

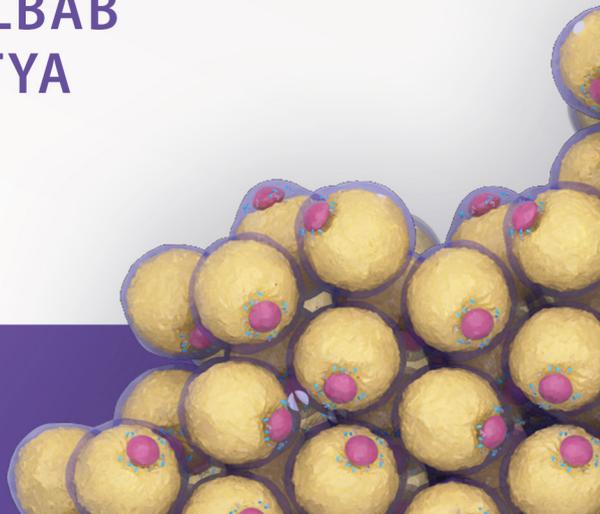


ADIPOGENESIS

PERKEMBANGAN ADIPOSA
DARI SEL PUNCA HINGGA ADIPOSIT



PURWO SRI REJEKI
CHABIB FACHRY ALBAB
RIZKA EKA PRASETYA



ADIPOGENESIS

PERKEMBANGAN ADIPOSA
DARI SEL PUNCA HINGGA ADIPOSIT

Pasal 113 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta:

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

ADIPOGENESIS

PERKEMBANGAN ADIPOSA
DARI SEL PUNCA HINGGA ADIPOSIT

PURWO SRI REJEKI
CHABIB FACHRY ALBAB
RIZKA EKA PRASETYA



ADIPOGENESIS

Perkembangan Adiposa dari Sel Punca Hingga Adiposit

Purwo Sri Rejeki; Chabib Fachry Alba; Rizka Eka Prasetya

ISBN 978-602-473-740-5(PDF)

© 2021 Penerbit **Airlangga University Press**

Anggota IKAPI dan APPTI Jawa Timur
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
E-mail: adm@aup.unair.ac.id

Bekerja sama dengan

Direktorat Inovasi dan Pengembangan Pendidikan UNAIR

Kampus C Unair, Gedung Kahuripan Lt. 2, Ruang 203, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5920424 Fax. (031) 5920532 E-mail: direktorat@ditipp.unair.ac.id

Redaktur (Anas Abadi)

Layout (Djaiful)

Cover (Erie Febrianto)

AUP (1097/07.21)

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.

Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.



Kata Pengantar

Adipogenesis didefinisikan sebagai pertumbuhan dan perkembangan jaringan adiposa (lemak), termasuk di dalamnya proliferasi sel-sel adiposa dan diferensiasi sel-sel ini menjadi adiposit dewasa. Jaringan adiposa berperan penting dalam penyimpanan lipid, homeostasis energi, dan sensitivitas insulin yang ada di keseluruhan tubuh manusia. Banyak studi lebih dari dua dekade telah menetapkan jaringan adiposa sebagai organ dinamis yang membawa beberapa proses fisiologis penting. Oleh karena itu, penting untuk memahami jaringan adiposa, termasuk perannya di dalam tubuh, proses yang terlibat, dan bagaimana jaringan adiposa terbentuk.

Penulis yakin jika banyak di antara kita sedikit banyak mengetahui bagaimana adipogenesis berlangsung. Penulis ingin menekankan akan kesadaran kita untuk menyelami ilmu pengetahuan yang sudah diwariskan Sang Pencipta untuk lebih mendalami dan mengetahui konsep dasar proses perlemakan ini, sehingga bisa mengaplikasikannya dalam kehidupan sehari-hari. Buku yang berjudul “Adipogenesis – Perkembangan Adiposa dari Sel Punca Hingga Adiposit” ini disusun sebagai bahan informasi tambahan untuk mahasiswa kedokteran, mahasiswa bidang kesehatan lainnya, tenaga kesehatan, atau peneliti di bidang kesehatan yang berminat pada topik perkembangan adiposa.

Kepada semua pihak yang telah membantu menyusun dan menulis buku ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas kerja kerasnya sehingga buku ini berhasil diterbitkan. Masukan dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk meningkatkan kualitas penulisan buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak terutama bagi mahasiswa kedokteran dan tenaga medis lainnya.

Surabaya, Juni 2021

Penulis



Daftar Isi

Kata Pengantar	v
Daftar Gambar.....	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Singkatan	xiii

BAB 1

MACAM ADIPOSIT	1
1.1 Jaringan Lemak Putih (Lemak Unilokuler).....	3
1.1.1 Penyebaran Jaringan Lemak Putih.....	4
1.1.2 Reseptor Sel Lemak Putih.....	5
1.1.3 Fungsi Endokrin Jaringan Lemak Putih.....	5
1.1.4 Adipositokin.....	6
1.1.5 Aspek Klinis	6
1.2 Jaringan Lemak Cokelat (Lemak Multilokuler).....	8
1.2.1 Histofisiologi Lemak Cokelat	10
1.2.2 Histogenesis Jaringan Lemak.....	11

BAB 2

INTRODUKSI ADIPOGENESIS	15
2.1 Adiposit	17
2.1.1 Asal Mula Adiposit	18
2.1.2 Sel Punca Pluripoten.....	19
2.2 Preadiposit.....	19
2.2.1 Jalur Sel Preadiposit	19
2.2.2 Sel Punca Mesenkimal	21

BAB 3

TAHAPAN ADIPOGENESIS: DARI SEL PUNCA HINGGA ADIPOSIT	23
3.1 Fase Komitmen: Sel Punca Pluripoten hingga Preadiposit.....	24
3.1.1 Pensinyalan Protein Morfogenik Tulang.....	25
3.1.2 Promotor BMP Berganti Selama Komitmen.....	27
3.1.3 Target Hilir Persinyalan BMP.....	28
3.1.4 Persinyalan Wnt.....	28
3.1.5 Wnt Mengaktifkan Komitmen Garis Keturunan MSC..	29
3.1.6 Wnt Menghambat Diferensiasi Terminal	30
3.1.7 <i>Hedgehog Signaling</i>	30
3.1.8 Persinyalan Protein Retinoblastoma	31
3.2 Diferensiasi: Preadiposit hingga Adiposit.....	32
3.2.1 Induksi Diferensiasi.....	32
3.2.2 Ekspansi Klonal Mitosis.....	33
3.2.3 Penangkapan Pertumbuhan.....	34
3.2.4 Transisi Fase G1-S.....	34
3.2.5 Faktor Kaskade Transkripsi	35
3.2.6 Respons Siklik AMP terhadap Elemen Pengikat Protein.....	36
3.2.7 Keluarga Pengikat CCAAT	37
3.2.8 CCAAT/ <i>Enhancer-Binding Protein</i> - β dan - δ	37
3.2.9 CCAAT/ <i>Enhancer-Binding Protein</i> - α	39

3.2.10	CHOP10.....	40
3.2.11	Peroksisisome Proliferator – <i>Activated Receptor-γ</i>	41
3.2.12	Sterol Pengatur Protein Pengikat Elemen.....	41
3.2.13	Remodeling Histon dan Kromatin	42
3.2.14	Peran miRNA dalam Adipogenesis.....	43

BAB 4

KONTROL TRANSKRIPSI PEMBENTUKAN ADIPOSIT..... 45

4.1	Pengatur Diferensiasi Preadiposit (Adipogenesis) dan Fungsi Adiposit	46
4.2	Regulator Utama Adipogenesis	47
4.2.1	C/EBPb dan C/EBPd	50
4.3	Faktor Adipogenik Lainnya.....	52
4.3.1	Peran Ekspansi Klonal dan Protein yang Terkait Siklus Sel dalam Mengatur Adipogenesis.....	55
4.3.2	E2F, Protein Saku, dan Adipogenesis.....	55
4.3.3	Pengaturan Negatif Adipogenesis.....	57
4.3.4	Peran Koregulator dalam Mengendalikan Faktor Transkripsi Adipogenik	60

BAB 5

KOMPOSISI MATRIKS EKSTRASELULER ADIPOSIT, DINAMIKA, DAN PERAN DALAM OBESITAS 63

5.1	Komposisi Protein Matriks Ekstraseluler Adiposit.....	65
5.1.1	Perkembangan Matriks Ekstraseluler Bifasik Selama Adipogenesis.....	72
5.2	Pemeliharaan Matriks Ekstraseluler Adiposit.....	74
5.3	Dinamika ECM: Peran untuk Pemrosesan Protein ECM Enzim	75
5.4	Peraturan Dinamika ECM	81
5.4.1	Regulasi ECM dan insulin.....	81
5.4.2	Regulasi ECM dan Metabolisme Energi	82

5.4.3	Peraturan ECM dan Kekuatan Mekanik.....	85
5.4.4	Regulator ECM Lainnya.....	85
5.5	Adiposit ECM, Pengaturan Berat Badan, dan Obesitas.....	86

BAB 6

	ADIPOGENESIS DAN LIPOTOKSISITAS	89
6.1	Jaringan Adiposa, Jaringan Sekresi Endokrin	90
6.2	Peran Jaringan Adiposa pada Lipotoksisitas dan Resistansi Insulin.....	92
6.3	PPARG, Adipogenesis, dan Lipotoksisitas	93
6.4	Peran PGC1 dalam Mencegah Lipotoksisitas	96
	Daftar Pustaka.....	99
	Glosarium.....	111



Daftar Gambar

Gambar 1.	Jaringan lemak putih dengan sel-sel yang unilokuler (bagian atas) dan jaringan lemak coklat dengan sel-sel yang multilokuler (bagian bawah)	4
Gambar 2.	Fotomikrograf menggunakan pembesaran tinggi memperlihatkan sel-sel lemak coklat dengan inti bulat yang sering terletak di tengah. Pada beberapa sel, inti terdesak ke tepi oleh droplet lemak besar	9
Gambar 3.	Diagram sel lemak multilokuler	9
Gambar 4.	Penyebaran lemak coklat pada neonatus (sekitar (sekitar 2–5% dari berat badan)	12
Gambar 5.	Efek dari antagonis BMP4, <i>noggin</i> terhadap perolehan karakteristik adiposit oleh sel A33.....	26
Gambar 6.	Usulan skema kejadian untuk komitmen mesenchymal stem cells (MSCs) terhadap garis keturunan adiposit.....	27
Gambar 7.	Sinkronisasi replikasi DNA selama perluasan klonal mitosis dari program diferensiasi adiposit	33
Gambar 8.	Skema untuk perubahan konformasi diinduksi fosforilasi ganda di C/EBP β	34
Gambar 9.	Program diferensiasi adiposit	35
Gambar 10.	Induksi adipogenesis oleh kaskade faktor transkripsi	54

Gambar 11. Peran protein siklus sel dalam mengatur adipogenesis.....	57
Gambar 12. Kontrol negatif adipogenesis.....	65
Gambar 13. Visualisasi matriks ekstraseluler dari preadiposit 3T3-L1 sitosol.....	65
Gambar 14. Gambaran dari beberapa protein yang terlibat dalam kontrol pemeliharaan dan pergantian dari adiposit ECM.....	79
Gambar 15. Ringkasan faktor-faktor yang memengaruhi aktivitas PH/PDI kompleks enzim.....	84
Gambar 16. Adipogenesis dan lipotoksisitas.....	92



Daftar Tabel

Tabel 1.	Daftar protein utama yang menjadi bagian dari matriks ekstraseluler adiposit dengan bukti hasil udi proteomik.	66
Tabel 2.	Enzim pada protein matriks ekstraseluler.	76



Daftar Singkatan

ADAMTS-2	: <i>A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Type 1</i>
ADD1	: <i>Alpha Adducin</i>
ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
AKT	: <i>Protein Kinase B</i>
AMP	: <i>Adenosine Monophosphate</i>
apoE	: <i>Apolipoprotein E</i>
ARF6	: <i>ADP Ribosylation Factor 6</i>
ARNT 1	: <i>Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator 1</i>
ASP	: <i>Acylation Stimulating Protein</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
aP2	: <i>Human Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein</i>
AP-2 α	: <i>Activator-Protein 2α</i>
ApoE	: <i>Apolipoprotein E</i>
BAT	: <i>Brown Adipose Tissue</i>
BIP	: <i>Bovine Intramuscular Pre-adipocyte</i>
b-ZIP	: <i>Basic Region-Leucine Zipper</i>
BMAL1	: <i>Brain and Muscle ARNT-Like 1</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenic Protein</i>
BMP _r	: <i>Bone Morphogenetic Protein Receptor</i>

CA-BMP r1A	: <i>Constitutively active Bone Morphogenetic Protein Receptor 1A</i>
cAMP	: <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i>
C/EBP α	: <i>CCAAT Enhancer Binding Protein α</i>
CHOP10	: <i>C/EBP Homologous Protein</i>
CREB	: <i>cAMP-Response Element Binding Protein</i>
CpG	: <i>Cytosine-Guanine-Rich Oligonucleotide</i>
cDNA	: <i>Complementary Deoxyribonucleic Acid</i>
COL4A2	: <i>Collagen Type IV Alpha 2 Chain</i>
COL1A1	: <i>Collagen Type I Alpha 1 Chain</i>
COL1A2	: <i>Collagen Type I Alpha 2 Chain</i>
CO $_2$: <i>Carbon Dioxide</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
cyclin D/Cdk4	: <i>Cyclin D–Cyclin-Dependent Kinase 4</i>
Cyt	: <i>Cytosol</i>
DIPA	: <i>Deltainteracting Protein A</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DNase	: <i>Deoxyribonuclease</i>
DXM	: <i>Deksametason</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EDHB	: <i>Ethyl-3,4-Dihydroxybenzoate</i>
EMILIN1	: <i>Elastin Microfibril Interface 1</i>
E2F	: <i>Transcription Factor</i>
ER	: <i>Endoplasmic Reticulum</i>
ERK	: <i>extracellular signal-regulated kinase</i>
ES	: <i>Sel Embrionik</i>
F-actin	: <i>Filamentous Actin</i>
FABP4	: <i>Fatty Acid-Binding Protein 4</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
FoxO1	: <i>Forkhead Box O1</i>
GLUT-4	: <i>Glucose Transporter Type 4</i>
GSK-3 β	: <i>Glycogen Synthase Kinase-3β</i>
GTP	: <i>Guanosine Triphosphate</i>
HDAC	: <i>Histone Deacetylase</i>

HDL-c	: <i>High-Density Lipoprotein Cholesterol</i>
HFD	: <i>High Fat Diet</i>
Hh	: <i>Hedgehog</i>
HIF-1a	: <i>Hypoxia-Inducible Transcription Factor 1a</i>
HLH	: <i>Helix-Loop-Helix</i>
HSPGs	: <i>Heparan Sulfate Proteoglycans</i>
IGF-1	: <i>Insulin-Like Growth Factor-1</i>
IL-6	: <i>Inter-Leukin-6</i>
Insig-2	: <i>Insulin Induced Gene-2</i>
IRS-1	: <i>Insulin Receptor Substrate 1</i>
KLF5	: <i>Kruppel-Like Factor 5</i>
KO	: <i>Knockout</i>
LDL-c	: <i>Low-Density Lipoprotein Cholesterol</i>
Lef 1	: <i>Lymphoid Enhancer-Binding Factor 1</i>
Lox	: <i>Lysyl oxidase</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
LRPs	: <i>Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Proteins</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MCE	: <i>Mitotic Clonal Expansion</i>
MEFs	: <i>Mouse Embryonic Fibroblasts</i>
Mes	: <i>Displasia Mesenkimal</i>
MIX	: <i>Methylisobutylxanthine</i>
MMPs	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
MSC	: <i>Mesenchimal Stem Cell</i>
MSX-2	: <i>Msh Homeobox 2</i>
MT1-MMP	: <i>Membrane Type I-Matrix Metalloproteinase</i>
NADH	: <i>Nikotinamida Adenosin Dinucleotide Hidrogen</i>
ob/ob	: <i>Genetik Obesitas</i>
O ₂	: <i>Oksigen</i>
P4HA1	: <i>Prolyl 4-Hydroxylase Subunit Alpha-1</i>
P4HB	: <i>Prolyl 4-Hydroxylase Beta Chain</i>
PAI	: <i>Plasminogen-Activator Inhibitors</i>
PAI-1	: <i>Plasminogen-Activator Inhibitors Tipe 1</i>
PCOLCE	: <i>Procollagen C-Endopeptidase Enhancer</i>
PDIA	: <i>Protein Disulfide Isomerase Family A</i>

PGC1a	: <i>Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Coactivator 1 Alpha</i>
PH	: <i>Prolyl Hidroksilase</i>
PPAR- γ	: <i>Peroxisome Proliferator Activator Receptor γ</i>
PPAR γ 2-c	: <i>Peroksisome Proliferator-Activated Receptor c</i>
Ptch-1, Ptch-2	: <i>Reseptor Patched</i>
pRb	: <i>Retinoblastoma Protein</i>
qPCR	: <i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
RA	: <i>Retinoic Acid</i>
Rb	: <i>Retinoblastoma</i>
RE	: <i>Retikulum Endoplasma</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
RNAi	: <i>RNA interference</i>
mRNA	: <i>Messenger-RNA</i>
RT-PCR	: <i>Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
Runx2	: <i>Runt-Related Transcription Factor 2</i>
RXR	: <i>Retinoid X Receptor</i>
SCAP	: <i>SREBP-Cleavage-Activating Protein</i>
Sec	: <i>Secreted</i>
SPARC	: <i>Secreted Protein Acidic And Rich In Cysteine</i>
SREBPs	: <i>Sterol Regulatory-Binding Protein</i>
STAT	: <i>Signal Transducer And Activator Of Transcription</i>
T3	: <i>Triiodotironin</i>
T4	: <i>Tiroksin</i>
TCA	: <i>Tricarboxylic Acid</i>
Tcf	: <i>T-Cell Specific Transcription Factor</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
Thr188	: <i>Inovitrogen Anti-Phospho-TRF2</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase</i>
TLE	: <i>Transducin-Like Enhancer</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor α</i>
Tpt1	: <i>Tumor Protein, Translationally-Controlled 1</i>
t-PA	: <i>Tissue Plasminogen Activator</i>
TZD	: <i>Tiazolidinedion</i>
u-PA	: <i>Urokinase-Type Plasminogen Activator</i>

UCP-1 : *Uncouple Protein 1*
VLDL : *Very Low Density Lipoprotein*
WAT : *White Adipose Tissue*



BAB

Macam Adiposit

Jaringan lemak merupakan salah satu organ terbesar dalam tubuh. Pada laki-laki dengan berat badan normal terdapat jaringan lemak sekitar 15–20% dan pada perempuan sekitar 20–25% dari total berat badan. Jaringan lemak merupakan gudang penyimpanan tenaga atau energi dalam bentuk trigliserida. Pada mamalia umumnya termasuk manusia, di antara waktu makan tetap dapat menghasilkan tenaga secara terus-menerus. Kebanyakan dari tenaga ini dihasilkan oleh jaringan lemak (setiap gram trigliserida dapat menghasilkan 9,3 kkal dibandingkan karbohidrat yang menghasilkan 4,1 kkal). Cadangan jaringan lemak dalam tubuh ini dapat berfungsi sebagai cadangan energi selama 2 bulan.

Dalam tubuh terdapat dua jenis jaringan lemak yang berbeda dalam hal penyebaran atau lokalisasi, warna, vaskularisasi, dan aktivitas metabolisme. Kedua jaringan lemak tersebut ialah jaringan lemak putih dan jaringan lemak coklat. Gambaran histologi jaringan lemak putih yaitu sel-sel lemak hanya mengandung satu vakuola besar dalam sitoplasma sehingga dinamakan juga lemak unilokuler. Jenis ini tersebar di seluruh bagian tubuh. Berbeda halnya dengan jaringan lemak coklat di mana sel-sel lemak mengandung banyak vakuola dalam sitoplasma sehingga dinamakan juga lemak multilokuler. Jenis ini terutama ditemukan pada bayi yang baru lahir dan jumlahnya lebih sedikit daripada jaringan lemak putih. Terdapat beberapa fungsi jaringan lemak, yaitu sebagai berikut.

- a. Tempat penyimpan lemak yang sewaktu-waktu dapat diubah menjadi tenaga.
- b. Turut membentuk lekuk-lekuk anatomis permukaan tubuh.
- c. Sebagai penyerap tekanan (*shock absorbent*). Fungsi ini terutama pada tempat-tempat yang biasanya mendapat tekanan besar, seperti: telapak kaki dan telapak tangan. Lemak di daerah ini lebih berfungsi sebagai jaringan penyokong.
- d. Mengisolasi panas dalam tubuh sebab jaringan lemak bersifat sebagai penghantar panas yang buruk.
- e. Mengisi rongga-rongga tubuh, sehingga organ-organ tubuh dapat terfiksasi dengan baik.

Fungsi-fungsi di atas merupakan fungsi jaringan lemak putih, sedangkan lemak coklat kebanyakan hanya berfungsi pada bayi yang baru lahir untuk menghasilkan panas.

