasil sintesis Lp-PLA₂ selain dipengaruhi oleh IL-1 β dan TNF- α juga dipengaruhi oleh LPS dan AGE. (Murray, Granner and

Rodwel. 2003; Halliwell dan Guteridge, 1999). Akumulasi triasilgliserol di hepar atupun di plasma darah sering terjadi pada penderita diabetes yang mengalami gangguan fungsi hepar (Murray, Granner and Rodwel. 2003).

Hepar merupakan organ penting dalam metabolisme lemak. Jaringan hepar juga merupakan organ yang rentan mengalami stress oksidasi. Jaringan hepar tersusun oleh sel hepatosit dan makrofag sel kupfer sebagai.

Hepar sebagai jaringan pusat metabolisme lipoprotein sangat berkaitan dengan perkembangan pembentukan LDL beserta apoB sebagai *binding protein* dari PAF-AH. *Phosphatidyl choline-C* adalah senyawa fosfolipid yang banyak terdapat di lapisan luar lipoprotein dan membran sel. PAF-AH disintesis oleh sel sebagai respon terhadap stimulasi lysoPC. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa jaringan hepar juga menjadi jaringan yang rentan mengalami perlemakan dan mengalami oksidasi oleh radikal bebas sehingga mungkin sekali terbentuknya oxPC di jaringan hepar. Pada penelitian ini dilakukan evaluasi keberadaan PAF-AH dalam serum dan jaringan hepar tikus normal maupun tikus aterogenesis dengan metode elisa maupun IHK.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan Lab. Faal Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang dan Laboratorium Patologi Anatomi RS. Aisyiah Malang dan Lab. Faal FK Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilakukan menggunakan *post test only control group design* yang dilakukan pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*)

Wistar Jantan. Variabel bebas kondisi tikus yang dibedakan antara tikus kondisi kadar gula dan diet normal dibandingkan dengan tikus diabetes diet hiperkolesterol selama 30 hari. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar PAF-AH dalam serum, dalam lisat hepar dan histologi jaringan hepar dengan IHK untuk PAF-AH. Diet hiperkolesterol mengandung 10% lemak sapi, 2% kolesterol dan 0,2% asam kolat.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba adalah kandang berukuran 40x30x20 cm, beserta perlengkapannya seperti tempat makan dan minum tikus; Hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan berumur \pm 2 bulan, kondisi sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif. Tikus didapat dari CV. Gamma Gcientific Biolab Malang. Pakan yang digunakan untuk pakan tikus adalah produk pakan dengan diet kontrol dan hiperkolesterol yang biasa digunakan di Laboratorium farmakologi Universitas Brawijaya. Tikus patologis hiperlipidemi dibuat diabetes/hiperlipidemi dengan penyuntikan STZ dengan multiple dosis 30mg/kgbb secara intra-peritoneal sebanyak 3 kali dengan selang 5 hari dan diberi diet hiperkolesterol selama 30 hari.

Alat dan bahan untuk isolasi organ hepar adalah: seperangkat alat bedah, botol flakon, garam fisiologis, eter, *jar staining*, gelas obyek beserta penutup, kemikalia untuk IHK adalah alcohol, akuades, PBS, H₂O₂, antibodi PAF-AH, SA-HRP, DAB, Meyerhematoxylen dan entelan.

Alat dan bahan untuk analisis enzim PAF-AH adalah: serum darah

EDTA, *deep freezer*, pipet mikro, sentrifuge dan kit PAF-AH produk Cusabio (*assay plate*, konsentrat larutan standar, pelarut sampel, antibody biotin, pelarut antibody biotin, *HRP-avidin*, pelarut *HRP-avidin*, konsentrate buffer pencuci, dH₂O (pengencer buffer pencuci), *TBM Substrate* dan *stop solution*) dan *Elisa reader* yang mampu mengukur absorbansi pada λ 450 nm.