1.1 JARINGAN LEMAK PUTIH (LEMAK UNILOKULER)

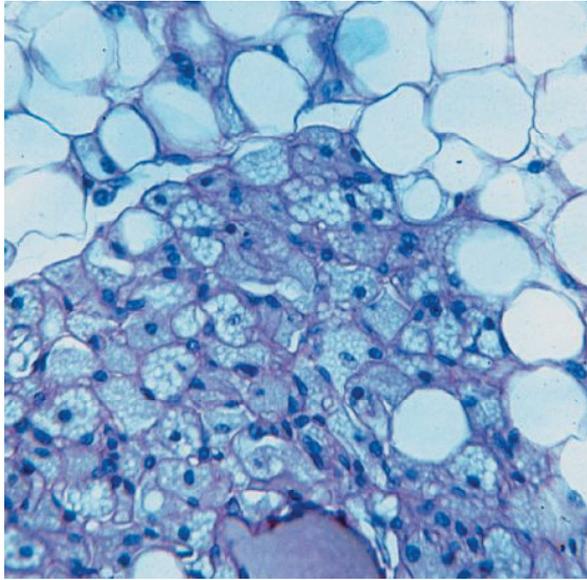
Jaringan lemak putih memiliki struktur warna putih sampai kekuningan, tergantung dari jumlah bahan karotenoid. Karotenoid adalah pigmen yang terdapat dalam tumbuhan (wortel, beberapa jenis buah-buahan, dan sayur-sayuran terutama yang berwarna merah jingga) yang larut dalam lemak. Sel lemak putih memiliki banyak vakuola pada awal perkembangannya, namun vakuola-vakuola tersebut bersatu membentuk vakuola tunggal.

Pada sediaan histologi rutin, yang dapat terlihat pada sel lemak hanyalah dinding sel lemak yang terputus-putus dengan lapisan sitoplasma tipis disertai inti, sedangkan lemaknya telah terekstraksi pada waktu pembuatan sediaan (Gambar 1).

Pada sediaan agak tebal, dinding sel lemak dapat terlihat utuh. Untuk memperlihatkan lemak dalam sel dapat digunakan teknik potong beku, di mana jaringan dibekukan dengan pendinginan dan langsung dipotong (lemak tidak terekstraksi) atau dengan bahan yang tidak dapat mengekstraksi lemak dari dalam sel, sehingga dapat dilihat dengan pulasan khusus, seperti *Sudan oil red* (merah), *Sudan oil black* (hitam), dan asam osmium (hitam).

Setiap sel lemak dikelilingi oleh jala-jala halus retikuler. Pada jaringan lemak yang lebih besar terutama pada area tubuh yang berfungsi sebagai penyerap tekanan, seperti telapak kaki dan tangan, terdapat septa-septa jaringan ikat yang cukup tebal, sehingga jelas terlihat membentuk lobulus jaringan lemak. Pada daerah lain, septa sangat tipis sehingga susunan lobulus tidak terlalu jelas.

Jaringan lemak putih memiliki banyak vaskularisasi kapiler dan persarafan pada daerah sudut-sudut pertemuan antara sel-sel lemak, sedangkan ujung-ujung saraf simpatis terlihat berakhir pada dinding pembuluh darah, tidak pada sel lemak.



Gambar 1. Jaringan lemak putih dengan sel-sel yang unilokuler (bagian atas) dan jaringan lemak cokelat dengan sel-sel yang multilokuler (bagian bawah) (Mescher, 2010).

1.1.1 Penyebaran Jaringan Lemak Putih

Jaringan lemak putih banyak terdapat pada jaringan subkutan. Banyaknya akumulasi lemak putih pada area tubuh tertentu berbeda-beda, tergantung pada umur dan jenis kelamin. Pada anak-anak, terutama yang baru lahir, lapisan lemak hampir merata di semua jaringan subkutan dan dinamakan panikulus adiposus. Pada usia dewasa lemak ini akan menipis pada daerah tertentu, tetapi pada beberapa daerah akan menebal.

Ketebalan lemak pada beberapa daerah berbeda antara laki-laki dan perempuan karena pengaruh hormonal. Pada laki-laki, timbunan lemak berada pada daerah kuduk, jaringan subkutan di atas muskulus deltoideus dan trisep, daerah lumbosakral, serta gluteus. Pada perempuan timbunan lemak berada pada daerah dada, bokong, *epitrochanter*, serta permukaan anterior dan lateral paha. Penimbunan lemak pada daerah omentum, mesenterium, dan retroperitoneal juga berbeda antara laki-laki dan perempuan. Lemak di daerah ini dilepaskan paling awal bila tubuh

memerlukan energi. Penimbunan yang terjadi pada daerah omentum ini dikenal sebagai obesitas sentral.

1.1.2 Reseptor Sel Lemak Putih

Terdapat berbagai jenis reseptor pada sel lemak putih yang berkaitan dengan fungsi sel sebagai berikut.

- a. Reseptor insulin: bertugas meningkatkan ambilan glukosa yang kemudian akan diubah menjadi trigliserida.
- b. Reseptor epinefrina: efedrina yang dilepaskan dari ujung saraf simpatis akan terikat pada reseptor di endotel kapiler jaringan lemak kemudian akan mengaktifkan adenilil siklase dalam sel lemak yang menyebabkan meningkatnya lipolisis (hubungan dengan olahraga).
- c. Reseptor estrogen: memengaruhi penyebaran jaringan lemak pada perempuan.
- d. Reseptor adrenokortikoid: menyebabkan hipertrofi lokal sel-sel lemak di daerah servikal bawah; yang dikenal sebagai *buffalo hump*.

Beberapa hormon lain juga berperan pada berbagai langkah metabolisme lemak, seperti hormon pertumbuhan, hormon prolaktin, dan hormon tiroid.

1.1.3 Fungsi Endokrin Jaringan Lemak Putih

Mulanya jaringan lemak putih yang juga dikenal sebagai *cinderella organ* dianggap hanya sekadar tempat cadangan lemak dan tempat penyimpanan cadangan energi dalam bentuk trigliserida. Pada tahun 1987, jaringan lemak berhasil diidentifikasi sebagai tempat utama terjadinya metabolisme steroid hormon seks dan produksi adipisin, yaitu faktor yang mengalami *down regulation* pada rodent yang obes. Pada tahun 1994, terdapat penemuan bahwa jaringan lemak menghasilkan sejenis polipeptida leptin, sehingga jaringan lemak digolongkan sebagai jaringan endokrin. Penelitian kemudian membuktikan jaringan lemak berperan dalam hal integrasi sinyal-sinyal endokrin, metabolik, dan inflamasi untuk mengatur homeostasis energi.

Sel-sel lemak dan stroma vaskuler jaringan lemak ternyata menyekresi berbagai hormon, faktor pertumbuhan, protein bioaktif, dan molekul-molekul kecil ke dalam sirkulasi. Telah dilaporkan terdapat sekitar 47 jenis bahan yang dihasilkan oleh sel lemak, yang keseluruhannya dikelompokkan sebagai adipositokin atau adipokin yang masing-masing dapat bekerja secara autokrin, parakrin, maupun endokrin.

1.1.4 Adipositokin

Adipositokin yang telah banyak diteliti antara lain: leptin, *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), Inter-leukin-6 (IL-6), komplemen C3, *Acylation Stimulating Protein* (ASP), enzim lipoprotein lipase (LPL), Apolipoprotein E (Apo-E), faktor pertumbuhan (TGF, IGF-1), angiotensinogen, *Plasminogen-Activator Inhibitors Tipe 1* (PAI-1), adipisin, resistin, *PPAR- γ -Regulated Angiopoietin-Related Protein* (PGAR), dan belakangan ini ditemukan adiponektin. Bahan-bahan tersebut di atas dapat berefek pada organ-organ lain, juga dapat saling memengaruhi satu dengan yang lain. Dengan demikian, jaringan lemak ini sekaligus berfungsi sebagai organ endokrin, parakrin, dan autokrin.

Dari sekian banyak bahan yang dihasilkan oleh jaringan lemak belakangan ini yang menarik banyak perhatian para peneliti ialah adiponektin karena merupakan satu-satunya adipositokin yang mempunyai kadar rendah pada resistansi insulin, toleransi glukosa yang terganggu, diabetes melitus tipe 2, obesitas, dan penyakit kardiovaskular. Bila adiponektin dapat mengendalikan keadaan atau penyakit-penyakit tersebut maka diharapkan dapat berfungsi protektif, bertentangan dengan fungsi adipositokin lainnya.

1.1.5 Aspek Klinis

Obesitas telah menjadi masalah kesehatan global bukan saja di negara maju tetapi juga di negara-negara berkembang. Jaringan lemak sangat kaya dengan vaskularisasi. Meningkatnya lemak tubuh akan menambah beban sirkulasi, karena setiap penambahan jaringan lemak akan diikuti

dengan bertambahnya pembuluh darah, yang menyebabkan beban kerja jantung akan bertambah. Obesitas juga dapat meningkatkan kadar lemak darah, sehingga mempercepat proses degenerasi pembuluh darah yang lebih dini (proses aterosklerosis), yang semuanya akan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular.

Berdasarkan proses penimbunan lemak, kegemukan diklasifikasikan menjadi 2 jenis sebagai berikut.

1. Kegemukan hipertrofi

Terdapat penimbunan lemak dalam jumlah besar pada sel-sel lemak unilokuler, sehingga ukuran sel lemak mencapai empat kali lebih besar, tetapi jumlah sel lemak tidak bertambah banyak. Kegemukan ini terjadi akibat pembelahan sel lemak sudah tidak berlangsung, tetapi mengonsumsi makanan yang berlebihan. Biasanya kegemukan jenis ini terjadi pada usia dewasa.

2. Kegemukan hiperplasia (hiperseluler)

Jenis kegemukan ini merupakan kegemukan yang berat sebab selain sel bertambah besar juga jumlah sel menjadi lebih banyak. Sel lemak dewasa tidak dapat membelah. Setelah kelahiran sampai dewasa, sel prekursor lemak masih mempunyai daya untuk berdiferensiasi membentuk sel lemak dewasa, tergantung dari jumlah dan jenis makanan. Penelitian dan data klinis menunjukkan pemberian makanan berlebihan pada awal kehidupan seorang anak akan dapat menghasilkan sel prekursor lemak yang lebih banyak dari normal dan dapat menyebabkan terjadinya kegemukan hiperseluler pada saat dewasa. Data klinis juga menunjukkan bahwa anak yang lahir dengan berat badan di atas 97 persentil akan menjadi gemuk tiga kali lipat dibandingkan anak lain di usia dewasa. Anak-anak yang lahir pada perang dunia ke II hanya sekitar $\frac{1}{3}$ yang menderita kegemukan dibanding dengan kelompok yang sama dan lahir pada keadaan berkecukupan setelah perang. Jadi, terlihat adanya korelasi antara pola makan anak dengan jumlah sel prekursor lemak.

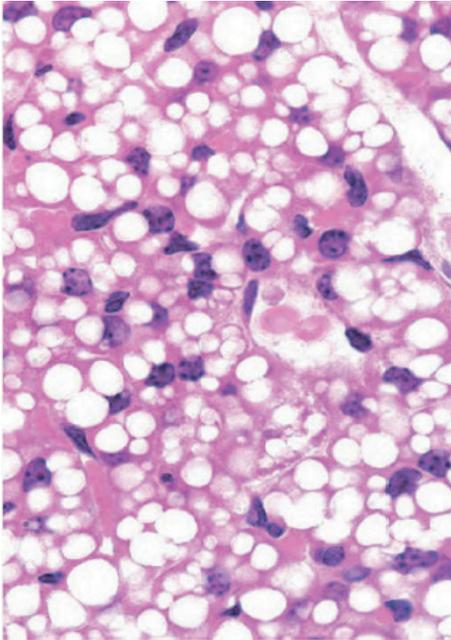
1.2 JARINGAN LEMAK COKELAT (LEMAK MULTILOKULER)

Jaringan lemak ini berwarna cokelat hingga cokelat kemerahan. Warna tersebut dikarenakan banyaknya pembuluh darah dan sitokrom yang terdapat pada mitokondria dalam jumlah besar. Meskipun ukuran sel lemak cokelat lebih kecil dari pada sel lemak putih, sitoplasmanya relatif lebih banyak. Inti berbentuk bulat terletak agak ke tepi, tetapi tidak terdorong seperti pada sel lemak unilokuler (Gambar 1 dan 2). Mikroskop elektron memperlihatkan pada sitoplasma terdapat kompleks juksta nuklear kecil dan sejumlah mitokondria. Mitokondria lebih besar dan bulat dengan sejumlah krista transversal. Juga terdapat sedikit retikulum endoplasma kasar dan halus, ribosom bebas, dan glikogen (Gambar 3).

Jaringan lemak cokelat tersusun atas lobi dengan pembuluh darah banyak tersebar di dalam lobi tersebut. Stroma jaringan lemak cokelat sangat longgar dan banyak terdapat pembuluh darah. Hubungan antar sel lemak dan kapiler lebih erat bila dibandingkan dengan lemak putih. Pada pulasan impregnasi perak, didapatkan serabut saraf halus tidak bermielin berupa ujung saraf simpatis yang berakhir pada sel lemak cokelat.

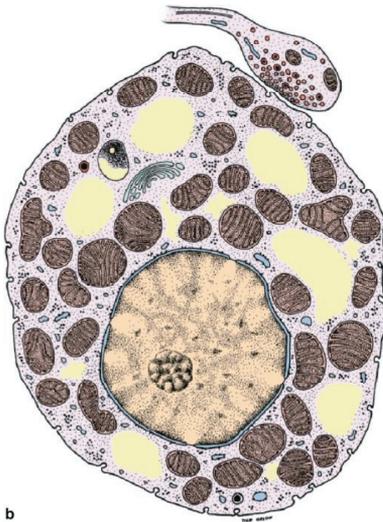
Lemak cokelat umumnya terdapat pada mamalia yang baru lahir atau pada hewan yang sedang berhibernasi. Oleh karena itu jaringan lemak ini sering dinamakan jaringan hibernasi. Pada individu dewasa, tetesan-tetesan lemak akan menyatu membentuk satu tetesan mirip lemak unilokuler. Lemak cokelat sangat penting terutama pada bulan pertama kehidupan. Strukturnya secara bertahap akan berubah menjadi lemak unilokuler, sehingga saat dewasa tetap masih terdapat sel lemak cokelat dan lemak putih, tetapi dengan struktur yang telah berubah menjadi lemak unilokuler sehingga sukar dibedakan secara histologi.

Jaringan lemak cokelat banyak ditemukan di daerah leher dan interskapular fetus manusia berusia 28 minggu dan pada waktu lahir sebanyak 2–5% dari berat badan (Gambar 4). Dengan menggunakan skening termografi, letak jaringan lemak cokelat dapat terdeteksi. Pada usia dewasa, semua jaringan lemak terlihat sebagai lemak unilokuler. Akan tetapi pada usia lanjut, penyakit kronis, atau kelaparan, massa lemak cokelat dapat terlihat kembali pada beberapa tempat tertentu, mirip seperti lokasi pada fetus atau bayi yang baru lahir. Sepanjang hidup seseorang



Gambar 2. Fotomikrograf menggunakan pembesaran tinggi memperlihatkan sel-sel lemak cokelat dengan inti bulat yang sering terletak di tengah. Pada beberapa sel, inti terdesak ke tepi oleh droplet lemak besar (Ross dan Wojciech, 2011).

di dalam tubuhnya terdapat kedua jenis lemak ini (sel lemak cokelat/multilokuler dan sel lemak putih/unilokuler), hanya saja struktur lemak multilokuler akan berubah menjadi lemak unilokuler, tetapi masih tetap bersifat reversibel.



Gambar 3. Diagram sel lemak multilokuler (Mescher, 2010).

1.2.1 Histofisiologi Lemak Cokelat

Lemak putih banyak terdapat di jaringan subkutan mamalia yang berfungsi sebagai isolasi untuk menahan panas. Lain halnya dengan jaringan lemak cokelat, yang berfungsi khusus untuk menghasilkan panas tubuh. Sitoplasma lemak cokelat mengandung banyak mitokondria, yang berfungsi menghasilkan panas melalui oksidasi asam lemak. Kecepatan oksidasi lemak cokelat (*in vitro*) 20 kali lebih tinggi dari lemak putih. Dalam keadaan dingin lemak cokelat dapat menghasilkan panas sampai tiga kali lipat.

Paparan suhu dingin menyebabkan reseptor sensoris di kulit mengirim impuls ke pengaturan suhu di otak, kemudian melalui jalur simpatis keluarlah neurotransmitter norepinefrina untuk meningkatkan aliran darah. Norepinefrina yang terikat pada reseptor di sel lemak cokelat kemudian mengaktifkan enzim lipase sensitif hormon dalam sel untuk memecahkan molekul trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol.

Pelepasan asam lemak akan meningkatkan metabolisme dengan konsekuensi meningkatkan kebutuhan oksigen dan pelepasan panas. Darah yang melewati daerah tersebut akan meningkat suhunya dan disebarkan ke seluruh tubuh. Meningkatnya panas yang dihasilkan berhubungan dengan mitokondria dalam sel-sel lemak cokelat yang memiliki protein transmembran yang dinamakan termogenin. Protein transmembran ini berfungsi untuk mengalirkan kembali proton yang sebelumnya ditransfer ke celah intermembran tanpa melewati sistem ATP-sintase dalam unit globular mitokondria. Akibatnya, energi yang dibutuhkan untuk aliran proton tidak digunakan untuk sintesis ATP, tetapi untuk menghasilkan panas. Pada hewan gemuk, jumlah termogenin berkurang tetapi meningkat pada keadaan dingin. Individu-individu yang memiliki jumlah molekul termogenin banyak sukar menjadi gemuk.

Hormon tiroid menghasilkan efek khusus pada sel-sel lemak. Hormon tiroid menyebabkan peningkatan reseptor hormon tersebut dalam inti sel lemak. Hormon utama yang dihasilkan kelenjar tiroid ialah tiroksin (T₄), tetapi triiodotironin (T₃) memiliki aktivitas sepuluh kali lebih tinggi daripada tiroksin terhadap reseptor tersebut. Fisiologis T₃ merupakan hormon yang sangat penting dengan T₄ sebagai suatu prohormon.

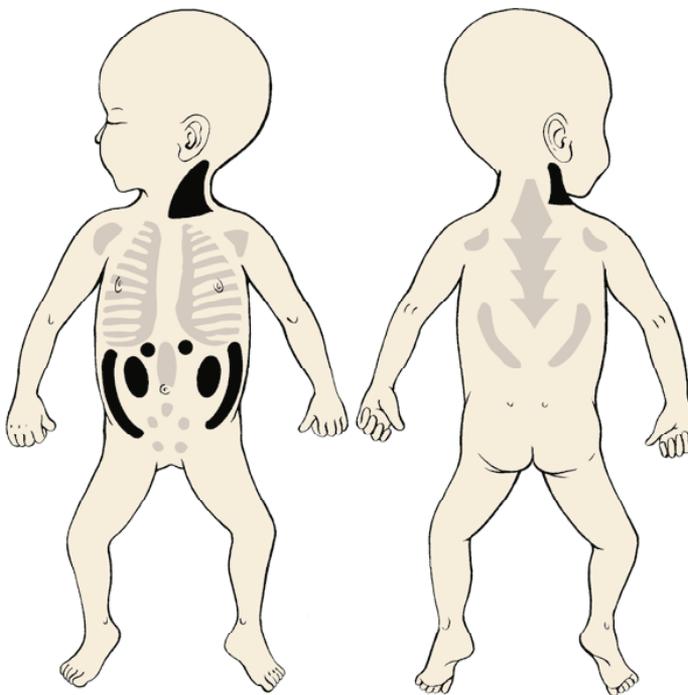
Deiodinase T4 menjadi T3 umumnya dengan enzim tiroksin 5-deiodinase yang terjadi di hati dan ginjal, sehingga kedua organ ini penting dalam mengatur cadangan plasma triiodotironin. Lemak coklat juga memiliki enzim ini dan akan sangat meningkat bila terpapar keadaan dingin, dapat mencapai 100 kali lebih tinggi bila dibandingkan dalam keadaan panas. Meningkatnya termogenesis merupakan respons terhadap keadaan dingin yang tergantung pada aktivitas enzim ini. Bayi-bayi yang sangat muda menggunakan mekanisme yang sama untuk menghasilkan panas. Pada bayi yang diletakkan pada lingkungan 23° C segera setelah lahir akan terjadi peningkatan kadar gliserol dalam darah akibat lipolisis trigliserida yang akan meningkatkan kecepatan metabolisme untuk mencapai suhu sekitar 33° C.

1.2.2 Histogenesis Jaringan Lemak

Awalnya, ahli histologi menganggap jaringan lemak berasal dari fibroblas dengan tetesan-tetesan lemak yang mengisi sitoplasma sehingga terbentuk sel lemak. Hal ini berdasarkan beberapa kenyataan bahwa jaringan ikat akan berubah menjadi jaringan lemak bila makanan yang dimakan mengandung banyak lemak. Sanggahan terhadap pandangan ini ialah bahwa walaupun jaringan ikat terdapat di semua bagian tubuh, ternyata jaringan lemak tidak akan berkembang secara merata pada kegemukan, tetapi hanya pada daerah-daerah tertentu saja. Di daerah-daerah lain, seperti kelopak mata, hidung, telinga, skrotum, daerah genital, serta telapak kaki dan tangan tidak akan terjadi penimbunan lemak yang berlebihan pada kegemukan, meskipun daerah-daerah ini memiliki cukup banyak fibroblas.

Penelitian kemudian menunjukkan bahwa sel lemak berdiferensiasi dari sel prekursor khusus yang berasal dari jaringan mesenkimal, dinamakan lipoblas atau preadiposit. Dari segi gambaran sitologi, terdapat dua jenis sel prekursor yang telah diketahui, yaitu 1) preadiposit berbentuk stelata (bintang) yang selanjutnya berkembang menjadi sel-sel lemak multilokuler; dan 2) preadiposit berbentuk fusiformis yang selanjutnya berkembang menjadi sel lemak unilokuler.