Kadar PAF-AH diukur menggunakan metode Elisa. Keberadaan PAF -AH dalam jaringan hepar dilakukan dengan pengamatan preparat dengan IHK.

Kegiatan Penelitian

Kegiatan penelitian ini meliputi pembuatan diet hiperkolesterol dan pemberian perlakuan berupa diet hiperkolesterol selama 30 hari, pengambilan sampel darah dan jaringan serta pengamatan histologi hepar pada akhir penelitian.

Analisis Data

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar PAF-AH serum dan lisat hepar diantara tikus normokolesterol dengan hiperkolesterol dilakukan analisis ANOVA. Untuk mempermudah analisis data, pada penelitian ini digunakan *software* SPSS dengan output data berupa tabel hasil analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan antara kadar PAF-AH serum maupun lisat hepar pada tikus normal dengan tikus hiperlipidemia ($p < 0,01$) dan tikus hiperlipidemik memiliki kadar PAF-AH lebih tinggi dibandingkan dengan tikus normal ($p < 0,01$) (Tabel 1 dan 2).

Hasil pengamatan kadar PAF-AH dalam lisat hepar menunjukkan adanya perbedaan antara kadar PAF-AH lisat hepar pada tikus normal dengan tikus hiperlipidemia ($p < 0,01$) dan tikus hiperlipidemik memiliki kadar PAF-AH lebih tinggi dibandingkan dengan tikus normal ($p < 0,01$) (Tabel 1). Hasil uji korelasi menunjukkan adanya korelasi positif sangat signifikan ($p < 0,01$) antara kadar enzim PAF-AH serum dengan kadarnya dalam jaringan hepar ($r = 0,761$). Hasil pengamatan preparat hepar dengan metode immunohistokimia yang direaksikan dengan antibody anti PAF-AH menunjukkan ditemukannya enzim PAF-AH dalam jaringan hepar dan berdasarkan hasil deteksi dengan IHK juga menunjukkan terdapat PAF-AH disekitar inti sel (Gambar 1). Oleh karena itu diduga kuat PAF-AH dihasilkan oleh sel di jaringan hepar.

Tabel 1. Hasil uji perbandingan rerata kadar PAF-AH dalam serum darah tikus.

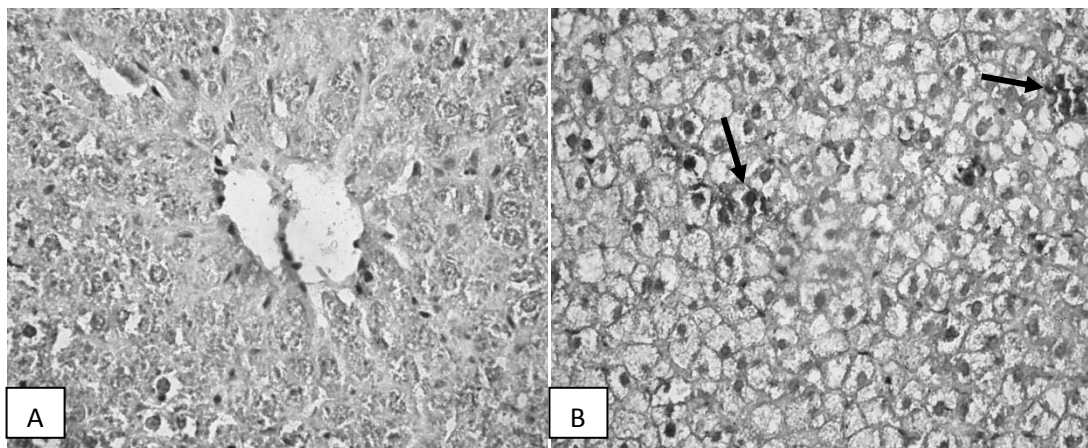
Kelompok dan jumlah sampel tikus	Rerata \pm SDV (ng/ml)	Uji rerata
Normokolesterol (9)	218,93 \pm 106,07	a
hiperkolesterol (10)	408,35 \pm 142,23	b

Keterangan: nilai rerata yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata pada $p < 0,01$

Tabel 2. Hasil uji perbandingan rerata kadar PAF-AH dalam lisat hepar tikus.