Proses pembentukan jaringan lemak dibagi menjadi dua, yaitu 1) pembentukan lemak primer yang terjadi dalam waktu relatif cepat pada fetus. Jaringan ini mula-mula tampak seperti kelompok mirip kelenjar dari sel-sel epiteloid pada tempat-tempat tertentu, kemudian sitoplasmanya tertimbun tetesan-tetesan lemak multipel dan menjadi jaringan lemak cokelat; dan 2) pembentukan lemak sekunder yang terjadi pada akhir kehidupan fetal dan neonatus. Sel prekursor berbentuk fusiformis mulai berdiferensiasi pada banyak tempat dari jaringan ikat kemudian tertimbun lemak dalam sitoplasmanya membentuk tetesan lemak tunggal yang besar dalam setiap sel. Proses ini terjadi pada hampir seluruh bagian tubuh manusia dewasa.



Gambar 4. Penyebaran lemak cokelat pada neonatus (sekitar 2–5% dari berat badan) (Karundeng *et al.*, 2014). Warna hitam menunjukkan jaringan lemak multilokuler, sedangkan warna abu-abu menunjukkan campuran antara lemak cokelat dan lemak putih.

Manusia merupakan salah satu makhluk yang dilahirkan dengan cadangan lemak. Akumulasi lemak mulai terjadi sejak usia kehamilan 30 minggu. Setelah lahir, perkembangan sel lemak baru umumnya terjadi sekitar pembuluh darah kecil di mana terdapat banyak sel-sel mesenkim yang belum berdiferensiasi. Setelah kelahiran, makanan dan rangsangan lainnya dapat menyebabkan sel-sel lemak berproliferasi, tetapi setelah itu tidak lagi terjadi penambahan jumlah sel lemak (hiperplasia) walaupun proses diferensiasi dapat berlangsung sejak lahir sampai dewasa. Peningkatan jumlah sel lemak pada masa dini akan mengarah pada terjadinya obesitas hiperplasia. Beberapa ahli berpendapat bahwa pembelahan sel lemak masih dapat terjadi pada usia dewasa. Bila sel lemak terisi sejumlah besar lipid dan mencapai ukuran kritis, sel prekursor akan distimulasi untuk berdiferensiasi yang berakibat penambahan jumlah sel lemak. Hal ini bisa terjadi pada kelebihan makan dalam jangka panjang dan sel lemak baru yang terbentuk ini akan menetap sepanjang hidup (Karundeng *et al.*, 2014).



BAB

Introduksi Adipogenesis

Golongan mamalia seperti manusia memiliki sistem yang terintegrasi dengan baik untuk mengatur simpanan dan keluaran energi. Sistem ini berperan dalam proses penyimpanan energi ketika makanan (baca: *kalori intake*) berlebih dan membantu memobilisasi simpanan makanan (baca: kalori) ketika tubuh kekurangan energi (Otto & Lane, 2005; Cahill, 2006; Wolfgang & Lane, 2006; Wahren & Ekberg, 2007). Sistem tersebut diatur baik pada tingkat seluler maupun pada keseluruhan organisme. Sistem tersebut berjalan dengan aksi koordinasi dari sirkulasi berbagai hormon dan sinyal saraf eferen dari sistem saraf pusat yang diteruskan ke pusat otak yang lebih tinggi dan jaringan perifer, hati, otot, dan jaringan adiposa. Ketika makanan berlebih, karbohidrat akan disimpan sebagian kecil dalam bentuk glikogen di hati dan sebagian besar sebagai lemak terutama di adiposit (Cahill, 2006; Otto & Lane, 2005). Asupan tinggi lemak memberikan efek peningkatan berat badan yang signifikan (Rejeki *et al.*, 2016). Sebaliknya, saat jumlah makanan terbatas, berbagai simpanan tadi akan dimobilisasi untuk keperluan energi (Cahill, 2006; Otto & Lane, 2005). Kendati mekanisme regulasi ini bertujuan untuk menyeimbangkan homeostasis surplus dan kekurangan makanan (situasi pesta dan puasa), perkembangan gaya hidup masyarakat kini mengarah pada konsumsi berlebih makanan tinggi energi dan kebiasaan kurang gerak. Sebagai dampaknya, obesitas dan konsekuensi patologis yang menyertai seperti diabetes melitus tipe 2 dan masalah jantung, menjadi permasalahan medis yang serius.

Berbagai upaya dilakukan untuk mencegah terjadinya obesitas dan permasalahan medis akibat akumulasi lemak yang berlebih, seperti pengurangan masukan energi melalui diet dan peningkatan keluaran energi yang dilakukan melalui aktivitas maupun olahraga. Program diet dapat menurunkan berat badan dalam jangka pendek, namun untuk mempertahankannya seringkali sulit sehingga dibutuhkan olahraga sebagai intervensi pendukung (Munro *et al.*, 2011). Olahraga dianjurkan sebagai perubahan gaya hidup terapeutik karena mengarah pada berbagai manfaat kesehatan, seperti halnya pada senam aerobik yang terbukti dapat memperbaiki profil lipid (meningkatkan kadar HDL-c dan rasio HDL/LDL serta menurunkan kadar LDL-c) (Saputro *et al.*, 2019). Tidak hanya itu, olahraga (terutama intensitas tinggi) juga berpotensi meningkatkan kadar

irisin dalam darah yang kemudian menstimulasi proses pencokelatan pada *White Adipose Tissue* (WAT) untuk meningkatkan termogenesis dan lipolisis (Amaliyah & Rejeki, 2018). Berat badan terbukti berkurang pada percobaan olahraga intensitas moderat hewan coba selama empat minggu (Prasetya *et al.*, 2018). Olahraga intensitas moderat menstimulasi aktivasi *Uncoupling Protein 1* (UCP-1) pada mitokondria, yang kemudian merangsang proses pencokelatan pada lemak viseral. Proses tersebut menghasilkan jaringan *adipose beige* yang berperan dalam mencegah akumulasi lemak dengan meningkatkan keluaran energi (Albab *et al.*, 2019).

Ambilan kalori berlebih memengaruhi kecepatan metabolisme tubuh yang mengakibatkan terjadinya hiperplasia dan hipertrofi adiposit (Shepherd *et al.*, 1993). Hiperplasia melibatkan pengerahan sel punca ke garis adiposit dan meningkatkan jumlah adiposit.

2.1 ADIPOSIT

Adiposit adalah sel lemak *mature* yang mengandung droplet lemak tunggal besar yang dikelilingi oleh lingkaran tipis sitoplasma yang berada di antara droplet dan membran plasma. Ketika dipicu oleh hormon lipolitik, *cytoplasmic hormone-sensitive lipase*, dan *adipocyte-triglyceride lipase* akan berpindah ke permukaan droplet lemak, di mana terjadi lipolisis trigliserida. Selain itu, juga terdapat protein aksesori, peripilin; yang berikatan dengan permukaan droplet lemak untuk memfasilitasi proses translokasi. Dengan demikian, asam lemak yang berasal dari trigliserida akan dikeluarkan ke pembuluh darah untuk menyediakan bahan bakar kaya energi bagi jaringan perifer terutama otot skeletal, otot jantung, dan hati. Selama periode ambilan kalori berlebih, enzim lipogenik yang terlokalisasi di sitoplasma dan retikulum endoplasma (RE) akan menyintesis trigliserida dan dimasukkan ke dalam droplet lemak. Seperti yang nanti akan dijelaskan dalam bagian diferensiasi, yaitu preadiposit menjadi adiposit, banyak gen yang berperan untuk mengode proses ini, dan ekspresi protein adiposit lain yang terkoordinasi selama diferensiasi preadiposit untuk menghasilkan fenotipe adiposit.

Dua pendekatan yang sangat penting telah dilakukan dalam perkembangan studi terhadap metabolisme dan diferensiasi adiposit serta

berbagai asal muasalnya. Penggunaan disosiasi kolagen untuk mengisolasi adiposit fungsional dari jaringan adiposa menjadikan analisis biokimia fungsi adiposit menjadi suatu hal yang mungkin untuk dilakukan. Dengan adiposit yang terisolasi, memperlihatkan jika sel ini memiliki respons sangat baik terhadap berbagai hormon, seperti insulin, yang merangsang kenaikan ambilan glukosa dan lipogenesis, juga berespons baik terhadap agen adrenergik, seperti epinefrina dan siklik AMP (cAMP) yang mendorong mobilisasi trigliserida. Studi terhadap ekspresi gen/diferensiasi dan regulasinya, bagaimanapun harus menunggu perkembangan dari jalur preadiposit klonal yang mampu berdiferensiasi menjadi adiposit pada kultur sel. Jalur sel yang sudah ada, seperti jalur preadiposit 3T3-L1 yang bisa dikultur tanpa batas menyajikan sistem model yang tepat untuk program karakterisasi diferensiasi.

Beberapa studi terdahulu mengungkapkan bahwa adiposit juga memiliki fungsi endokrin, sekresi hormon, dan sitokin yang memainkan peran kunci dalam metabolisme energi. Beberapa dari hormon ini bekerja secara lokal sebagai faktor parakrin dan hormon lainnya, seperti leptin dan adiponektin mempunyai efek spektrum luas pada sistem saraf pusat terutama hipotalamus. Leptin yang diekspresikan dan disekresikan oleh adiposit bersifat anorektik dan berperan untuk membatasi penyimpanan energi ketika jaringan adiposa telah banyak terisi (Friedman, 1997). Leptin akan berinteraksi dengan reseptor spesifik di hipotalamus untuk mengurangi ambilan makanan. Dalam kondisi obesitas, bagaimanapun kejadian resistansi terhadap hormon ini akan membatasi tingkat efektivitasnya. Jaringan adiposa juga diatur oleh sistem saraf pusat mengingat jaringan ini diinervasi neuron saraf simpatetik yang menyekresikan hormon adrenergik (epinefrina/norepinefrina) untuk mobilisasi lemak (Timothy *et al.*, 2010).

2.1.1 Asal Mula Adiposit

Adiposit berasal dari *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) pluripoten yang memiliki kapasitas untuk berkembang menjadi beberapa jenis sel, seperti adiposit, miosit, kondrosit, dan osteosit (Huang *et al.*, 2009). Sel punca ini terletak di dalam stroma vaskuler dari jaringan adiposa, seperti di

sumsum tulang, dan ketika dirangsang akan mengalami serangkaian proses yang mendorong sel progenitor masuk ke dalam jalur adiposit. Pengerahan sel progenitor ini akan meningkatkan jumlah preadiposit yang mana ketika diinduksi akan mengalami mitosis (ekspansi klonal mitosis) dan kemudian berdiferensiasi menjadi adiposit.

2.1.2 Sel Punca Pluripoten

Beberapa jalur sel diyakini memiliki kemiripan karakteristik fungsional terhadap MSC pluripoten jika dilihat secara *in vivo* dan dapat diinduksi untuk masuk dalam jalur adiposit, otot, tulang rawan, dan tulang keras. Salah satu contoh terbaik dari jenis sel ini adalah jalur CH310T1/2 yang ditemukan pada tahun 1973 di Laboratorium Heidelberger, Universitas Wisconsin (Reznikoff *et al.*, 1973). Sebagai tambahan, sel punca embrionik juga terbukti bermanfaat. Tahapan proses komitmen dari adiposit dapat dihambat oleh berbagai macam faktor, seperti *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) terutama BMP4, BMP2, atau faktor lain di dalam jalur hilir persinyalan.

2.2 PREADIPOSIT

2.2.1 Jalur Sel Preadiposit

Jalur preadiposit yang nantinya akan dibahas lebih dalam (pada bagian diferensiasi) perkembangan adiposit pertama kali ditemukan di Laboratorium Green. Dalam hal ini terutama jalur preadiposit 3T3-L1, yang telah menjadi *gold standard* untuk proses investigasi diferensiasi preadiposit (Green & Kehinde, 1974). Jalur ini (bersama dengan jalur 3T3-F442A) diyakini mampu merekapitulasi tahapan-tahapan dalam diferensiasi adiposit. Induksi terjadinya proses diferensiasi dilakukan dengan menggunakan "*cocktail*" (sejenis minuman keras) untuk menginisiasi kaskade dalam tahapan proses diferensiasi.

Sel 3T3-F442A dan 3T3-L1 diisolasi dari jalur sel 3T3 yang berada di Swiss berasal dari embrio tikus 3T3 berumur sekitar 17 hingga 19 hari yang telah dipilah dan merupakan jalur yang paling sering digunakan (Green & Kehinde, 1976). Penting untuk diingat bahwa jalur sel klonal

adalah homogen dengan kondisi populasi tingkat sel dan tipe selnya sama dalam tahapan diferensiasi. Hal ini memberikan respons homogen terhadap berbagai perlakuan. Sebagai tambahan, sel ini dapat dijalankan tanpa batas yang menyediakan sumber preadiposit secara konsisten untuk keperluan studi. Semua alasan inilah model sel klonal terbilang menarik dan digunakan sebagai alat pelengkap dalam model hewan coba untuk studi yang memiliki relevansi pertanyaan biologi. Sel 3T3-F442A secara umum dianggap sebagai model dengan berbagai kelebihan dalam tahapan komitmen pada proses diferensiasi adiposa dibanding 3T3-L1 (Gregoire *et al.*, 1998). Selama proliferasi, semua model sel preadiposit menunjukkan morfologi yang identik terhadap fibroblas. Induksi diferensiasi merangsang perubahan preadiposit menjadi berbentuk sferis (bulat) dan terisi droplet atau tetesan lemak.

Sel Ob17 berasal dari pre-kursor jaringan adiposa yang ada di bantalan lemak epididimis dari mencit dewasa dengan genetik obesitas (*ob/ob*) lebih jarang digunakan. Sebagai perbandingan terhadap sel 3T3-F442A dan 3T3-L1, asal muasal dari sel Ob17 di gambaran pada tahapan preadiposit selanjutnya. Asal muasal dari hewan dengan keadaan obesitas memberikan karakteristik yang berbeda dari asal embrionya (Negrel *et al.*, 1978).

Model preadiposit yang paling banyak disediakan (3T3-F442A, Ob17, dan 3T3-L1), suatu waktu bisa mencapai titik temu dan hambatan pertumbuhan baik induksi hormonal, masukan kembali siklus sel, dan beberapa putaran mitosis pasca pertemuan, dikenal dengan ekspansi klonal mitosis (MCE). Dalam kenyataannya, hambatan pada masuknya sel 3T3-L1 ke dalam fase S saat ekspansi klonal mitosis berlangsung, secara penuh akan menghambat proses konversi adiposa (Tang *et al.*, 2003). Begitu juga dengan hambatan pada sintesis DNA pada sel 3T3-F442A dapat mencegah pembentukan sel lemak (Kuri-Harcuch & Marsch-Moreno, 1983). Bagaimanapun, pertemuan sel 3T3-F442A akan bergeser ke *suspense* kultur untuk mempertahankan kemampuannya berdiferensiasi, memberikan kesan adanya hambatan pertumbuhan, tetapi tidak dibutuhkan dalam diferensiasi adiposit (Pairault & Green 1979). Demikian pula dengan sel C3H10T1/2 ketika diberikan perlakuan dengan BMP-4 akan merangsang

tahapan komitmen untuk jalur adiposa menjalani MCE (Tang *et al.*, 2004).

Kemampuan jalur sel klonal adiposa dan adiposit primer memberikan kesempatan bagi para peneliti untuk melakukan investigasi mengenai hormon yang berpotensi sebagai adipogenik atau antiadipogenik, faktor pertumbuhan, dan berbagai hal terkait farmakologi. Pertemuan preadiposit 3T3-L1 dapat didiferensiasikan dengan "*adipogenic cocktail*." Diferensiasi maksimal diperoleh dengan induksi hormon selama 48 jam yang dikombinasikan insulin, GC dan *Methylisobutylxanthine* (MIX), yang mana akan meningkatkan kadar cAMP intrasel pada serum janin sapi. Deksametason (DXM), agonis sintetik GC secara tradisional digunakan untuk menstimulasi reseptor GC. Setelah 48 jam pertama, insulin secara terpisah dibutuhkan untuk melanjutkan proses diferensiasi. Menariknya, DXM adalah induktor poten adipogenesis pada tahap awal diferensiasi, tetapi menunjukkan efek antiadipogenik ketika ditambahkan saat tahapan maturasi adiposa. Hal ini mengindikasikan bahwa efek hormon sangat bergantung terhadap waktu pemberian (Caprio *et al.*, 2007).

Diferensiasi preadiposit 3T3-F442A tidak membutuhkan induksi dini dengan GC karena tahapan komitmen adipogenesisnya lebih baik jika dibandingkan dengan sel 3T3-L1. Perlu dicatat bahwa perlakuan terhadap sel 3T3-F442A dengan DXM menekan proses adipogenesis.

2.2.2 Sel Punca Mesenkimal

Sel ini berasal dari mesoderm embrionik yang memiliki kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi adiposit dan telah digunakan untuk memeriksa banyak temuan seiring ditemukannya jalur preadiposit 3T3-L1. Telah banyak studi yang menunjukkan bahwa subpopulasi dari MSC adalah pluripoten dan mampu untuk masuk dalam jalur adiposit (Bowers & Lane, 2007).



BAB

Tahapan Adipogenesis: dari Sel Punca Hingga Adiposit

3.1 FASE KOMITMEN: SEL PUNCA PLURIPOTEN HINGGA PREADIPOSIT

Stroma vaskular jaringan adiposa mengandung pluripoten MSCs yang memiliki potensi untuk mengalami fase komitmen dan diferensiasi menjadi adiposit, kondrosit, miosit, dan osteosit (Covas *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2010). Penggunaan sel-sel ini untuk studi genetika sangatlah terbatas, karena masa hidup yang singkat. Sel pluripoten C3H10T1/2 yang dikultur telah berfungsi sebagai model MSC yang menjanjikan untuk studi genetik jangka panjang pada program pengembangan adiposit. Ketika induksi telah sesuai, sel induk C3H10T1/2 dapat berkomitmen dan berdiferensiasi menjadi sel-sel adiposit, miosit, kondrosit, atau garis keturunan osteosit.

Pengerahan sel induk C3H10T1/2 ke dalam garis keturunan adiposit secara *in vivo* didorong oleh asupan energi berlebih dan adanya peningkatan ambilan glukosa selama periode waktu yang lama (Shepherd *et al.*, 1993). Keadaan metabolik ini akan menginduksi MSC untuk memasuki fase komitmen, menyebabkan hiperplasia, dan terbentuklah fenotipe preadiposit. Beberapa faktor telah diidentifikasi baik yang mendorong atau menghambat konversi sel punca pluripoten menjadi adiposit. Hal ini termasuk anggota keluarga BMP yaitu BMP4 dan BMP2, Wnt, dan Hh (*hedgehog*). BMP4 dan BMP2 memiliki peran sebagai aktivator, sedangkan sinyal Hh memiliki peran sebagai inhibitor. Adapun Wnt tampaknya memiliki peran pengaktifan dalam komitmen dan penghambatan dalam diferensiasi adiposit (Kang *et al.*, 2007).

Garis keturunan dari MSC ditentukan dan diatur oleh faktor sinyal jaringan ekstraseluler yang pada akhirnya memengaruhi promotor spesifik faktor transkripsi. Ini adalah keseimbangan sinyal molekuler yang menentukan jalur perkembangan, sering secara bersamaan mempromosikan satu jalur sambil menghambat jalur lain. Misalnya, Wnt10b mempromosikan osteogenesis, kemungkinan juga miogenesis, dan menghambat adipogenesis (Bennett *et al.*, 2005). BMP4 mempromosikan adipogenesis sambil menghambat miogenesis (Kang *et al.*, 2007). Sebaliknya, *Peroxisome-Proliferator Activated Receptor- γ* (PPAR γ) menghambat kondrogenesis dan merangsang adipogenesis, sedangkan

MSX2 merangsang osteogenesis sambil menghambat adipogenesis dengan menghambat aktivitas transkripsi PPAR γ .

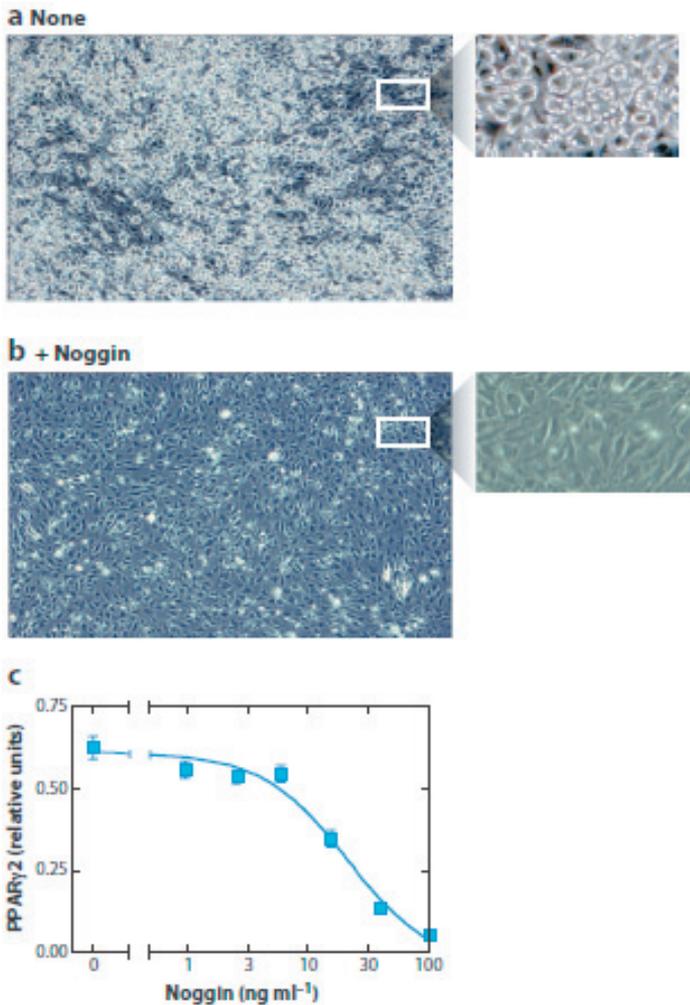
3.1.1 Pensinyalan Protein Morfogenik Tulang

BMP4 dan BMP2 telah terlibat di dalam komitmen sel punca pluripoten menjadi adiposit. Dengan demikian, pemberian paparan yang bisa merangsang pembagian sel punca C3H10T1/2, baik BMP4 atau BMP2 mendorong terbentuknya sel baru seperti preadiposit yang ketika dirawat dengan berbagai induser diferensiasi, akan memasuki jalur pengembangan adiposa, mengeluarkan penanda adiposit, dan memperoleh fenotipe adiposit (Bowers *et al.*, 2006 & Tang *et al.*, 2004).

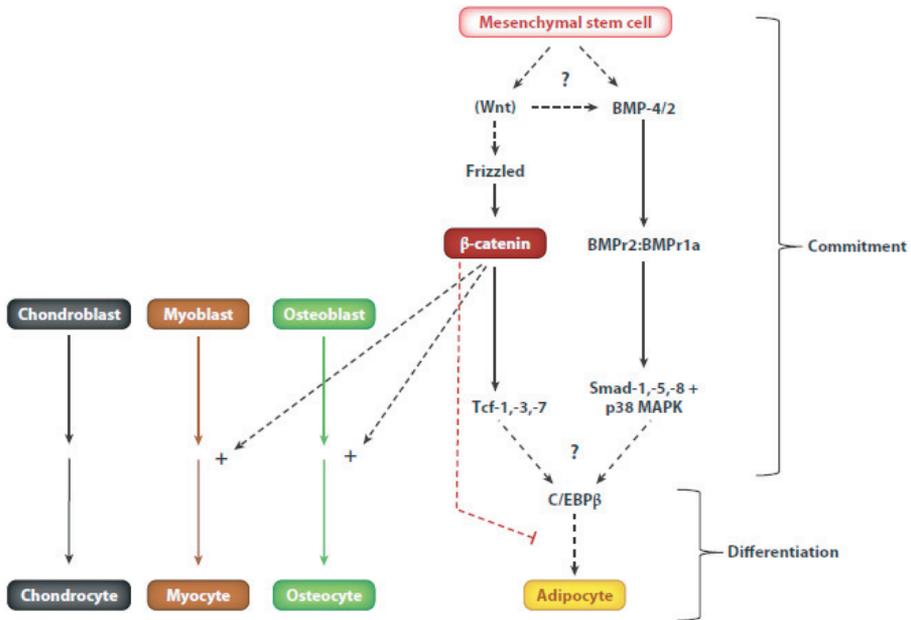
Peran BMP4 dalam proses komitmen telah divalidasi menggunakan pendekatan yang lain, seleksi klonal setelah memblokir metilasi DNA. Dengan demikian, paparan proliferasi sel induk C3H10T1/2 ke 5-azasitidine, inhibitor metilasi DNA menghasilkan sub-populasi sel klonal. Misalnya, keturunan A33; yang diubah menjadi adiposit ketika terkena induser diferensiasi dengan tidak adanya BMP4 eksogen (Bowers *et al.*, 2006). Sel A33 mengekspresikan dan menyekresikan BMP4 dalam jendela waktu proliferasi yang sama di mana BMP4 eksogen harus ditambahkan untuk menginduksi komitmen adiposit dari sel C3H10T1/2.

Selain itu, paparan sel A33 pada antagonis BMP4, *noggin* selama jendela waktu kritis ini akan menghentikan konversi atau diferensiasi menjadi adiposit. Peran BMP4 dalam komitmen adiposit lebih didukung oleh ekspresi dari proliferasi sel punca C3H10T1/2 dan gen preadiposit A33 serta protein lain yang diketahui terlibat dalam jalur pensinyalan BMP (Bowers *et al.*, 2007). Protein ini termasuk BMP4, yaitu reseptor BMP, BMP α 2 dan BMP α 1a, serta Smad-1, -5, -8. BMP dikenal sebagai protein yang memberikan sinyal pada dua jenis reseptor, yaitu BMP α 1 dan BMP α 2 yang membentuk permukaan sel kompleks dengan aktivitas kinase serin atau treonin (Heldin *et al.*, 1997 & Komiya, 2008). Ikatan BMP pada kompleks BMP α 1:BMP α 2 menginduksi fosforilasi dan aktivasi dari kinase BMP α 1. Reseptor BMP memfosforilasi Smad-1, -5, -8, yang membentuk kompleks dengan Smad4 bertranslokasi ke dalam nukleus dan mengatur ekspresi gen (Huang *et al.*, 2009). Selanjutnya, overekspresi reseptor BMP yang

secara konsisten aktif (CA), CA-BMP r1A atau CA-BMP r1B , menginduksi komitmen dengan tidak adanya BMP2 atau BMP4, sedangkan overekspresi yang dominan-negatif reseptor, dominan-negatif-BMP r1A , dan menekan komitmen yang dipicu oleh BMP. Juga *knockdown* dari ekspresi Smad4 (koregulator di jalur persinyalan BMP/Smad) dengan RNAi mengganggu komitmen oleh BMP.



Gambar 5. Efek dari antagonis BMP4, *noggin* terhadap perolehan karakteristik adiposit oleh sel A33 (Bowers *et al.*, 2007).



Gambar 6. Usulan skema kejadian untuk komitmen mesenchymal stem cells (MSCs) terhadap garis keturunan adiposit (Huang *et al.*, 2009).

3.1.2 Promotor BMP Berganti Selama Komitmen

Gen BMP4 pada tikus diketahui memiliki dua promotor yang diatur secara berbeda selama perkembangan (Feng *et al.*, 1994 & Helvering *et al.*, 2000). Analisis RNA di awal program komitmen mengungkap bahwa promotor 1 digunakan untuk mendorong ekspresi BMP4 di sel A33, tetapi tidak dalam sel C3H10T1/2. Pada hari ketujuh ketika sintesis BMP4 menurun, penggunaan promotor 1 dan ekspresi BMP4 berhenti. Sebaliknya, mRNA dari sel punca C3H10T1/2 yang tidak mengalami komitmen menunjukkan bahwa promotor 2 digunakan secara eksklusif untuk mendorong ekspresi gen BMP4 (Bowers *et al.*, 2006). Temuan ini memberi kesan bahwa komitmen terhadap garis keturunan adiposit diinduksi oleh 5-azasitidin mengubah metilasi status gen BMP4, promotor perender 1 lebih mudah diakses untuk aktivasi transkripsional, dan menunjukkan bahwa wilayah lokus BMP4, banyak di kepulauan *cytosine-guanine-rich oligonucleotide* (CpG) memiliki lebih sedikit sitosina termetilasi dalam

genom DNA dari sel A33 daripada sel 10T1/2. Lokus gen BMP4 pada sel induk C3H10T1/2 memiliki wilayah yang sangat termetilasi dari pulau-pulau CpG, sedangkan wilayah ini dalam sel 10T1/2 yang memiliki lebih sedikit sitosina termetilasi. Perbedaan ini berkorelasi dengan *switch* dalam penggunaan BMP promotor (promotor 2 ke promotor 1) selama komitmen yang diinduksi oleh inhibitor metilasi, menunjukkan bahwa perubahan dalam status metilasi menjadikan promotor 1 lebih mudah diakses untuk aktivasi transkripsional (Bowers *et al.*, 2006).

3.1.3 Target Hilir Persinyalan BMP

Analisis proteomik mengungkapkan bahwa tiga protein yang berhubungan dengan sitoskeleton, yaitu Lisil Oksidase (Lox), protein tumor yang dikendalikan secara translasi 1 (Tpt1), serta α B kristalin adalah gen target hilir di jalur persinyalan BMP dan memainkan peran penting selama komitmen garis keturunan adiposit (Huang *et al.*, 2011). Delapan protein ditemukan diregulasi oleh BMP2 dan 27 protein diregulasi oleh BMP4. Lima protein unik diregulasi ≥ 10 kali lipat oleh kedua BMP termasuk tiga protein sitoskeleton yaitu Lox, Tpt1, dan α B-kristalin. Komitmen benar-benar diblokir oleh *knockdown* dari Lox, sedangkan sebagian dihambat oleh *knockdown* ekspresi Tpt1 dan α B-kristalin. Perubahan dramatis dalam bentuk sel biasanya terjadi selama komitmen. *Knockdown* protein yang berhubungan dengan sitoskeleton ini mencegah perubahan bentuk sel dan mengembalikan organisasi F-aktin ke dalam serat stres dan menghambat komitmen terhadap garis keturunan adiposit. Protein yang diekspresikan secara berbeda ini dapat menentukan kemampuan MSC untuk berkomitmen pada garis keturunan adiposit melalui regulasi bentuk sel.

3.1.4 Persinyalan Wnt

Protein Wnt terdiri dari keluarga yang mensekresi glikoprotein yang efeknya dimediasi melalui reseptor beruban dan lipoprotein densitas rendah terkait protein $5/6$ koreseptor. Protein Wnt dapat bertindak melalui jalur persinyalan Wnt “kanonik” yang lebih menonjol atau jalur

persinyalan Wnt non-anonik. Hubungan antara persinyalan Wnt dan adipogenesis pertama kali diketahui melalui penemuan bahwa ekspresi Wnt10b menurun secara dramatis selama diferensiasi adiposit (Ross *et al.*, 2000). Konsisten dengan temuan ini, ekspresi Wnt10b mencegah diferensiasi adiposit dengan memblokir ekspresi faktor kunci transkripsi adipogenik, PPAR γ , dan C/EBP α . Anehnya, Wnt bertindak pada dua titik dalam program pengembangan adiposa, keduanya di awal program sebagai penggerak komitmen garis keturunan dan sebagai inhibitor diferensiasi adiposit di bagian akhir (Kang *et al.*, 2007). Hal ini bisa terjadi mungkin melalui tindakan protein Wnt yang berbeda.

3.1.5 Wnt Mengaktifkan Komitmen Garis Keturunan MSC

Jalur kanonik Wnt berfungsi pada awal proses komitmen garis turunan jalur kanonik. Dalam jalur ini, *cytosolic β -catenin* tertanam dalam “penghancuran kompleks” mengandung poliposis koli adenomatosa, axin, dan glikogen sintase kinase-3 β (GSK-3 β). Dengan tidak adanya stimulasi Wnt, GSK-3 β memfosforilasi *β -catenin* melarutkannya untuk ubiquitinasi dan degradasi proteasomal (Reya dan Clevers, 2005). Sebaliknya, aktivasi persinyalan Wnt melalui pengikatan Wnt ke reseptor permukaan sel mereka, reseptor beruban, dan lipoprotein densitas rendah terkait protein $\frac{5}{6}$ reseptor mendorong disosiasi kompleks perusakan sehingga memungkinkan *β -catenin* berakumulasi dan bertranslokasi ke nukleus. Jadi, selama persinyalan Wnt, *β -catenin* terakumulasi dalam nukleus, di mana ia mengaktifkan faktor transkripsi penambah limfoid dan/atau faktor T-sel memicu transkripsi gen hilir (termasuk c-Myc dan siklin D1) (Davis dan Zur Nieden, 2008).

Studi *microarray* dikombinasikan dengan analisis RT-PCR kuantitatif mengidentifikasi beberapa gen dalam jalur persinyalan Wnt yang secara diferensial diekspresikan oleh sel A33 (preadiposit yang berasal dari sel punca C3H10T1/2). Hal yang menarik adalah R-spondins- 2 dan -3, yang mengaktifkan jalur persinyalan Wnt kanonik, dan secara dramatis diregulasi dalam proliferasi A33 preadiposit dibandingkan dengan nenek moyang mereka sel punca C3H10T1/2. Demikian juga, LEF1 dan TCF, faktor transkripsi hilir dari jalur persinyalan Wnt dinyatakan secara berbeda

pada preadiposit A3 relatif terhadap ekspresi dalam sel induk C3H10T1/2 (Bowers dan Lane, 2008). Kejadian-kejadian ini terjadi bersamaan dengan akumulasi *β-catenin* dalam inti sel A33 yang berproliferasi. Secara bersamaan, temuan ini mengimplikasikan persinyalan Wnt sebagai peristiwa awal dalam komitmen sel punca terhadap garis keturunan adiposa.

3.1.6 Wnt Menghambat Diferensiasi Terminal

Dalam program adipogenik, jalur persinyalan Wnt kanonik mengatur keseimbangan antara miogenik, osteoblastogenik, adipogenik, dan menurunkan adipogenesis. Mioblas dalam kultur sel mempertahankan plastisitas dalam perkembangan karena dapat diinduksi untuk menjalani diferensiasi miogenik, adipogenik, atau osteoblastogenik (Komiya dan Habas, 2008). *β-catenin-dependent signaling* telah dilaporkan mampu mempromosikan baik miogenesis dan osteogenesis sambil menghambat diferensiasi preadiposit menjadi adiposit. Konsisten dengan efek penghambatan Wnt pada adipogenesis, mioblas diisolasi dari Wnt-10b null tikus menunjukkan peningkatan potensi adipogenik. Selain itu, aktivasi jalur persinyalan Wnt meningkatkan miogenesis dan menghambat adipogenesis dalam kultur MSC (Kohn dan Moon, 2005).

Jalur persinyalan Wnt lebih aktif dalam sel A33 yang berproliferasi (garis klonal dengan karakteristik preadiposit) dibandingkan dengan progenitor C3H10T1/2, mungkin karena persinyalan Wnt berfungsi untuk meningkatkan jumlah preadiposit selama komitmen. Telah ada spekulasi bahwa persinyalan Wnt berfungsi untuk meningkatkan jumlah preadiposit selama komitmen dan ekspansi mitosis klonal (Bowers dan Lane, 2008). Akan tetapi bahwa sinyal ini akhirnya harus diakhiri sebagai sel preadiposit/A33 memasuki penangkapan pertumbuhan, sebelum sel yang baru direkrut dapat menjalani diferensiasi terminal menjadi adiposity.

3.1.7 Hedgehog Signaling

Tiga ligan Hh vertebrata telah diidentifikasi, *Sonic Hedgehog* (Shh), *Indian Hedgehog* (Ihh), dan *Desert Hedgehog* (Dhh) bertugas memulai persinyalan

yang dimediasi oleh reseptor-reseptor *Patched* (Ptch-1 dan Ptch-2). Dengan kehadiran ligan Hh, *membrane-spanning protein Smoothened* (Smo), homolog reseptor G *protein-coupled* diaktifkan, serta sinyal ditularkan melalui fosforilasi dan lokalisasi nuklir glia (Cohen, 2003).

Persinyalan Hh memiliki efek penghambatan pada adipogenesis dalam sel murin. Misalnya, C3H10T1/2, KS483, kalvaria MSC, dan sel stromal adiposa tikus sebagaimana divisualisasikan oleh penurunan akumulasi lemak sitoplasma dan ekspresi gen penanda adiposit (Van der Horst *et al.*, 2003). Pada tikus dengan obesitas genetik (ob/ob), efek negatif pada adipogenesis disertai dengan penurunan ekspresi Smo, Gli1, Gli2, dan Gli3. Selain itu, pengurangan massa lemak putih total dan ukuran sel adiposit epididimis diamati pada displasia mesenkimal (mes) tikus dewasa (Ptch1 mes/mes) yang membawa penghapusan Ptch1, pengatur negatif dari persinyalan Hh, pada sitoplasma daerah terminal C (Li *et al.*, 2008). Meskipun secara umum disepakati bahwa ekspresi Hh memiliki efek penghambatan pada diferensiasi preadiposit, mekanisme yang menghubungkan Hh signaling dan adipogenesis tetap tidak jelas.

3.1.8 Persinyalan Protein Retinoblastoma

Protein retinoblastoma (Rb) menghambat siklus sel dengan mengikat dan menekan aktivitas transkripsi E2F. Setelah *hyperphosphorylation* dari Rb (\Rightarrow pRb) oleh *Cyclin-Dependent Kinase* (CDKs), E2F dilepaskan dan mempromosikan aktivasi transkripsi gen yang mengkode regulator siklus sel yang diperlukan untuk *entri phase* dan perkembangan siklus sel (Burkhart dan Sage, 2008). Kejadian ini sangat penting untuk ekspansi klonal mitosis (lihat bagian Ekspansi Kluster Mitosis di bawah), langkah wajib dalam program diferensiasi adiposit (Tang dan Lane, 1999).

Selain itu, pRb telah ditunjukkan untuk mengatur beberapa faktor transkripsi yang merupakan induser pembeda utama. Tergantung pada faktor diferensiasi dan konteks selulernya, pRb dapat menekan atau mempromosikan aktivitas transkripsional dari faktor-faktor tersebut. Dengan demikian, pRb mengikat RUNX2 dan mempotensiasi kemampuannya untuk mempromosikan diferensiasi osteogenik (Thomas *et al.*, 2001). Sebaliknya, Rb bertindak dengan E2F untuk menekan

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor C (PPAR γ 2-c) subunit, master aktivator adipogenesis (Fajas *et al.*, 2002). Osteoblas dan adiposit dapat muncul dari MSC, pengamatan ini menunjukkan bahwa pRb dapat memainkan peran dalam pilihan antara dua taksiran garis keturunan ini. Temuan ini menunjukkan bahwa status Rb memainkan peran kunci dalam menetapkan pilihan takdir antara tulang dan jaringan adiposa coklat *in vivo* (Calo *et al.*, 2010).

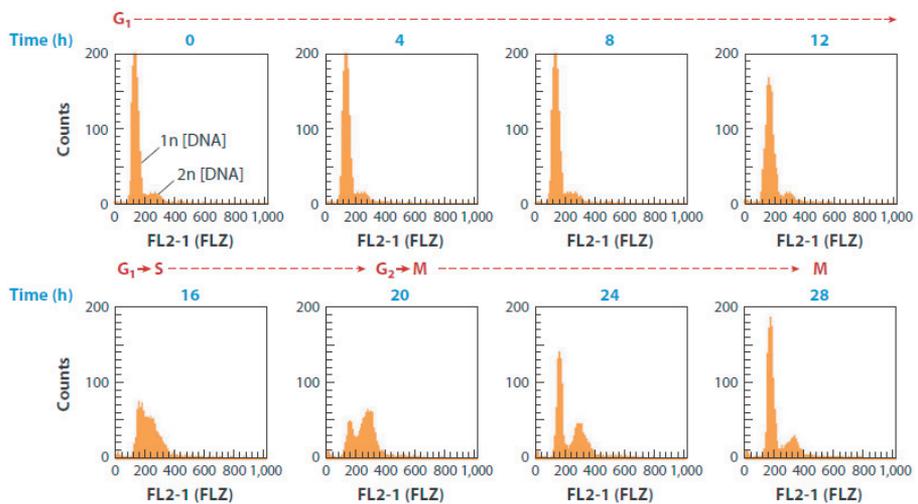
3.2 DIFERENSIASI: PREADIPOSIT HINGGA ADIPOSIT

Kejadian sinkron yang dialami oleh preadiposit selama diferensiasi menjadi adiposit dijelaskan di bawah ini. Studi kultur sel dengan garis-garis preadiposit yang sudah mapan sangat diperlukan untuk identifikasi dan karakterisasi langkah-langkah kunci dalam program diferensiasi. Sejumlah besar bukti menunjukkan bahwa model preadiposit ini dengan tepat merekapitulasi diferensiasi fibroblas embrionik tikus (MEFs) dalam kultur sel (Vertino *et al.*, 2005). Demikian juga, keaslian sistem model telah divalidasi secara *in vivo* dengan menunjukkan bahwa garis preadiposit ini menghasilkan jaringan adiposa normal ketika ditanamkan secara subkutan ke tikus *athymic* tanpa induser eksogen (Green dan Kehinde, 1979).

3.2.1 Induksi Diferensiasi

Protokol telah dikembangkan untuk menginduksi diferensiasi dan melacak perkembangan sel melalui sebuah program. Preadiposit, misalnya 3T3-L1 preadiposit atau MEFs tumbuh untuk penangkapan pertumbuhan, yaitu pada fase G1 dari siklus sel. Pada titik ini, diferensiasi dimulai dengan koktail induser termasuk tingkat tinggi insulin1 (atau tingkat rendah IGF1) (MacDougald dan Lane, 1995) dan deksametason, serta agen untuk mengangkat cAMP seluler dalam medium yang mengandung serum betis janin (Student *et al.*, 1980). Induser ini mengaktifkan jalur persinyalan IGF1, glukokortikoid, dan cAMP. Induksi memulai serangkaian peristiwa yang mengatur pementasan program diferensiasi. Setelah penundaan ~16–20 jam setelah induksi, preadiposit secara sinkron memasuki kembali

siklus sel (Davis dan Zur Nieden, 2008) dan menjalani beberapa putaran mitosis yang disebut sebagai ekspansi klonal mitosis. Sel-sel kemudian keluar dari siklus sel, kehilangan morfologi fibroblastik, mengakumulasi trigliserida sitoplasma, serta memperoleh penampilan dan fitur metabolik dari adiposit. Akumulasi trigliserida berkorelasi erat dengan peningkatan laju *de novo* lipogenesis dan peningkatan koordinasi dalam ekspresi enzim asam lemak dan biosintesis triasilgliserol (Coleman *et al.*, 1978). Demikian juga, banyak protein pengatur, karakteristik adiposit *in situ* dinyatakan secara terkoordinasi termasuk reseptor insulin, pengangkut glukosa insulin yang responsif GLUT4, leptin, dan lainnya.