Kelompok dan jumlah sampel	Rerata \pm SDV (ng/ml)	Uji rerata
Normokolesterol (9)	275,60 \pm 89,68	a
Hiperkolesterol (10)	554,81 \pm 143,53	b

Keterangan: nilai rerata yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata pada $p < 0,01$



Gambar 1. Histologi preparat dengan pengecatan imunohistokimia hepar pada perbesaran 400X. A. Hepar tikus normokolesterol, B. Hepar tikus hiperkolesterol mengalami perlemakan ditunjukkan oleh sel kosong dengan inti menepi. Warna kecoklatan menunjukkan ekspresi PAF-AH dalam jaringan hepar (tanda panah)

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian ini, jika kita bandingkan dengan kadar PAF-AH dalam serum, kadar PAF-AH dalam lisat hepar lebih tinggi. Jika dibandingkan dengan kadarnya dalam lisat jaringan aorta tikus hiperlipidemia yang mengalami peningkatan jumlah makrofag sel busa sebagai produsen (Susilowati, 2011), kadar PAF-AH dalam lisat hepar juga lebih tinggi. Hal ini menunjukkan hepar berpotensi

sebagai sumber PAF-AH yang ada dalam serum. Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat Tarbet *et al.*, (1991) yang mengamati adanya PAF-AH dalam lobul liver kondisi patologis.

Secara umum stimulator sintesis PAF-AH adalah PAF yang produksinya dapat dihasilkan oleh sel leukosit, platelet, sel endotel dan juga sel lain. Over produksi PAF dapat terjadi pada beberapa kondisi penyakit seperti asma dan ischemia reperfusi (Danozot *et al.*, 2000), serta

selama terjadi peroksidasi lipid (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Hepar dapat terstimulasi menghasilkan PAF-AH karena hepar sebagai pusat metabolisme lipid baik jalur eksogenus maupun endogenus. Hepar termasuk organ yang juga sangat rentan mengalami stress oksidasi, terbukti hepar sering menunjukkan peningkatan kadar MDA dan F₂-Isp pada berbagai kondisi patologis.

Medium kultur yang mengandung oxLDL, IL-1 β , AGE ataupun LPS mampu meningkatkan transkripsi dan produksi serta sekresi PAF-AH (Shi *et al.*, 2007). Sitokin IL-1 β dapat ditingkatkan pembentukannya oleh stimulasi lisoPC (Zalewski dan Macphee, 2005). Tentunya lisoPC yang terbentuk dalam hepar juga meningkat seiring terjadinya peningkatan metabolisme lipid seperti pada hiperlipidemia. Karena pada hiperlipidemia juga cenderung mengalami stress oksidasi sehingga kemungkinan pembentukan oxPC sebagai prekursor pembentukan lisoPC juga meningkat, hingga akhirnya IL-1 β meningkat kemudian diikuti peningkatan sintesis PAF-AH.

Sebagian besar literatur menyebutkan bahwa LP-PLA₂ dalam sirkulasi berasal dari makrofag dan hanya sebuah sumber yang ditemukan menunjukkan bahwa Lp-PLA₂ dalam sirkulasi serupa dengan yang dihasilkan oleh hepar. Lp-PLA₂ disintesis secara konstitutif oleh jaringan hepar normal dalam jumlah kecil, sintesis meningkat pada sel hepar yang mengalami dediferensiasi atau transformasi (Tarbet, *et al.*, 1991). Lp-PLA₂ disintesis oleh beberapa sel darah dan jaringan lain (Murray, Granner and Rodwel,

2003). Howard dan Oslon (2000) telah membuktikan bahwa sintesis PAF-AH mengalami upregulasi di sel kupfer, kelenjar limfe, paru-apru, ginjal dan sel sinusoidal hepar dari tikus yang dipapar LPS. Sementara data lain juga menunjukkan bahwa Lp-PLA₂ jumlahnya sangat bervariasi pada individu –CHD dan non kolesterol. Hipertrigliseridemia non kolesterol juga telah terbukti mampu menginduksi disfungsi endotel pada tikus (Bartus, *et al.*, 2005).