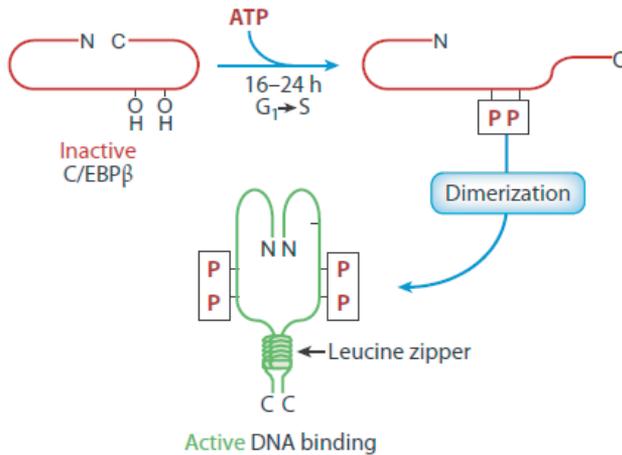


Gambar 7. Sinkronisasi replikasi DNA selama perluasan klonal mitosis dari program diferensiasi adiposit (MacDougald dan Lane, 1995).

3.2.2 Ekspansi Klonal Mitosis

Setelah induksi sel-sel pertumbuhan fase G₁-fase, preadiposit memasuki kembali siklus sel dan menjalani sekitar dua putaran divisi, yang disebut sebagai ekspansi klonal mitosis. Ekspansi klonal mitotik merupakan langkah yang diperlukan dalam program diferensiasi adiposit. Dengan demikian, memblokir replikasi DNA dengan berbagai cara, misalnya, oleh inhibitor polimerase DNA atau dengan menghalangi perkembangan siklus sel (Tang dan lane, 1999), mencegah diferensiasi. Sebagai contoh,

overekspresi konstitutif inhibitor sel-siklus p27 mencegah sel memasuki S-fase dari siklus sel dan dengan demikian mengganggu semua langkah selanjutnya dari diferensiasi (Patel dan Lane, 2000).



Gambar 8. Skema untuk perubahan konformasi diinduksi fosforilasi ganda di C/EBPβ (Zhang, 2004).

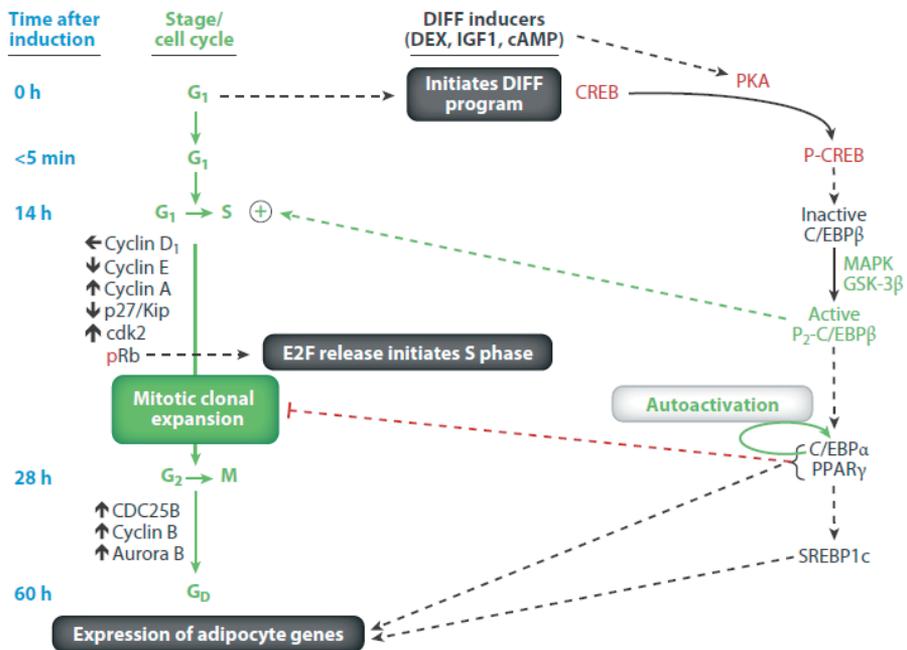
3.2.3 Penangkapan Pertumbuhan

Segera (≤ 5 menit) setelah induksi diferensiasi, protein pengikat elemen respons AMP siklik (CREB) menjadi terfosforilasi dan mengaktifkan ekspresi C/EBPβ. Namun, pada titik ini, C/EBPβ tidak memiliki aktivitas pengikatan DNA (Zhang, 2004).

3.2.4 Transisi Fase G1-S

Pada 14–16 jam setelah induksi, C/EBPβ mengakuisisi aktivitas pengikatan DNA sebagai preadiposit memasuki kembali siklus sel (Gambar 9). Antara 16–20 jam setelah induksi, penanda sel-siklus entri S-fase diekspresikan secara sinkron (atau tidak aktif) seiring dengan inisiasi replikasi DNA. Akuisisi DNA mengikat aktivitas ditunda hingga ~16 jam ketika C/EBPβ mengalami fosforilasi oleh GSK3β (lihat bagian CCAAT/enhancer-binding protein-β dan -δ di bawah) bertepatan dengan masuk kembali ke dalam siklus sel pada batas G1/S. Kejadian ini berkorelasi erat dengan

ekspresi histone H4, ekspresi terkoordinasi protein sel-siklus, dan replikasi DNA. Ekspresi histone H4 meningkat secara dramatis 12–14 jam setelah induksi, sesaat sebelumnya untuk masuk ke fase S bersamaan dengan perolehan fungsi oleh C/EBP β . Perlu dicatat bahwa histone H4 gene (hist4h4) promotor memiliki situs pengikatan C/EBP fungsional. Selain itu, *knockdown* of C/EBP β dengan siRNA mencegah induksi ekspresi H4 histone dan menangkap sel-sel dalam penangkapan pertumbuhan G1 seperti yang ditunjukkan oleh penggabungan bromodeoksiuridin dan analisis FACS dari konten DNA (Tang *et al.*, 2005).



Gambar 9. Program diferensiasi adiposit (Tang & Lane, 2005).

3.2.5 Faktor Kaskade Transkripsi

Fitur utama dari kaskade faktor transkripsi dari program diferensiasi ditunjukkan di bawah ini:

Differentiation inducers $\Rightarrow \uparrow$ [CREB
 \Rightarrow P - CREB] $\Rightarrow \downarrow$ CHOP10

$\Rightarrow \uparrow [C/EBP\beta \Rightarrow P2 - C/EBP\beta]$
 $\Rightarrow \uparrow [C/EBP\alpha/PPAR]\gamma$
 $\Rightarrow \uparrow SREBP1c \Rightarrow \uparrow adipocyte\ genes.$

3.2.6 Respons Siklik AMP terhadap Elemen Pengikat Protein

cAMP itu sendiri atau forskolin atau agen lain yang meningkatkan level cAMP 1 dapat menggantikan *methyl isobutyl xanthine* dalam *inducer cocktail* diferensiasi, CREB dianggap sebagai perantara di jalur persinyalan. Banyak bukti yang mendukung pandangan ini di antaranya sebagai berikut:

1. Target seluler cAMP, protein kinase A, mengkatalisis fosforilasi dan aktivasi CREB.
2. Ekspresi paksa CREB dalam preadiposit 3T3-L1 meningkatkan diferensiasi.
3. Promotor proksimal dari gen C/EBP β memiliki elemen *cis-regulatory* ganda yang berisi situs inti CREB-*binding*. Gen-gen promotor reporter C/EBP β dengan 5-*truncations* atau mutasi yang diarahkan ke lokasi dalam elemen regulasi TGA mengungkapkan bahwa keduanya diperlukan untuk fungsi promotor maksimal.
4. Uji Schiff elektromobilitas dan analisis imunopresipitasi kromatin dari *wildtype* Preadiposit MEF dan 3T3-L1 menunjukkan bahwa CREB berasosiasi dengan promotor proksimal dan interaksi fosfo-CREB, bentuk aktif CREB, serta dengan promotor gen C/EBP β hanya terjadi setelah induksi diferensiasi preadiposit 3T3-L1 atau MEFs.
5. CREB aktif mengaktifkan gen promotor-reporter C/EBP β , menginduksi ekspresi endogen C/EBP β , dan mempromosikan adipogenesis tanpa adanya induser hormonal.
6. Sebaliknya, CREB dominan-negatif memblokir aktivitas promotor-reporter serta ekspresi C/EBP β dan adipogenesis.
7. Menerapkan MEF tipe- liar ke protokol diferensiasi standar, menginduksi diferensiasi menjadi adiposit, sedangkan CREB-/-MEF yang diperlakukan sama menunjukkan pengurangan ekspresi C/EBP β dan diferensiasi.

Konsisten dengan peran CREB dalam proses diferensiasi, ekspresi C/EBP β dan akumulasi triasilgliserol sitoplasma sangat berkurang dalam CREB $-$ /MEFs. Bersama-sama temuan ini menunjukkan bahwa CREB berfungsi di awal program diferensiasi adiposit dengan secara transkripsi mengaktifkan gen C/EBP β .

3.2.7 Keluarga Pengikat CCAAT

Meskipun C/EBP α adalah anggota keluarga C/EBP pertama yang dikloning dan memiliki fungsi yang ditunjukkan dalam adipogenesis, tiga isoform lain juga telah terlibat terutama C/EBP α , C/EBP β ; C/EBP δ ; dan CHOP10. Tiga dari isoform mengandung domain pengikatan DNA (C/EBP α , C/EBP β , dan C/EBP δ) dan domain dimerisasi ritsleting C-terminal leusina yang berdekatan, yang memungkinkan pembentukan *homoor heterodimer* dengan anggota keluarga C/EBP lainnya dimerisasi diperlukan untuk pengikatan DNA. CHOP10 memiliki domain pengikat DNA nonfungsional pendek, b-ZIP domain tipe C-leusin ritsleting, domain dimerisasi, dan dapat heterodimerisasi dengan isoform lainnya untuk menghasilkan dominan negatif C/EBP dimer. Baik C/EBP α dan C/EBP β juga terjadi sebagai polipeptida N-terminali terpotong yang fungsinya tetap tidak jelas (Ossipow *et al.*, 1993).

3.2.8 CCAAT/Enhancer-Binding Protein- β dan - δ

C/EBP β dan C/EBP δ dengan cepat (dalam <4 jam) diekspresikan setelah induksi diferensiasi. Pentingnya C/EBP β diindikasikan oleh kemampuannya untuk mempromosikan adipogenesis ketika diekspresikan berlebihan dalam preadiposit 3T3-L1 atau pada sel NIH-3T3 tanpa adanya penginduksi hormon- aktivitas yang tidak dimiliki oleh C/EBP δ . Meskipun cepat diekspresikan pada induksi diferensiasi, C/EBP β tidak aktif dan tidak dapat mengikat DNA hingga nanti dalam program diferensiasi. Akuisisi aktivitas pengikatan DNA dicapai pada ~16 jam setelah induksi, kira-kira seiring dengan masuk ke fase S dan ekspansi klonal mitosis. Indikator lain dari beberapa situs pengikatan konsensus C/EBP adalah DNA satelit sentromerik (Yeh *et al.*, 1995).

Meskipun C/EBP β diperlukan untuk diferensiasi adiposit dalam kultur sel, *knockout* (KO) dari gen C/EBP β pada tikus memiliki sedikit efek pada akumulasi jaringan adiposa. Namun, massa jaringan adiposa dalam *double knockout* [C/EBP β -/-/C/EBP δ -/-] sangat berkurang. Pengurangan massa jaringan adiposa ini karena jumlah sel menurun mendukung pandangan bahwa C/EBP β fungsi dalam ekspansi klonal mitosis. *Double* C/EBP β -/-/C/EBP δ -/- *knockout* menghasilkan efek yang signifikan, sedangkan satu KO dari C/EBP β -/- atau C/EBP δ -/- tidak menunjukkan redundansi fungsi oleh anggota dari keluarga C/EBP (Tanaka *et al.*, 1997).

Mendukung ketergantungan adipogenesis pada C/EBP β , gangguan gen mencegah ekspansi klonal mitosis yang itu sendiri diperlukan untuk diferensiasi. Dengan demikian, C/EBP β -/- MEF gagal menjalani ekspansi klonal mitosis dan tidak berdiferensiasi menjadi adiposit, sementara C/EBP β -/- MEF menjalani ekspansi klonal mitosis dan berdiferensiasi secara normal (Tang *et al.*, 2003). Dukungan lebih lanjut untuk peran C/EBP β dalam ekspansi klonal berasal dari penggunaan AC/EBP yang mengandung ritsleting leusin, tetapi tidak memiliki domain pengikatan DNA dan transaktivasi fungsional serta bertindak sebagai protein negatif yang dominan dari C/EBP. Ekspresi paksa A-C/EBP mengganggu ekspansi dan diferensiasi klonal baik pada sel 3T3-L1. Selain itu, perputaran p27-persyaratan untuk pengembangan dari penahanan G1-pertumbuhan menjadi fase S -diblokir oleh ekspresi paksa A-C/EBP (Patel dan Lane, 1999). Mekanisme untuk efek ini adalah bahwa pembentukan suatu heterodimer C/EBP β : AC/EBP yang ketat mencegah translokasi C/EBP β ke dalam nukleus suatu proses yang diperlukan untuk ekspansi klonal mitosis. Jadi, situs utama A-C/EBP— anggota keluarga C/EBP pertama yang diekspresikan dalam kaskade faktor transkrip-kemungkinan besar akan memblokir fungsi C/EBP β . Selain itu, ketika AC/EBP di bawah kendali promotor *adipocyte-specific* aP2 diekspresikan pada tikus transgenik, hewan menjadi tidak gemuk, yaitu tanpa jaringan adiposa putih (Moitra *et al.*, 1998). Temuan ini memberikan bukti lebih lanjut yang meyakinkan bahwa C/EBP β diperlukan untuk adipogenesis *in vivo*.

Fosforilasi merupakan modifikasi *post translational* yang penting dari C/EBP β dan *lead* untuk akuisisi fungsi pengikatan DNA sebagai

preadiposit melintasi ke pos pemeriksaan G1-S pada permulaan ekspansi klonal mitosis. C/EBP β adalah terfosforilasi secara berurutan pertama oleh MAP kinase dan kemudian GSK-3 β . Fosforilasi pada Thr188 oleh MAP kinase (MAPK) terjadi ~4 jam setelah induksi diferensiasi dan diperlukan untuk ekspansi klonal mitosis, C/EBP β DNA-binding aktivitas, dan diferensiasi terminal. Namun, fosforilasi Thr188 tidak mencukupi sendiri untuk menghasilkan aktivitas pengikatan DNA oleh C/EBP β . Fosforilasi pada Thr179 atau Ser184 oleh GSK3 β terjadi antara 12 dan 16 jam setelah induksi. *Dual* fosforilasi C/EBP β di dua situs ini (Thr188 dan Thr179 atau Thr188 dan Ser184) mengarah pada akuisisi aktivitas pengikatan DNA. Oleh karena itu, tampak bahwa perubahan konformasi yang diinduksi fosforilasi terlibat. Atas dasar temuan ini dan lainnya diperkirakan bahwa setelah induksi diferensiasi, C/EBP β pertama kali cepat (dalam 2 jam) terfosforilasi oleh MAPK dan kemudian terfosforilasi di situs kedua ~14 jam oleh GSK3 β . Perubahan konformasi diinduksi yang membuat ritsleting leusin dari monomerik C/EBP β diakses untuk dimerisasi. Tampaknya, dimerisasi membawa daerah dasar dari dua monomer C/EBP β bersama-sama untuk membuat "DNA-mengikat" saku yang mengikat tepat di atas ritsleting leusin seperti yang disarankan. (Vinson *et al.*, 1989).

3.2.9 CCAAT/Enhancer-Binding Protein- α

C/EBP α dan PPAR γ berfungsi bersama sebagai aktivator transkripsi pleiotropik dari kelompok besar gen yang menghasilkan fenotipe adiposit. Dalam promotor proksimal baik gen C/EBP α dan PPAR γ memiliki unsur pengatur C/EBP dalam C/EBP β mengikat untuk mengaktifkan transkripsi secara terkoordinasi. Setelah diekspresikan, C/EBP α dianggap mempertahankan ekspresi gen C/EBP α dan PPAR γ melalui transaktivasi yang dimediasi oleh masing-masing elemen pengaturan C/EBP (Clarke *et al.*, 1997).

Promotor banyak gen adiposit mengandung C/EBP dan elemen regulasi PPAR dan di-trans-aktif oleh C/EBP α dan PPAR γ . Ekspresi C/EBP α atau PPAR γ yang dipaksakan dalam preadiposit 3T3-L1 menginduksi adipogenesis tanpa adanya induksi hormonal. Selanjutnya, memblokir ekspresi C/EBP α dengan antisense RNA menekan adipogenesis dan

merobohkan gen C/EBP α pada tikus menyebabkan penurunan akumulasi lipid (Wang *et al.*, 1995). Temuan lainnya menunjukkan persyaratan untuk C/EBP α dalam program diferensiasi adiposit. Mulai 18–24 jam setelah induksi diferensiasi, gen C/EBP α dan PPAR γ secara transkripsi diaktifkan oleh C/EBP β melalui elemen regulasi C/EBP dalam promotor proksimal.

Setelah C/EBP α diekspresikan, ekspresinya dipertahankan melalui autoaktivasi (Christy *et al.*, 1991). Pertanyaan berikut diajukan: Mengapa ada redundansi seperti itu dalam ekspresi gen C/EBP selama adipogenesis? Salah satu penjelasan yang mungkin adalah bahwa C/EBP α adalah antimitotik. Dengan demikian, ekspresi prematurnya akan mencegah preadiposit memasuki ekspansi klonal mitosis, langkah yang diperlukan untuk diferensiasi berikutnya. Oleh karena itu, tampak bahwa C/EBP α harus tetap ditekan sampai jendela waktu yang menguntungkan. Beberapa mekanisme menyebabkan keterlambatan dalam ekspresi C/EBP α . Ikatan AP-2 α dan Sp1 pada aktivitas promotor menekan promotor C/EBP α dan menunda akuisisi DNA yang mengikat oleh C/EBP β dan C/EBP δ (lihat bagian berjudul CCAAT/enhancer-binding protein- β dan - δ , di atas). Baik AP-2 α dan Sp1 menurunkan regulasi bersamaan dengan peningkatan regulasi C/EBP β .

3.2.10 CHOP10

CHOP10 dikloning dari pustaka cDNA adiposit 3T3-L1 atas dasar kemampuannya untuk berinteraksi dengan domain ritsleting leusin C/EBP β C-terminal. CHOP10 mengandung residu prolina dan glisina di daerah pengikatan DNA yang menghapus kemampuannya untuk mengikat DNA, tetapi tidak kemampuannya untuk membentuk heterodimer. Dengan demikian, CHOP10 bertindak sebagai isoform negatif dominan dan dinyatakan ektopik dalam sel 3T3-L1 blok adipogenesis. CHOP10 biasanya dinyatakan oleh preadiposit G1, tetapi menurunkan regulasi sebagai ekspresi penurunan C/EBP β . Heterodimerisasi CHOP10 dengan C/EBP β mencegahnya dari memperoleh aktivitas mengikat DNA (Tang dan Lane, 2000). CHOP10 menyediakan mekanisme “gagal-aman” untuk mencegah perolehan aktivitas pengikatan DNA oleh C/EBP β sampai preadiposit telah memasuki ekspansi klonal mitosis.

3.2.11 Peroxisome Proliferator – Activated Receptor- γ

PPAR γ ada sebagai tiga isoform (PPAR γ 1, PPAR γ 2, dan PPAR γ 3) yang ditranskripsi dari gen yang sama melalui penggunaan *splicing* dan promoter alternatif. PPAR γ 2 adalah isoform adiposit spesifik primer. Semua isoform memiliki transaktivasi, DNA-binding, dan domain dimerisasi. Untuk mengikat elemen respons proliferasi peroksisom pada gen target, PPAR pertama harus membentuk heterodimer dengan reseptor retinoid X. Meskipun ligan alami untuk PPAR γ belum teridentifikasi, beberapa tiazolidindion dan prostanoids sintesis yang kuat, misalnya 15-deoksi-delta 12,14 prostaglandin J2 berikatan dengan afinitas tinggi. Namun, tidak mungkin bahwa konsentrasi 15-deoksi-delta 12,14 prostaglandin J2 *in vivo* adalah kepentingan biologis (Tontonoz dan Spiegelman, 2008).

Meskipun PPAR γ 2 tampaknya bertindak sebagai pengatur “master” program adipogenesis seperti C/EBP α , ia juga berpartisipasi dalam sistem beragam lainnya termasuk lipogenesis hati. Ekspresi ektopik PPAR γ 2 pada preadiposit dan fibroblas non-adipogenik mengaktifkan ekspresi dan diferensiasi gen adiposit. Selain itu, mutan dominan negatif dan KO dari gen tikus memblokir fungsi-fungsi ini.

Sebagaimana ditunjukkan di atas, C/EBP β dan C/EBP δ dengan cepat (dalam < 4 jam) dinyatakan setelah induksi diferensiasi. Setelah penundaan 16–20 jam, C/EBP β secara terkoordinasi mengaktifkan ekspresi PPAR γ 2 dan C/EBP α melalui elemen pengatur C/EBP pada promotor proksimal dari gen masing-masing. PPAR γ 2 dan C/EBP α secara terkoordinasi mentransaktivasi kelompok besar gen yang menghasilkan fenotipe adiposit. Sekali diekspresikan, PPAR γ dan C/EBP α secara positif saling mengaktifkan satu sama lain melalui masing-masing elemen pengaturan C/EBP (Date *et al.*, 2004). Agaknya, tindakan ini melanggengkan fenotipe adiposit pada adiposit dewasa.

3.2.12 Sterol Pengatur Protein Pengikat Elemen

Sterol Regulatory-Binding Protein (SREBPs) adalah protein *Helix-Loop-Helix* (HLH) leusina ritsleting dasar. SREBP2 mengatur transkripsi gen metabolisme kolesterol, sementara SREBP1c dan homolog tikusnya ADD1 mengatur lipogenesis. Dalam program diferensiasi adiposit, ekspresi

SREBP1c/ADD1 mRNA diaktifkan setelah ekspresi C/EBP α dan PPAR γ , yaitu ~20 jam setelah induksi diferensiasi. Bukti saat ini berimplikasi SREBP1c/ADD1 dalam kejadian terminal diferensiasi adiposit yaitu (a) SREBP1c/ADD1 dinyatakan sebagai prekursor membran terikat ke SCAP (SREBP-*cleavage-activating protein*) dan ditambatkan di ER oleh Insig-2a; (b) setelah pelepasannya dari ER (dirangsang oleh insulin), SCAP·SREBP1c/ADD1 bergerak ke aparatus golgi, dimana pembelahan proteolitik membebaskan komponen HLH dasarnya untuk translokasi ke nukleus; dan (c) setelah di nukleus transkripsi gen penyandi enzim lipogenik terjadi peristiwa yang menghasilkan karakteristik adiposit.

Bukti terbaru menunjukkan bahwa insulin mengatur pelepasan SCAP·SREBP1c/ADD1 dari ER dengan menurunkan tingkat isolasi INSIG-2a melalui peningkatan *turnover* mRNA-nya. Berkurangnya tingkat INSIG-2a memfasilitasi ekspor SCAP·SREBP1c/ADD1 dari ER ke golgi untuk pembelahan proteolitik dan translokasi berikutnya dari komponen HLH dasar ke nukleus. Akibatnya, transkripsi gen lipogenik diaktifkan termasuk yang mendukung sintesis asam lemak, desaturasi dan serapan, serta sintesis triasilgliserol. Dalam arti metabolik, ini konsisten dengan temuan baru-baru ini bahwa SREBP1c/ADD1 difosforilasi oleh AMP kinase, yang mendorong mobilisasi energi (Aagaard, 2011). Insulin di sisi lain mempromosikan penyimpanan energi dengan mengaktifkan ekspresi enzim lipogenik.

3.2.13 Remodeling Histon dan Kromatin

Studi pemetaan genom telah mengungkapkan perubahan struktur kromatin yang terjadi selama diferensiasi 3T3-L1 preadiposit menjadi adiposit. Analisis situs DNase I-hipersensitif mengungkapkan bahwa perubahan struktur kromatin terjadi pada awal program diferensiasi bertepatan dengan pengikatan kooperatif faktor transkripsi awal, seperti C/EBP β dan C/EBP δ ke titik panas regulator. Hal yang menarik, titik panas C/EBP β diamati sebelum induksi diferensiasi dan remodeling kromatin. Selanjutnya, subset dari tempat-tempat panas C/EBP β yang dipulihkan awal bertahan selama diferensiasi dan kemudian diduduki oleh PPAR γ menunjukkan bahwa anggota keluarga C/EBP awal dapat bertindak

sebagai faktor inisiasi untuk pengikatan PPAR γ berikutnya. Temuan ini bagaimanapun tidak konsisten dengan yang diperoleh dalam studi kultur sel. Studi-studi ini menunjukkan bahwa dalam keadaan pertumbuhan G1 sebelum induksi, C/EBP β berada dalam keadaan tidak aktif defosforilasi dan tidak dapat mengikat DNA, yaitu ke situs promotorisasi konsensus C/EBP entri sinkron ke fase S terjadi. Entri sinkron ke dalam fase S hanya terjadi setelah penyelesaian fosforilasi ganda C/EBP β dan perolehan aktivitas pengikatan DNA. Penjelasan yang mungkin untuk perbedaan ini adalah bahwa preadiposit dalam penelitian ini tidak dalam G1-pertumbuhan-ditangkap negara bagian (Siersbaek *et al.*, 2011). Membagi preadiposit diketahui mengekspresikan tingkat tinggi C terfosforilasi atau EBP β aktif. Jadi, *hotspot* C/EBP β , yang dikaitkan dengan preadiposit yang “tidak terinduksi” mungkin disebabkan oleh sel yang telah melewati pos pemeriksaan siklus sel G1-S. Lihat bagian di atas (Ekspansi Klonal Mitotik dan CCAAT-/- protein pengikat penguat- β dan $-\delta$). C/EBP β harus terfosforilasi beberapa kali ke DNA-*binding*. Dengan demikian, perlu untuk membuktikan secara definitif dengan analisis siklus sel bahwa semua prediposit sebelum induksi berada di negara yang ditangkap pertumbuhan G1.

3.2.14 Peran miRNA dalam Adipogenesis

Sejumlah miRNA telah diidentifikasi yang tampaknya memainkan peran dalam adipogenesis. Beberapa miRNA ini tampaknya mempercepat adipogenesis, sementara yang lain secara negatif mengatur adipogenesis. Homolog mamalia miR-8 mempromosikan adipogenesis dengan menghambat persinyalan Wnt (Sun *et al.*, 2009). Namun, mekanisme yang digunakan oleh miRNAs ini belum dikaitkan secara pasti dengan aspek-aspek spesifik dari program diferensiasi.



BAB

Kontrol Transkripsi Pembentukan Adiposit

4.1 PENGATUR DIFERENSIASI PREADIPOSIT (ADIPOGENESIS) DAN FUNGSI ADIPOSIT

Obesitas individu lebih mungkin berkembang menjadi penyakit kardiovaskular dan diabetes tipe 2 daripada orang lain yang lebih ramping. Peningkatan adipositas pada individu-individu ini hasil dari peningkatan baik jumlah adiposit dan ukuran sel-sel lemak individu. Selain itu, peningkatan yang tidak proporsional pada depot adiposa viseral pada beberapa individu dikaitkan dengan perkembangan gangguan metabolik tertentu. Akibatnya, materi tentang mekanisme yang mengatur pembentukan adiposa harus memberikan informasi yang berharga dalam perjuangan untuk memerangi peningkatan kejadian obesitas di dunia modern.

Selama beberapa tahun terakhir, para peneliti telah memulai usaha yang terperinci dan sistematis untuk menentukan peristiwa transkripsional yang mengatur diferensiasi preadiposit (adipogenesis) dan fungsi adiposit. Diferensiasi preadiposit ke adiposit diatur oleh jaringan yang rumit dari faktor transkripsi yang mengoordinasikan ekspresi ratusan protein yang bertanggung jawab untuk membentuk fenotipe sel lemak matang. Di pusat jaringan ini adalah dua faktor adipogenik utama, yaitu PPAR γ dan C/EBP α yang mengawasi seluruh terminal proses diferensiasi. PPAR γ khususnya dianggap sebagai pengatur utama adipogenesis. Tanpa itu, sel-sel prekursor tidak mampu mengekspresikan aspek yang diketahui dari fenotipe adiposit (Rosen *et al.*, 1999). Di sisi lain, sel kekurangan C/EBP α mampu diferensiasi adiposit. Namun, sel-sel kekurangan C/EBP α ini resistan terhadap insulin (El-Jack *et al.*, 1999). Sebagian besar pengetahuan kita tentang jaringan yang kompleks ini dan pentingnya PPAR γ dan C/EBP α berasal dari penelitian yang dilakukan dalam jalur sel preadiposit yang sudah mapan dan juga sel prekursor yang berasal dari mesenkim. Baru-baru ini, data dari berbagai tikus *knockout* telah mengonfirmasi penelitian *in vitro* yang menunjukkan bahwa banyak komponen dari jaringan ini diperlukan regulator pengembangan dan fungsi adiposit.

Garis sel preadiposit 3T3-L1 dan 3T3-F422A yang awalnya didirikan oleh Green dan rekannya telah sangat memudahkan pengetahuan kita

tentang mekanisme molekuler yang mengendalikan adipogenesis (Green dan Kehinde, 1976). Meskipun berkomitmen pada garis keturunan adiposit, proliferasi preadiposit 3T3-L1 memberikan karakteristik yang mirip dengan fibroblas 3T3 lainnya. Konfluen 3T3-L1 preadiposit membedakan pada paparan induser adipogenik *Fetal Bovine Serum* (FBS), deksametason, *methyl isobutyl xanthine*, dan insulin. Koktail ini mengaktifkan program adipogenik yang terjadi dalam dua fase yang terdefinisi dengan baik. Sel yang distimulasi segera memasuki kembali siklus sel dan berkembang melalui setidaknya dua divisi siklus sel. Fase ini yang sering disebut sebagai ekspansi klonal. Selama waktu ini, sel-sel mengekspresikan faktor transkripsi adipogenik spesifik serta regulator siklus yang bersama-sama memfasilitasi ekspresi PPAR γ dan C/EBP α . Setelah acara ini, sel-sel yang berkomitmen menjalani diferensiasi terminal dimanifestasikan oleh produksi tetesan lipid serta ekspresi beberapa program metabolisme karakteristik sel lemak dewasa. Validitas sistem 3T3-L1 ini sebagai model pembentukan adiposit yang tepat pada hewan telah didukung oleh banyak penelitian yang dilakukan pada tikus dan jaringan manusia.

4.2 REGULATOR UTAMA ADIPOGENESIS

Peran PPAR γ sebagai pengatur utama adipogenesis didukung oleh banyak bukti baik dari studi *in vivo* maupun *in vitro*. Bukti awal dari peran penting PPAR γ dalam mengatur adipogenesis datang dari Spiegelman dan kolaborator yang telah bekerja selama beberapa tahun untuk menjelaskan faktor transkripsi yang mengatur ekspresi protein pengikat asam lemak adiposa spesifik aP2/FABP4. Upaya ini menghasilkan identifikasi faktor nuklir awalnya disebut sebagai ARF6 yang kemudian ditunjukkan melalui teknologi kloning berhubungan dengan PPAR γ dan pasangan heterodimeriknya (RXR) (Tontonoz *et al.*, 1994). Serangkaian studi *gain-of-function* di mana PPAR γ secara ektopik diekspresikan pada fibroblas tikus non-adipogenik menunjukkan bahwa PPAR γ saja dapat memulai seluruh program adipogenik sehingga menimbulkan sel-sel lemak yang mampu melakukan banyak fungsi adiposit dewasa (Tontonoz *et al.*, 1994). Dalam mencoba untuk memahami pentingnya PPAR γ dalam pengembangan adiposit, peneliti menemukan bahwa ablasi PPAR γ dalam

sel embrionik (ES) menyebabkan kematian embrionik pada E10 karena defek dalam plasentasi sebagai akibat dari partisipasi PPAR γ dalam pembentukan trofoblas (Barak *et al.*, 1999). Untuk mengatasi masalah ini, strategi alternatif untuk mendapatkan tikus *knockout* dikembangkan yang mendukung peran untuk PPAR γ dalam pembentukan semua depot lemak termasuk cokelat dan putih (Barak *et al.*, 1999; Rosen *et al.*, 1999). Model tikus ini bagaimanapun hanya memberikan sebagian informasi mengenai fungsi PPAR γ di adiposit karena kedua model tunduk pada batasan yang signifikan. Dalam satu kasus, kesimpulan didasarkan pada tikus kimerik yang berasal dari sel-sel ES yang ditargetkan secara homozigot (Rosen *et al.*, 1999). Pada hewan-hewan ini, sel-sel *knockout* gagal berkembang menjadi adiposit, sedangkan sel-sel yang diturunkan secara liar memunculkan depot adiposa yang berfungsi penuh. Akibatnya, sulit untuk menilai apa dampak tidak adanya PPAR γ pada fungsi jaringan adiposa. Strategi embrio tetraploid dari Evans dan rekan kerjanya (Barak *et al.*, 1999), hanya menghasilkan satu tikus yang mati segera setelah lahir, tetapi memungkinkan para peneliti ini untuk mengamati bahwa defisiensi PPAR γ pada hewan-hewan ini mengakibatkan kegagalan untuk membentuk jaringan adiposa. Pembentukan jaringan adiposa putih (WAT) -*hypomorphic* PPAR γ *knockdown* menghasilkan hewan yang sangat lipodistrofik. Data ini mengotentikasi PPAR γ sebagai pengatur utama adipogenesis (Koutnikova *et al.*, 2003).

PPAR γ diekspresikan sebagai dua isoform, yaitu PPAR γ 1 dan PPAR γ 2 dihasilkan oleh penggunaan promotor alternatif dari gen yang sama, yang menghasilkan empat mRNA berbeda. PPAR γ 1, PPAR γ 3, dan PPAR γ 4 mRNA semua menyandikan polipeptida PPAR γ 1, sementara PPAR γ 2 mRNA mengode polipeptida PPAR γ 2 yang sesuai, yang identik dengan PPAR γ 1 dengan tambahan 30 asam amino yang ada di ujung N (Fajas *et al.*, 1997; Meirhaeghe *et al.*, 2003; Tontonoz *et al.*, 1994). PPAR γ 1 diekspresikan dalam banyak jaringan, sedangkan ekspresi PPAR γ 2 dibatasi hampir secara eksklusif untuk adiposa. Studi yang dilakukan dalam fibroblas embrionik fibroblas PPAR γ 2/2 menunjukkan bahwa PPAR γ 1 ektopik mampu menginduksi adipogenesis sebagai PPAR γ 2 (Mueller *et al.*, 2002). Selanjutnya, adiposa selektif *knockout* dari PPAR γ 2 di tikus memunculkan hewan yang tidak peka terhadap insulin dengan

pengurangan lemak. Namun, masih mengandung sejumlah besar jaringan adiposa menunjukkan bahwa PPARG1 dapat mengimbangi banyak fungsi adipogenik PPARG2 (Zhang *et al.*, 2004). Fakta bahwa tikus yang kekurangan PPARG2 adalah resistan insulin menunjukkan bahwa PPARG2 dapat memainkan peran selektif dalam mengatur sensitivitas insulin.

Pengakuan bahwa C/EBPa berfungsi sebagai pemain utama dalam adipogenesis juga dihasilkan dari studi *gain*-fungsi dalam sel kultur serta pembentukan tikus KO yang tepat. Dalam kasus pertama, Freytag dan rekan menunjukkan bahwa ektopik ekspresi C/EBPa dalam berbagai sel fibroblastik dapat menginduksi adipogenesis (Freytag *et al.*, 1994). Mirip dengan penelitian PPARG, pembentukan tikus KO C/EBPa mengalami kemunduran signifikan karena hewan mati segera setelah lahir karena ketidakmampuan anak-anaknya memproduksi glukosa. Fenotipe ini hasil dari persyaratan C/EBPa untuk glukoneogenesis di hati (Wang *et al.*, 1995). Ablasi C/EBPa di semua jaringan kecuali hati mengungkapkan bahwa C/EBPa diperlukan untuk pembentukan WAT. Menariknya, C/EBPa tidak diperlukan untuk pembentukan jaringan adiposa cokelat (BAT) (Linhart *et al.*, 2001).

PPARg dapat menginduksi adipogenesis di C/EBPa-defisien MEFs, sedangkan C/EBPa tidak mampu menggerakkan program adipogenik dengan tidak adanya PPARG (Rosen *et al.*, 1999). Pengamatan ini menunjukkan bahwa C/EBPa dan PPARG berpartisipasi dalam satu jalur pengembangan adiposa di mana PPARG adalah faktor dominan. Harus disebutkan bahwa C/EBPa menyediakan fungsi penting selama terminal adipogenesis karena kegagalan untuk mengekspresikan C/EBPa menghasilkan resistansi insulin dalam model kultur sel dan ketidakmampuan untuk mengembangkan WAT *in vivo* (El-Jack *et al.*, 1999; Linhart *et al.*, 2001). Telah disarankan bahwa selain untuk mengontrol aksi insulin, C/EBPa diperlukan untuk mempertahankan ekspresi PPARg dalam sel lemak dewasa. Ada kemungkinan bahwa pembentukan fenotipe adipogenik dalam adiposit cokelat C/EBPa-kekurangan adalah karena mekanisme lain (mungkin C/EBPs lain) yang berfungsi untuk mempertahankan produksi PPARG.

4.2.1 C/EBPb dan C/EBPd

Sebelum penemuan PPARG sebagai pengatur utama adipogenesis, beberapa peneliti berusaha mengidentifikasi mekanisme yang bertanggung jawab untuk menentukan diferensiasi sel prekursor menjadi adiposit. Sekarang ditetapkan bahwa kaskade faktor transkripsi akhirnya mengarah ke ekspresi PPARG dan C/EBPa. Indikasi pertama dari jaringan tersebut berasal dari karya McKnight dan rekan yang menyarankan bahwa dua anggota lain dari keluarga C/EBP, C/EBPb dan C/EBPd dinyatakan lebih awal dari C/EBPa selama adipogenesis dalam sel 3T3-L1 bertanggung jawab untuk mengatur ekspresi C/EBPa (Cao *et al.*, 1991; Yeh *et al.*, 1995). Secara khusus, menunjukkan ekspresi ektopik dari C/EBPb dan C/EBPd dalam preadiposit 3T3-L1 menginduksi ekspresi C/EBPa dan program adipogenik tanpa adanya hormon ekstraseluler. Mereka juga menunjukkan bahwa pengenalan C/EBPs ini ke dalam fibroblas NIH 3T3 non-adipogenik dapat menginduksi adipogenesis tanpa merangsang ekspresi C/EBPa.

Penelitian lain yang bertujuan untuk mengidentifikasi kejadian awal yang mengatur adipogenesis menunjukkan hubungan langsung antara C/+EBP dan PPARG. Secara khusus, ekspresi ektopik dari C/EBPb dalam NIH 3T3 fibroblas, sendiri atau dalam kombinasi dengan C/EBPd, menginduksi ekspresi PPARg2, paparan ligan PPARG dalam melakukannya, dan memfasilitasi konversi sel menjadi adiposit. Sesuai dengan McKnight *et al.*, penelitian ini menunjukkan bahwa sel NIH 3T3 tidak mengekspresikan C/EBPa meskipun menumpuk jumlah trigliserida yang melimpah sebagai respons terhadap aktivasi PPARG. Selain itu, kedua kelompok mengamati bahwa C/EBPd sendiri memiliki aktivitas adipogenik minimal. C/EBPb dan C/EBPd memainkan peran penting dalam mendorong ekspresi C/EBPa dan PPARG. Hal ini ditunjukkan oleh identifikasi elemen regulasi C/EBP fungsional dalam promotor C/EBPa dan PPARG (Christy *et al.*, 1991; Clarke *et al.*, 1997).

Dalam upaya untuk menentukan urutan kejadian yang mengarah ke adipogenesis terminal, diusulkan bahwa C/EBPb dan C/EBPd secara bersamaan mengontrol ekspresi dari kedua PPARG dan C/EBPa. Beberapa peneliti menyarankan bahwa C/EBPb menginduksi C/EBPa dan bersama-sama faktor-faktor ini mengatur ekspresi PPARG. Baru-baru ini, penelitian

telah menunjukkan bahwa ekspresi ektopik dari C/EBP β dalam fibroblas menginduksi PPAR γ seperti yang diharapkan, tetapi tidak mampu menginduksi C/EBP α ke tingkat yang signifikan tanpa adanya ligan PPAR γ yang kuat. Selain itu, ekspresi retrovirus dari C/EBP β dalam PPAR γ 2/2 MEFs juga menunjukkan bahwa C/EBP β dengan tidak adanya PPAR γ aktif tidak mampu menstimulasi ekspresi C/EBP α (Liu *et al.*, 2006). Oleh karena itu, jalur utama adipogenesis melibatkan induksi C/EBP β dan C/EBP δ yang kemudian memfasilitasi ekspresi PPAR γ . PPAR γ bersama dengan C/EBPs ini kemudian mengaktifkan ekspresi C/EBP α .