Pada manusia gen pengkode Lp-PLA₂ terdapat pada kromosom nomor 1. Lp-PLA₂ sebagai marker inflamasi dan stress oksidasi pada aterosclerosis, kondisi adipositas dapat menstimulasi respon genetic Lp-PLA₂ (Diego *et al.*, 2007). Lipopolisakarida melalui TLR-4 dapat mengaktifasi jalur p38MAPK pada makrofag meningkatkan transkripsi Lp-PLA₂ (Zalewski dan Macphee, 2005). Lingkungan sel atau jaringan seperti kadar lipid mengaktifasi reseptor *G-protein linked receptor* di membrane sel yang kemudian menstimulasi perubahan *phosphoinositol bophosphate* (PiP₂) menjadi *inositol-triphosphate* (IP₃) dan *diacylglycerol* (DAG). Pada tahapan lebih lanjut DAG mengaktifasi kinase C, dan selanjutnya mefosforilasi *mitogen activated kinase* (p38MAPK) dalam sitosol. MAPK terfosforilasi bermigrasi ke nukleus kemudian memfosforilasi protein regulator elk1 dari gen pengkode Lp-PLA₂. Fosforilasi elk1 mengaktifasi transkripsi gen target (Albert *et al.*, 1994).

Sebagai enzim, kestabilan molekul PAF-AH memerlukan apoB sebagai binding protein yang banyak terdapat terikat lipoprotein dalam

sirkulasi, sehingga PAF-AH ditemukan dalam serum darah. Bersama dengan lipoprotein, PAF-AH mengikuti sirkulasi dan dalam kadar berlebih sangat berperan dalam patologi aterosklerosis sehingga perlu upaya penurunannya.

Jaringan hepar tidak hanya tersusun oleh sel hepatosit sebagai penyusun utama, dalam jaringan hepar juga banyak terdapat makrofag sel kupfer diantara sel hepatosit. Penggunaan antibodi anti PAF-AH saja dalam penelitian ini belum dapat mendeteksi tentang jenis sel penghasil PAF-AH antara sel hepatosit atau sel kupfer dalam jaringan hepar. Oleh karena itu, perlu dilakukan *double counterstain* antara antibodi PAF-AH dengan antiCD-68 sebagai penanda makrofag untuk memastikan jenis sel penghasil PAF-AH dalam jaringan hepar. Selain itu, perlu dilakukan penelitian potensi bahan hepatoprotektor terhadap penurunan kadar PAF-AH serum

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar enzim PAF-AH dalam serum tikus hiperkolestreol lebih tinggi dibandingkan tikus normokolesterol.
2. Kadar enzim PAF-AH dalam lisat jaringan hepar tikus normokolesterol lebih tinggi dibandingkan tikus normokolesterol
3. Kadar enzim PAF-AH dalam lisat jaringan hepar lebih tinggi dibandingkan tikus kadarnya dalam serum..
4. Enzim PAF-AH diduga kuat diekspresi oleh sel hepar.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian tentang potensi bahan hepatoprotektor terhadap penurunan kadar PAF-AH serum dan perannya penghambatan aterogenesis
2. Untuk memastikan sel penghasil PAF-AH antara sel hepatosit dengan sel kupffer sebagai penghasil PAF-AH, maka perlu dilakukan uji IHK dengan penanda ganda yang terdiri dari antibodi anti PAF-AH dan antibody anti CD-68 sebagai penanda sel makrofag.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Watson JD. 1994. *Moleccular Biology of The Cell* Third Edition. Garland Publishing, Inc. New York & London.
- Ballantyne, C.M., J.H. O'Kee, A.M. Gotto, 2007. *Dyslipidemia Essentials*. Physician Press, New York. pp. 1-63.
- Bartus M., M. Lomnicka, B. Lorkowska, M. Franczyk, R.B. Kostogry, P.M. Pisilewski, S. Chlopicki, *Pharmacological Report* 57: 127-137
- Danozot Y, C. Aupetit, F. Bridaux, J.C. Alphone, M. Cogne and J.C. Aldigier, 2000. Deregulated Paltelet Activating Factor Levels and Acetylhydrolase Activity in Patients With Idiopathic IgA Nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 15: 1344-1347.
- Diego VP., Rainwater DL., Wang X., Cole SA. Curran JE., Johnson MP., Jowett JB., Dyer TD., Williams JT., Moses EK., Comuzzie AG., MacCluer JW., Mahaney MC. And Blangero J. 2007. GenotypeXAdiposity

- Interaction Linkage Analyses Reveal a Locus on Chromosome 1 for Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂, a Marker of Inflammation and Oxidative Stress. *The American Journal of Human Genetics* **80**: 168-177.
- Feinstein, SB., 2008, *Non Invasive Surrogate Marker of Atherosclerosis*, Informa Healthcare, Informa KU Ltd, London
- Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge, 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine* 3rd ed., Oxford University Press, NewYork. pp. 27-250
- Howard, K.M., and M.S. Oslon, 2000. The Expression and Localization of Plasma Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase in Endotoxemic Rats. *The Journal of Biological Chemistry* **275**: 19891-19896
- Iribarren, C. 2006. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ and Cardiovascular Risk State of the evidence and Future Directions. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol.* **(26)**: 5-6.
- Mannheim, D., J. Herrman, D. Versari, M. Gossel, F.B. Meyer, J.P. McConnell, L.O. Lerman, and A. Lerman, 2008. Enhanced Expression of Lp-PLA₂ and Lysophosphatidylcholine in Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaques. *Stroke* **39**: 1448-1455
- Murray,R., Granner, DK. And Rodwell, VW. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry*. MC. Hill.
- Plutzky, P., and P. Libby, 2003. *Pathophysiology of Atherosclerotic Heart Disease*, Andrew M Topkin (ed). Atherosclerosis and Heart Disease. Martin Dunitz pp.1-13
- Shah, PK. 2007. Molecular Mechanisms of Palque Instability. *Current Opinion in Lipidology* **(18)**:492-499.
- Shi, Y., Zhang, P., Zhang, L., Osman, H., Mohler, ER., Macphee, C., Zalewski, A., Postle, A., Wilensky. 2007. Role of Lipoprotein-associated Phospholipase A₂ in Leukocyte Activation and Inflammatory Responses. *Atherosclerosis* **191**: 54-62.
- Susilowati R, 2011. Peran Lp-PLA₂ sebagai AktiVator Proses Aterogenesis, Disertasi FK Universitas Brawijaya.
- Tarbet, EB., Staforini DM., Elstad MR., Zimmerman GA., McIntire TM., and Prescott SM. 1991. Liver Cells Secrete the Plasma Form of Platelet-activating Factor Acetylhydrolase. *The Journal of Biological Chemistry.* **266**. (25) Issue of September 5: 16667-16673.
- Wang, W.Y., J. Li, D. Yang, W. Xu, R. Zha, Y. Wang, 2009. oxLDL Stimulates Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Expression in THP-1 Monocytes via PI3K dan p38 MAPK Pathways, *Cardiovascular Research* : 1-8
- WHO, Mendis S, Puska P and Norrving B (editor), 2011, Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control, Geneva
- Zalewski, A. and Macphee. 2005. Role of Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ in Atherosclerosis: Biology, Epi-

demiology, and Possible
Thearpeutic Target. Arte-
riosclerosis, Thrombosis, and

Vascular Biology. *Journal of
The American Heart
Assocoation* **25**:923-931.