Peran yang tepat dari C/EBP β dan C/EBP δ dalam mengatur faktor kaskade ini telah dipertanyakan bagaimanapun pada tikus *knockout*. Secara khusus, Tanaka *dkk.* (1997), menunjukkan bahwa tikus neonatal yang kekurangan C/EBP β dan C/EBP δ memiliki cacat pada kemampuan untuk menghasilkan jaringan adiposa. Namun, defek ini tampaknya menjadi hilir dari kedua PPAR γ dan C/EBP α karena kedua faktor tersebut diekspresikan dalam jaringan adiposa yang terdiferensiasi buruk. Sebaliknya, MEFs yang diperoleh dari tikus *knockout* ini tidak mengekspresikan C/EBP α atau PPAR γ dan tidak mampu menjalani adipogenesis bila dibandingkan dengan sel *wild type*. Data ini menunjukkan bahwa ada beberapa redundansi pada langkah awal adipogenesis *in vivo* di mana jalur alternatif beroperasi untuk memastikan ekspresi PPAR γ dan C/EBP α . Selanjutnya, tampak bahwa C/EBP β dan C/EBP δ selain menginduksi ekspresi PPAR γ dan C/EBP α menyediakan fungsi lain selama adipogenesis terminal karena ketidakhadiran mencegah adipogenesis terminal pada langkah hilir PPAR γ atau C/EBP α . Satu fungsi yang mungkin yaitu induksi program yang bertanggung jawab untuk produksi ligan PPAR γ .

Mengidentifikasi faktor-faktor yang mengatur ekspresi C/EBP β dan C/EBP δ serta bekerja sama dengan C/EBPs ini dengan cara khusus adipogenik harus memberikan wawasan tambahan ke dalam mekanisme yang mengatur komitmen sel punca mesenkimal terhadap garis keturunan adipogenik. Studi dari Klemm dan Lane memberikan bukti yang meyakinkan bahwa protein pengikat elemen pengatur cAMP, CREB yang diaktifkan sangat awal selama adipogenesis dalam sel 3T3-L1, berpartisipasi dalam induksi ekspresi C/EBP β (Zhang *et al.*, 2004). Pengamatan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang

menunjukkan peran persinyalan cAMP dalam mengendalikan ekspresi C/EBP β dan juga menjelaskan perlunya induser cAMP (*isobutyl methyl xanthine*) dalam koktail yang memulai program adipogenik. Sebaliknya, induksi C/EBP δ difasilitasi oleh glukokortikoid dan C/EBP β (Cao *et al.*, 1991).

4.3 FAKTOR ADIPOGENIK LAINNYA

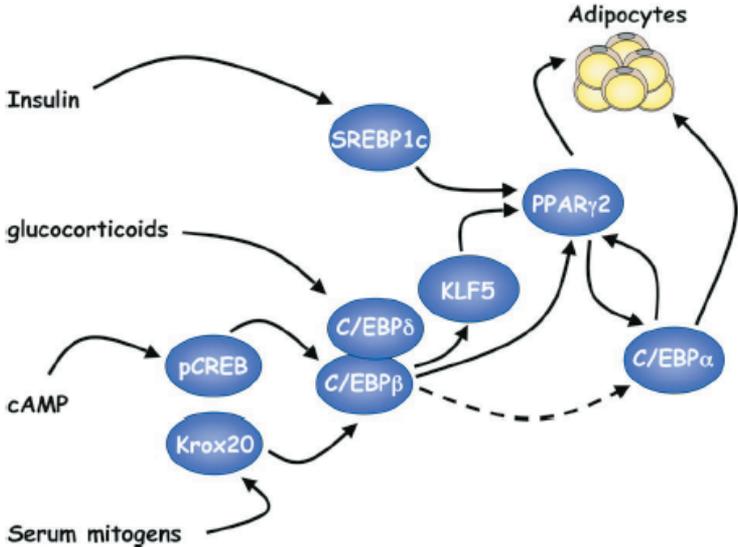
Profil ekspresi kuantitatif terbaru menggunakan analisis *microarray* dan qPCR mRNA yang diekspresikan pada fase awal adipogenesis *in vitro* dan di jaringan adiposa *in vivo* menunjukkan bahwa banyak faktor transkripsi tambahan yang potensial. Komponen jaringan kompleks faktor yang bertanggung jawab untuk menginduksi ekspresi gen adipogenik (Fu *et al.*, 2005b). Peneliti telah mengidentifikasi Krox20 sebagai faktor yang bertindak di awal program adipogenik dan tampaknya berkontribusi pada induksi ekspresi C/EBP β . Krox20 (juga dikenal sebagai gen respons pertumbuhan awal 2 atau EGR2) adalah faktor transkripsi yang diinduksi segera setelah pemaparan sel terhadap mitogen. Krox20 diaktifkan di awal program adipogenik sel 3T3-L1 dan tidak hanya mempromosikan ekspresi C/EBP β , tetapi juga bekerja sama dengan C/EBP β untuk memfasilitasi terminal adipogenesis (Fu *et al.*, 2005b).

Fakta bahwa kejadian awal ini, termasuk aktivasi CREB, Krox20, dan C/EBP β mendahului induksi PPAR γ dan C/EBP α transkripsi oleh 1 hingga 2 hari menunjukkan bahwa proses tambahan diperlukan untuk memfasilitasi adipogenesis terminal. Jalur dan rekan dalam upaya untuk menjelaskan *lag* ini, menyarankan bahwa C/EBP β tidak mencapai kapasitas untuk mengikat ke elemen respons C/EBP dalam promotor gen targetnya sampai beberapa jam setelah kemunculannya di nukleus karena terikat pada satelit DNA (Tang dan Lane, 1999). Mereka mengusulkan agar pelepasannya dari kompartemen ini difasilitasi oleh perubahan struktur kromatin yang terjadi selama ekspansi klonal dan adipogenesis terminal. Baru-baru ini, para peneliti menyarankan bahwa *lag* ini dalam aktivitas C/EBP β juga hasil dari penundaan dalam fosforilasi oleh MAPKs dan GSK3 yang diperlukan untuk aktivitas pengikatan DNA (Tang *et al.*, 2005). Investigasi terbaru menunjukkan bahwa *lag* antara penampilan

C/EBP β dan ekspresi PPAR γ 2 dihasilkan dari waktu yang diperlukan untuk sintesis protein tambahan yang memfasilitasi aktivitas C/EBP β . Secara khusus, transkripsi Kruppel- seperti faktor KLF5 diaktifkan oleh C/EBP β dan C/EBP δ dan dalam konser dengan C/EBPs ini berkontribusi terhadap induksi PPAR γ 2 (Oishi *et al.*, 2005). Tikus *knockout* KLF5 neonatal heterozigot memiliki defisiensi signifikan dalam pembentukan jaringan adiposa (Oishi *et al.*, 2005). Selain itu, MEFs diperoleh dari KLF5 +/2 ini tikus dikompromikan dalam kemampuan untuk menjalani adipogenesis. Studi juga menunjukkan peran untuk anggota lain dari KLF termasuk KLF6 dan KLF15 dalam mempromosikan adipogenesis (Mori *et al.*, 2005).

Sangat mungkin bahwa faktor tambahan dari jalur paralel diinduksi awal dan berkumpul pada PPAR γ pada tahap hilir C/EBP β dan C/EBP δ seperti faktor transkripsi HLH SREBP1c/ADD-1. Peran potensial SREBP1c dalam mengatur adipogenesis berasal dari penelitian yang menunjukkan bahwa ekspresinya secara signifikan ditingkatkan dalam 3T3-L1 adiposit sebagai respons terhadap insulin (Kim *et al.*, 2006). Selain itu, ekspresi ektopik dari SREBP1c dominan-negatif ditunjukkan untuk menghambat diferensiasi preadiposit, sementara overekspresi protein HLH ini secara signifikan meningkatkan aktivitas adipogenik. Ekspresi SREBP1c saja bagaimanapun hanya mampu menginduksi adipogenesis ke tingkat sedang dan penelitian tambahan menunjukkan bahwa SREBP1c berkontribusi pada produksi ligan PPAR γ sehingga memfasilitasi aksi PPAR γ (Kim *et al.*, 2006). Ada penelitian lain yang menghubungkan SREBP1c dengan induksi PPAR γ 1 melalui situs pengikatan SREBP dalam promotor PPAR γ 1 dan G3 (Fajas *et al.*, 1997). Dukungan untuk jalur tambahan yang mengatur adipogenesis berasal dari penyelidikan baru-baru ini ke fungsi protein STAT5. STAT5A dan STAT5B memfasilitasi transmisi persinyalan sitokin ke sejumlah gen target yang mengendalikan banyak fungsi dalam beberapa tipe sel. Ablasi STAT ini pada tikus menyebabkan spektrum respons patologis terutama terkait dengan tidak adanya hormon pertumbuhan dan persinyalan prolaktin, tetapi juga mengarah ke pengurangan 5 kali lipat pada massa jaringan adiposa dibandingkan dengan hewan tipe liar. Fenotipe ini bisa disebabkan oleh redaman proadipogenik prolaktin yang memberi sinyal. Namun, penelitian terbaru menyarankan peran langsung untuk STAT5 di adipogenesis. Secara khusus, ekspresi ektopik dari STAT5A

pada fibroblas non-adipogenik menginduksi diferensiasi preadiposit yang meliputi aktivasi aktivitas PPARG serta akumulasi beberapa tetesan lemak. Mekanisme yang bertanggung jawab untuk aktivitas STAT5A ini tidak diketahui karena gen target langsung (atau gen) belum teridentifikasi. Ada penelitian genetika manusia yang mendukung peran untuk STAT5 dalam mengatur transkripsi dari promotor PPARG3 (Meirhaeghe *et al.*, 2003).



Gambar 10. Induksi adipogenesis oleh kaskade faktor transkripsi (Farmer, 2006).

Serangkaian penelitian yang menarik menunjukkan bahwa komponen jam molekuler mungkin juga memiliki peran dalam mengatur baik pembentukan dan fungsi adiposit. Secara khusus, MEFs kurang BMAL1 (otak dan otot seperti protein ARNT 1), faktor transkripsi yang dikenal untuk mengatur ritme sirkadian gagal untuk berdiferensiasi menjadi adiposit dan ekspresi ektopik BMAL1 dalam sel-sel ini mengembalikan adipogenesis (Shimba *et al.*, 2005). Demikian pula komponen lain dari jam molekuler, *rev-erba* diinduksi oleh BMAL1 dan PPARG selama adipogenesis pada 3T3-L1 preadiposit dan memfasilitasi ekspresi beberapa gen adipogenik (Shimba *et al.*, 2005).

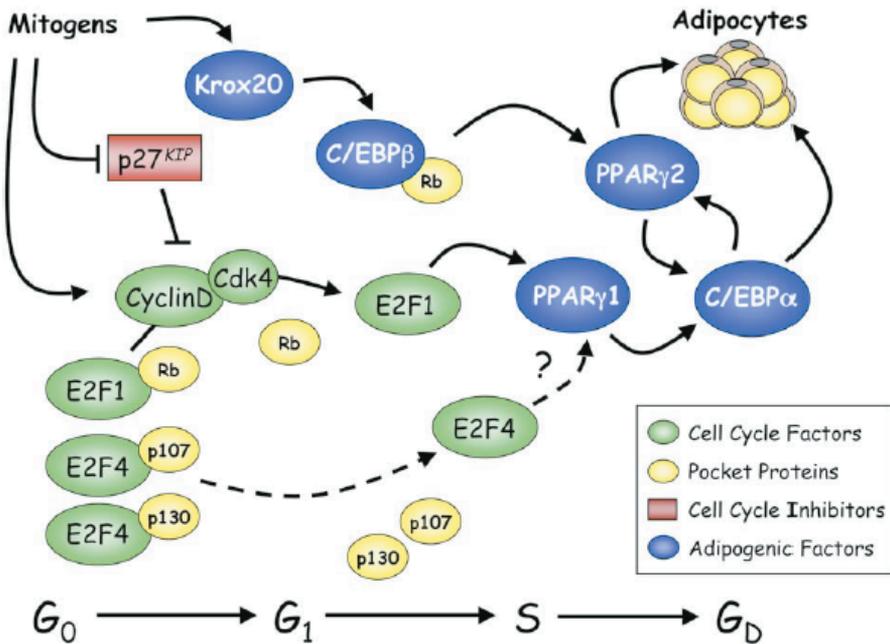
4.3.1 Peran Ekspansi Klonal dan Protein yang Terkait Siklus Sel dalam Mengatur Adipogenesis

Ekspansi klonal dari populasi preadiposit adalah prasyarat untuk diferensiasi selanjutnya menjadi adiposit. Adipogenesis diinduksi dalam suatu populasi sel yang terpajan dengan paparan insulin, induser persinyalan cAMP, dan glukokortikoid dalam 10% FBS. Medium ini kaya mitogen dan menginduksi seluruh populasi sel untuk memasuki kembali siklus sel (G0 ke G1) dan menjalani setidaknya dua putaran pembelahan sel sebelum melanjutkan ke terminal adipogenesis. Penghambatan proliferasi sel dengan obat-obatan yang memblokir fase S mencegah adipogenesis. Oleh karena itu, telah disarankan bahwa adipogenesis membutuhkan mitosis untuk mengorganisasi kromatin untuk memfasilitasi induksi gen adipogenik (Tang *et al.*, 2003). Kebutuhan untuk fase ekspansi klonal mungkin karena persyaratan untuk komponen dari mesin sel-siklus dalam mempromosikan ekspresi gen adipogenik. Seperti disebutkan di atas, Krox20 adalah gen respons pertumbuhan awal yang diinduksi sebagai preadiposit konfluen memasuki kembali siklus sel dan juga memainkan langsung peran dalam menginduksi ekspresi C/EBP β dan PPARG2. Protein siklus sel yang paling terkemuka, yang mengatur program adipogenik adalah keluarga E2F dari faktor transkripsi dan protein saku terkait.

4.3.2 E2F, Protein Saku, dan Adipogenesis

Studi oleh Auwerx dan rekan telah memberikan bukti yang menunjukkan bahwa keluarga E2F faktor transkripsi mengatur diferensiasi adiposit (Fajas *et al.*, 2002). Data menunjukkan bahwa E2F1-3 dan E2F4 memiliki efek yang berlawanan pada diferensiasi yang tampaknya disebabkan oleh regulasi diferensial ekspresi PPARG1. Dalam preadiposit konfluen, E2F4 menekan transkripsi PPARG melalui asosiasi dengan protein saku p130 dan rekrutmen dari histone deasetilase HDAC3 ke elemen respons E2F dalam promotor PPARG1. Sebagai kemajuan preadiposit melalui ekspansi klonal, kelimpahan E2F4/p130 kompleks mereda, sementara kompleks E2F1/Rb muncul. Selain itu, penghambat kinase tergantung-siklik p27KIP mengalami penurunan regulasi (Patel dan Lane, 2000). Dengan demikian, memfasilitasi aktivasi cyclin D/Cdk4/6 yang berhubungan dengan fosforilasi

Rb dan yang menghasilkan pelepasan E2F1 ke menginduksi transkripsi PPARG1. Data ini menunjukkan fungsi untuk E2Fs dalam adipogenesis berkorelasi dengan serangkaian studi genetik yang dilakukan pada tikus. Tikus E2F12/2 memiliki kemampuan terbatas untuk mengakumulasi jaringan adiposa sebagai respons terhadap pemberian makan berlemak tinggi, sementara sel E2F42/2 ES berkontribusi lebih signifikan terhadap pengembangan jaringan adiposa dibandingkan jaringan lain dari tikus kimerik. Konsisten dengan model tikus, E2F12/2 MEFs memiliki kapasitas yang berkurang untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, sedangkan E2F4-defisien MEF dan sel ES mengekspresikan kapasitas yang ditingkatkan untuk diferensiasi. Selain itu, hilangnya gabungan protein saku utama E2F4-p107 dan p130 mengarah ke adipogenesis yang disempurnakan dalam MEF yang sesuai (Classon *et al.*, 2000), mendukung gagasan bahwa E2F4/p107 atau E2F4/p130 kompleks dan bukan E2F4 saja menekan PPARG1 transkripsi. Satu akan memprediksi bahwa kekurangan dalam Rb akan meningkatkan adipogenesis dengan memfasilitasi aktivitas E2F1. Namun, Rb2/2 MEFs memiliki kapasitas yang berkurang untuk diferensiasi menjadi adiposit putih (Classon *et al.*, 2000). Ini mungkin karena persyaratan Rb dalam memfasilitasi siklus keluar-sel serta kerjasama dengan C/EBPs untuk menginduksi ekspresi gen adipogenik. Tampaknya, bahwa E2F dan protein saku mengatur dua jalur terpisah, tetapi paralel yang menghasilkan aktivasi ekspresi PPARG1 dan PPARG2. Secara khusus, faktor-faktor seperti Rb yang menyalurkan melalui C/EBPb mengarah ke produksi PPARG2, sedangkan faktor-faktor yang mempromosikan aktivitas E2F1 mengarah ke ekspresi PPARG1 karena PPARG2 dan bukan PPARG1 dianggap sebagai pengontrol utama adipogenesis. Faktor-faktor seperti E2F yang menyatu pada PPARG1 perlu memiliki sarana untuk meningkatkan ekspresi PPARG2. Proses ini dapat difasilitasi melalui C/EBPa di mana PPARG1 menginduksi C/EBPa yang pada gilirannya menginduksi ekspresi PPARG2 (Liu *et al.*, 2006). Proses semacam itu dapat menjelaskan redundansi dalam mekanisme yang mengatur ekspresi PPARG2 pada tikus yang kekurangan C/EBPb dan C/EBPd (Tanaka *et al.*, 1997). Pada tikus ini, dapat dibayangkan bahwa sinyal dalam depot adiposa yang berkembang bertindak pada E2F untuk merangsang PPARG1, yang kemudian menginduksi C/EBPa diikuti oleh PPARG2 tanpa perlu ekspresi C/EBPb atau C/EBPd.



Gambar 11. Peran protein siklus sel dalam mengatur adipogenesis (Farmer, 2006).

4.3.3 Pengaturan Negatif Adipogenesis

Diferensiasi sel punca mesenkimal sepanjang garis keturunan tertentu diatur oleh induksi berbagai aktivator transkripsi dan penekanan inhibitor. Sangat mungkin bahwa keseimbangan halus dalam aktivitas efektor positif versus negatif menentukan apakah adipogenesis berlangsung dalam populasi tertentu sel progenitor. Konsep ini diilustrasikan dengan baik oleh studi MacDougald dan rekan yang menunjukkan bahwa aktivasi dari jalur sinyal Wnt menghambat diferensiasi sel punca mesenkimal menjadi adiposit (Ross *et al.*, 2000). Persinyalan Wnt tampaknya mendukung diferensiasi sel progenitor ke dalam tulang atau otot dibandingkan dengan adiposit (Bennett *et al.*, 2005). Wnts adalah keluarga besar ekstraseluler efektor yang disekresikan oleh banyak jenis sel yang berbeda dan memainkan peran yang menentukan selama perkembangan awal. Pengikatan berbagai Wnts ke reseptor berkerangka terkait dan protein terkait reseptor *low-density lipoprotein* (LDL) mengaktifkan persinyalan jalur yang mengubah ekspresi gen dan fungsi sel. Jalur kanonik

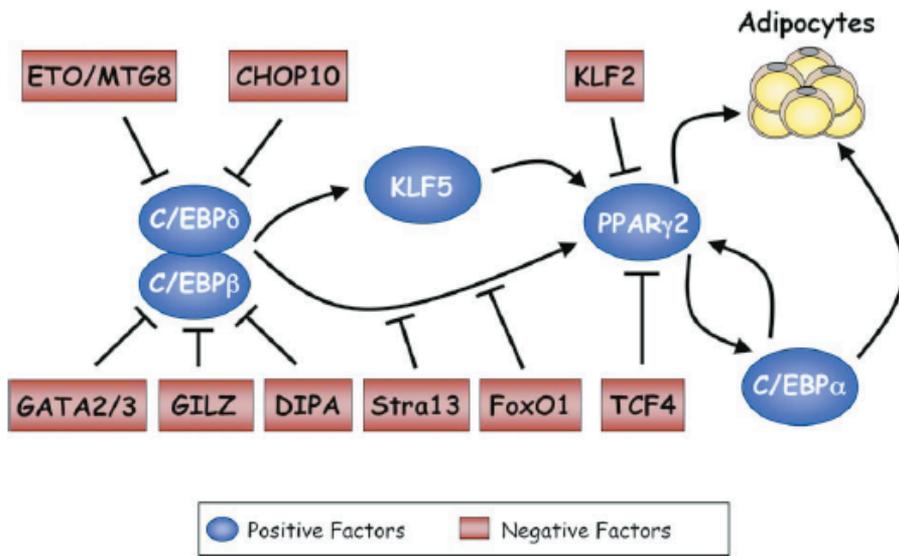
Wnt mengarah ke mobilisasi β -catenin ke dalam nukleus di mana ia mengkoaktivasi keluarga faktor transkripsi TCF/LEF. Paparan preadiposit ke Wnts atau ekspresi ektopik dari bentuk aktif konstitutif β -catenin menghambat adipogenesis dengan mencegah induksi PPARG dan C/EBPa (Moldes *et al.*, 2003; Ross *et al.*, 2000). Mekanisme yang tepat, yang terlibat tidak diketahui, tetapi kemungkinan melibatkan ekspresi gen target TCF/LEF sejak ekspresi TCF dominan-negatif (dnTCF) sebagian menyelamatkan efek penghambatan dari Wnt (Ross *et al.*, 2000). Selanjutnya, ekspresi dnTCF menyebabkan diferensiasi spontan preadiposit menunjukkan bahwa jalur persinyalan Wnt kanonik bertindak dalam sel progenitor untuk menekan adipogenesis. Kandidat yang menarik untuk inhibitor adipogenik yang diinduksi TCF adalah siklina D1 karena gennya adalah target langsung dari persinyalan Wnt yang telah ditunjukkan untuk memusnahkan PPARG aktivitas (Fu *et al.*, 2005a). Juga mungkin bahwa β -catenin berkontribusi terhadap penghambatan aktivitas PPARG melalui mekanisme selain yang melibatkan TCF/LEF (Liu dan Farmer, 2004; Liu *et al.*, 2006). Perlu dicatat bahwa penghapusan *conditional* dari β -catenin di mesenkim dari tikus yang berkembang menghasilkan suatu peralihan ke adipogenesis dalam miometrium (Arango *et al.*, 2005).

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa beberapa efektor melemahkan adipogenesis dengan mengorbankan aktivitas C/EBPb. Observasi ini tidak hanya mengidentifikasi keberadaan regulator negatif, tetapi juga mendukung peran C/EBPb dalam mengatur diferensiasi preadiposit. Serangkaian regulator negatif ini, termasuk GATA2/3, ETO/MTG8, CHOP10, GILZ, dan *Delta Interacting Protein A* (DIPA) diekspresikan dalam preadiposit serta ekspresinya diturunkan selama diferensiasi. Ekspresi ektopik dari masing-masing protein ini dalam preadiposit menghambat adipogenesis melalui antagonisme aktivitas C/EBPb dan mencegah induksi PPARG dan C/EBPa (Batchnarova *et al.*, 1995; Bezy *et al.*, 2005; Rochford *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2000, 2005). Perlu dicatat bahwa reseptor vitamin D yang diinduksi pada awal adipogenesis (Fu *et al.*, 2005b), memblokir diferensiasi preadiposit dengan menurunkan regulasi C/EBPb melalui mekanisme yang mungkin melibatkan induksi ETO/MTG8 (Blumberg *et al.*, 2006). Demikian pula, persinyalan yang dikenal untuk mengatur perkembangan vertebrata memainkan peran yang dilestarikan

dalam menghambat pembentukan lemak dengan menginduksi ekspresi GATA2. Selain itu, sinyal Notch memainkan peran penting dalam pengembangan awal dan target Notch Hes-1 memblokir adipogenesis oleh mekanisme yang mungkin melibatkan rekrutmen anggota dari keluarga Groucho/TLE dari korepresor. Peneliti lain telah berhipotesis bahwa ketegangan oksigen mungkin mengontrol fungsi jaringan adiposa dengan mengatur adipogenesis. Secara khusus, Yun *et al.*, (2002), telah menunjukkan bahwa hipoksia menghambat diferensiasi preadiposit melalui mekanisme yang melibatkan penindasan ekspresi PPAR γ oleh DEC1/Stra13. DEC1/Stra13 adalah anggota dari drosophila/*enhancer* dari keluarga represor transkripsi perpecahan yang diinduksi oleh *Hypoxia-Inducible Transcription Factor 1a* (HIF-1A) (Yun *et al.*, 2002). Stra13 juga diinduksi oleh asam retinoat (RA) (Boudjelal *et al.*, 1997). Akibatnya, mungkin juga mediator di mana RA menghambat adipogenesis (Schwarz *et al.*, 1997).

Sebagaimana dibahas di atas, insulin memiliki aktivitas proadipogenik yang signifikan sebagian dengan mempromosikan ekspresi SREBP1c. Studi yang dilakukan pada hewan serta dalam kultur sel menunjukkan bahwa insulin meningkatkan adipogenesis dengan menekan aktivitas penghambatan faktor transkripsi *forkhead* (FOXO1). Secara khusus, paparan preadiposit ke insulin menghasilkan fosforilasi yang tergantung pada AKT dari FOXO1 mencegah translokasi ke dalam nukleus dan penghambatan adipogenik ekspresi gen. Untuk mengidentifikasi mekanisme yang bertanggung jawab untuk aktivitas penghambatan ini, Accili dan rekan menunjukkan bahwa FOXO1 yang secara aktif yang tidak sensitif terhadap fosforilasi AKT menghambat diferensiasi preadiposit 3T3-F422A dengan menahan sel-sel dalam ekspansi klonal. Blok ini dalam perkembangan adipogenik mungkin karena induksi FOXO1 terkait inhibitor kinase *cyclin-dependent* p21CIP. Untuk mendukung fungsi penghambatan untuk FOXO1 di jaringan adiposa, studi tambahan menunjukkan bahwa FOXO1 haploinsufisiensi (FOXO1 +/2) melindungi terhadap resistansi insulin yang diinduksi diet dan diabetes dengan mencegah hipertrofi adiposit (Nakae *et al.*, 2003). Sangat menarik bahwa dua anggota tambahan dari keluarga *forkhead*,

FOXA2 dan FOXC2 juga melemahkan adipogenesis hulu PPARG (Davis *et al.*, 2004).



Gambar 12. Kontrol negatif adipogenesis (Farmer, 2006).

Penting untuk menyebutkan bahwa, sementara tiga anggota keluarga KLF bersifat proadipogenik (KLF5, KLF6, dan KLF15), setidaknya satu KLF bertindak sebagai penekan adipogenesis. Secara khusus, faktor KLF2/paru Kruppel banyak diekspresikan dalam jaringan adiposa di preadiposit dan ekspresinya mengalami penurunan regulasi selama adipogenesis. Ekspresi ektopik KLF2 dalam preadiposit menghambat transkripsi PPARG2 dengan mengikat elemen regulasi KLF di wilayah yang sama PPARG2 yang memfasilitasi aktivitas proadipogenik KLF5 (Banerjee *et al.*, 2003).

4.3.4 Peran Koregulator dalam Mengendalikan Faktor Transkripsi Adipogenik

Semua faktor transkripsi adipogenik yang dibahas di atas mengawali program yang sesuai dari ekspresi gen dengan mengikat ke elemen respons di gen target di mana mereka merekrut koaktivator yang tepat setelah disosiasi dari korepresor. Sebagian besar koregulator adipogenik ini

diekspresikan dan digunakan oleh faktor transkripsi lain dalam berbagai tipe sel. Akibatnya, selektivitas dalam mengaktifkan gen spesifik terutama ditentukan oleh interaksi dengan faktor transkripsi yang berlabuh pada elemen respons dalam promotor atau penambah dari gen target.



BAB

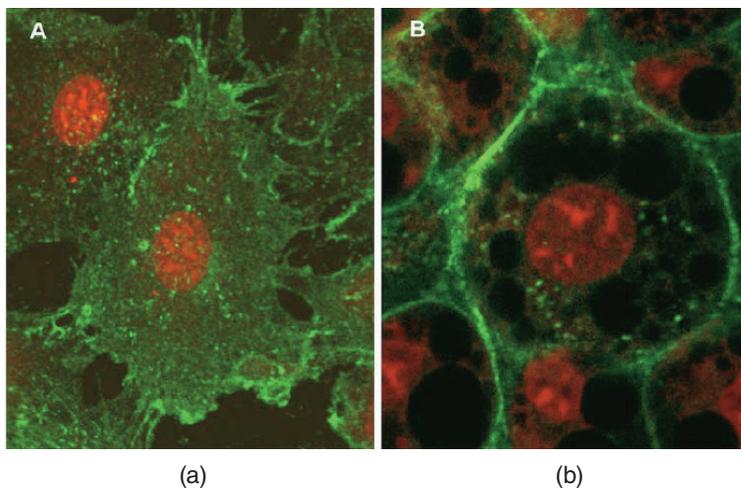
Komposisi Matriks Ekstraseluler Adiposit, Dinamika, dan Peran dalam Obesitas

Perkembangan global kelebihan berat badan dan obesitas dengan risiko berbagai komplikasi seperti diabetes mellitus tipe 2 dan gangguan kardiovaskular telah meningkatkan perhatian pada peran fisiologis dan metabolik jaringan adiposa. Fungsi utama jaringan adiposa sebagai berikut, 1) tempat penyimpanan energi; 2) regulator endokrin/parakrin metabolisme energi; 3) insulasi termal tubuh; 4) bantalan untuk melindungi organ tubuh dari benturan mekanis.

Berbagai fungsi tersebut berkaitan erat dengan struktur dan komposisi dari jaringan adiposa. Secara histologi, jaringan adiposa termasuk jaringan ikat kendur dan kolagen berkontribusi secara signifikan terhadap masa non-sel pada jaringan ini. Kolagen ini diproduksi oleh adiposit, tetapi sel-sel fraksi stroma vaskuler mengandung preadiposit, sel endotel kapiler, monosit/makrofag terinfiltrasi, dan populasi sel punca multipoten bisa juga berkontribusi. Telah ada laporan bahwa tiap adiposit dikelilingi matriks ekstraseluler tebal seperti lamina basalis yang mengandung kolagen tipe IV sebagai komponen utama (Pierleoni *et al.*, 1998). Karakteristik ini juga dimiliki oleh sel tulang keras dan kartilago. Hal ini tidak mengherankan, mengingat adiposit, osteoblas, dan kondrosit berasal dari mesenkim. Meskipun matriks ekstraseluler yang kuat memang merupakan entitas fungsional dari tulang keras dan kartilago, lamina basalis jaringan adiposa lebih memiliki peran bertahan hidup bagi sel adiposit. Adiposit matang manusia menyimpan trigliserida dalam tetesan lemak tunggal yang hampir mengisi keseluruhan isinya. Hanya sebuah lipid dengan lapisan tunggal yang mengelilingi diantara simpanan lemak dan sitosol, stress mekanik pada organel di dalamnya dapat dengan mudah menyebabkan kerusakan. Transfer stres mekanik dari luar ke dalam sel dapat dikurangi dengan rangka eksternal yang kuat. Rangka tersebut dihubungkan dengan lamina basalis adiposit saat mendapat stres mekanik dengan cara menyebarkan gaya yang diterima. Persyaratan spesifik matriks ekstraseluler untuk sel bertahan hidup mengindikasikan bahwa perkembangan preadiposit menjadi adiposit seharusnya ditemani perubahan spesifik dalam pembentukan matriks ekstraseluler.

5.1 KOMPOSISI PROTEIN MATRIKS EKSTRASELULER ADIPOSIT

Fungsi matriks ekstraseluler tergantung kerangka molekul pembentuknya, penting untuk mengetahui protein penyusun matriks ekstraseluler adiposit. Secara keseluruhan, matriks ekstraseluler adiposit tersusun dari beberapa protein yang sama seperti yang ditemukan di tipe sel lain. Ini merupakan kuantitas relatif di mana faktor-faktor tersebut digabungkan yang menentukan kekhususan sel dari ECM. Lebih lanjut, komposisi ini berkaitan dengan tahap perkembangan, viabilitas, dan sub tipe dari adiposit. Dua protein utama yang paling sering dipublikasikan sebagai acuan adalah proteoglikan dan protein *fibrous* (Nakajima *et al.*, 1998).



Gambar 13. Visualisasi matriks ekstraseluler dari preadiposit 3T3-L1 sitosol (Nakajima *et al.*, 1998).

Pada gambar 13, (a) adiposit (b) menggunakan pewarnaan imunohistokimia proteoglikan heparin sulfat: *hijau* proteoglikan heparin sulfat diwarnai dengan antibodi (epitope 10E4: Seigaku, Tokyo, Jepang); *merah* nukleus diwarnai dengan propidium iodida. Tetesan lemak *visible* sebagai vesikel gelap di

Studi terbaru mengenai komposisi protein matriks ekstraseluler sudah menggunakan teknik imunohistokimia dengan atau tanpa label protein. Pada metode ini, Aratani dan Kitagawa mendemonstrasikan keberadaan kolagen tipe IV, kompleks laminin, dan nidogen (*entactin*) dalam matriks ekstraseluler adiposit 3T3-L1 pada tikus. Pada diferensiasi preadiposit intramuskuler sapi *Bovine Intramuscular Pre-adipocyte* (BIP), Nakajima dan rekan-rekannya menunjukkan keberadaan kolagen tipe IV, laminin, dan fibronektin di mana berdasarkan pewarnaan, kolagen tipe II juga ditemukan dalam kadar yang sangat rendah. Dengan munculnya teknik proteomik, beberapa studi tentang sekretom adiposit telah dilakukan. Dari studi tersebut, didapatkan komposisi protein dari matriks ekstraseluler adiposit.

Tabel 1. Daftar protein utama yang menjadi bagian dari matriks ekstraseluler adiposit dengan bukti hasil studi proteomik.

Gen	Simbol	Human visceral/omental adipose	Human sub-cutaneous adipose-derived cells	Mouse 3T3-L1/F442A adipocytes	Mouse 3T3-L1 adiposomes	Rat WAT primary adipocytes
<i>Agrecan</i> 1	ACAN					■
<i>Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein</i> (HSPG) (<i>perlecan</i>)	HSPG2	■			■	■
<i>Betaglycan</i> (transforming growth factor beta receptor III)	TGFBR3			■		■
<i>Biglycan</i>	BGN			■		
<i>Calreticulin</i>	CALR	■	■	■		
<i>Cartilage intermediate layer protein</i>	CILP1					■

Gen	Simbol	Human visceral/ omental adipose	Human sub-cutaneous adipose-derived cells	Mouse 3T3-L1/ F442A adipocytes	Mouse 3T3-L1 adiposomes	Rat WAT primary adipocytes
<i>Chitinase-3-like protein 1</i>	CHI3I1	■				■
<i>Chondroitin sulfate proteoglycan 4 (NG2 proteoglycan)</i>	CSPG4					■
<i>Coiled coil domain containing protein 80</i>	CCDC80	■				
<i>Collagen α1(I) chain</i>	COL1A1	■	■	■	■	
<i>Collagen α 2(I) chain</i>	COL1A2	■		■	■	
<i>Collagen α 1(II) chain</i>	COL2A1					■
<i>Collagen α 1(III) chain</i>	COL3A1	■		■		
<i>Collagen α 1(IV) chain</i>	COL4A1			■		■
<i>Collagen α 2(IV) chain</i>	COL4A2	■		■		■
<i>Collagen α 3(IV) chain</i>	COL4A3					■
<i>Collagen α 5(IV) chain</i>	COL4A5			■		
<i>Collagen α 1(V) chain</i>	COL5A1	■		■		
<i>Collagen α 2(V) chain</i>	COL5A2					■
<i>Collagen α 3(V) chain</i>	COL5A3			■		■
<i>Collagen α 1(VI) chain</i>	COL6A1	■		■	■	
<i>Collagen α 2(VI) chain</i>	COL6A2	■		■	■	
<i>Collagen α 3(VI) chain</i>	COL6A3	■		■	■	

Gen	Simbol	Human visceral/ omental adipose	Human sub-cu- taneous adipose- derived cells	Mouse 3T3-L1/ F442A adipo- cytes	Mouse 3T3-L1 adipo- somes	Rat WAT primary adipo- cytes
<i>Collagen α 1(XI) chain</i>	COL11A1					■
<i>Collagen α 1(XII) chain</i>	COL12A1	■				■
<i>Collagen α 1(XIV) chain (undulin)</i>	COL14A1	■				■
<i>Collagen α 1(XV) chain</i>	COL15A1	■		■		■
<i>Collagen α 1(XVIII) chain</i>	COL18A1	■				■
<i>Collagen α 1(XXIII) chain</i>	COL23A1					■
<i>Connective tissue growth factor</i>	CTGF					■
<i>Decorin (bone proteoglycan II)</i>	DCN	■		■		
<i>Dermatopontin (tyrosine-rich acidic matrix protein; early quiescence protein 1)</i>	DPT	■	■	■	■	■
<i>Dystroglycan 1</i>	DAG1			■		
<i>Extracellular matrix protein 1</i>	ECM1			■		
<i>Elastin microfibril interface-located protein 1</i>	EMILIN1	■				■
<i>Fibrillin 1</i>	FBN1					■
<i>Fibromodulin</i>	FMOD					■
<i>Fibronectin (FN) (cold-insoluble globulin)</i>	FN1	■		■	■	
<i>Fibulin-1</i>	FBLN1	■				■
<i>Fibulin-2</i>	FBLN2				■	■

Gen	Simbol	Human visceral/ omental adipose	Human sub-cutaneous adipose-derived cells	Mouse 3T3-L1/ F442A adipocytes	Mouse 3T3-L1 adiposomes	Rat WAT primary adipocytes
<i>Fibulin-3 (EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1)</i>	FBLN3	■				■
<i>Fibulin-4 (EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2)</i>	EFEMP2			■		
<i>Fibulin-5 (developmental arteries and neural crest EGF-like protein)</i>	FBLN5	■				■
<i>Galectin-1</i>	LGALS1	■				
<i>Galectin-3-binding protein (lectin galactoside-binding soluble 3-binding protein)</i>	LGALS3BP	■				
<i>Glypican 1</i>	GPC1	■				■
<i>Laminin a-2 chain</i>	LAMA2					■
<i>Laminin a-4 chain</i>	LAMA4	■		■	■	■
<i>Laminin b-1 chain</i>	LAMB1	■		■		■
<i>Laminin b-2 chain</i>	LAMB2	■				■
<i>Laminin c-1 chain</i>	LAMC1	■		■		■
<i>Lumican (keratan sulfate proteoglycan lumican)</i>	LUM	■		■		
<i>Matrilin-2</i>	MATN2	■				

Gen	Simbol	Human visceral/ omental adipose	Human sub-cu- taneous adipose- derived cells	Mouse 3T3-L1/ F442A adipo- cytes	Mouse 3T3-L1 adipo- somes	Rat WAT primary adipo- cytes
<i>Microfibril-associated glycoprotein 4</i>	MFAP4	■				
<i>Mimecan (osteoglycin)</i>	OGN	■		■		
Nidogen 1 (entaktin)	NID1	■		■		■
Nidogen 2 (osteonidogen)	NID2	■		■	■	
<i>Periostin</i>	POSTN	■		■		
<i>Proline arginine rich end leucine-rich repeat protein (prolargin)</i>	PRELP					■
<i>Proteoglycan 4</i>	PRG4	■				
SPARC (<i>osteonectin</i>)	SPARC	■	■	■	■	■
SPARC-like protein 1	SPARCL1			■		
<i>Spondin-1 (F-spondin) (vascular smooth muscle cell growth-promoting factor)</i>	SPON1	■				■
<i>Spondin-2 (mindin)</i>	SPON2	■				
<i>Tenascin-C (TN) (hexabrachion) (cytotactin) (neuronectin) (GMEM)</i>	TNC	■				
<i>Tenascin-N</i>	TNN					■
<i>Tenascin-X</i>	TNXB	■			■	
<i>Thrombospon- din-1</i>	THBS1	■				■
<i>Thrombospon- din-2</i>	THBS2	■		■		

Gen	Simbol	Human visceral/ omental adipose	Human sub-cutaneous adipose-derived cells	Mouse 3T3-L1/ F442A adipocytes	Mouse 3T3-L1 adiposomes	Rat WAT primary adipocytes
<i>Transforming growth factor-β-induced protein 1G-H3 (bIG-H3)</i>	TGFB1	■				
<i>Versican core protein (large fibroblast proteoglycan)</i>	CSPG2	■		■		
<i>Versican V3 isoform</i>	VCAN					■

■ Protein core yang menjadi bagian dari matriks ekstraseluler dengan bukti pada penelitian proteomik (Sumber: Edwin *et al.*, 2010.)

Protein yang disajikan dalam tabel dapat dibedakan menjadi dua garis besar, yakni protein sekresi atau protein membran dengan beberapa diantaranya bisa berinteraksi dengan matriks ekstraseluler. Meskipun ada beberapa studi susunan mikro pada adiposit, di sini hanya akan berfokus pada data dari studi proteomik untuk mencegah kemungkinan tumpang-tindih antara tingkat mRNA dan protein. Semuanya, 20 subunit dari 12 tipe kolagen berbeda sudah dapat diidentifikasi dari sel hewan pengerat di mana beberapa subunit seperti kolagen tipe II, XI, dan XXII tidak ditemukan di adiposit viseral manusia. Ini bisa saja mengindikasikan adanya perbedaan karakteristik simpanan lemak di spesies yang berbeda. Bagaimanapun juga, kegagalan untuk mendeteksi suatu protein tidak bisa dijadikan bukti jika protein tertentu tidak ada keberadaannya karena peluang untuk mendeteksi protein tergantung pada karakteristik biokimia protein, kondisi percobaan, dan kelihaihan pengerjaan teknik proteomik (Wang *et al.*, 2009).

Dibanding komponen matriks ekstraseluler yang lain, kolagen tipe VI tampaknya lebih spesifik untuk adiposit. Kolagen tipe VI ini sangat banyak ditemukan pada adiposit dan terbukti berkontribusi dalam patologi penyakit terkait obesitas (Iyengar *et al.*, 2005). Keberadaan ketiga

subunit ini, $\alpha 1(\text{VI})$, $\alpha 2(\text{VI})$, dan $\alpha 3(\text{VI})$ diperlukan untuk pembentukan kolagen VI yang stabil. Dengan menggunakan sistem ragi dua hibrida, kolagen tipe VI ternyata mampu mengikat dengan kuat pada kolagen tipe IV suatu komponen penting dasar membran. Kedua kolagen tersebut diklasifikasikan sebagai tipe non-*fibrous* dan interaksi keduanya menghubungkan dasar membran ke sel. Kolagen tipe VI juga berinteraksi matriks protein yang lain seperti proteoglikan dan fibronektin. Satu studi telah dilaporkan mengenai komposisi adiposum dari sel tikus 3T3-L1 bahwa vesikel adiposit juga turut berperan dalam fungsi endokrin untuk menyekresikan adipokin (Aoki *et al.*, 2007). Protein matriks ekstraseluler bisa menjadi bagian dari vesikel tersebut sebagai kontaminan selama transportasi atau persiapan penelitian. Di lain pihak, keberadaan kolagen bisa saja bersifat alamiah, karena prokolagen dikemas sedemikian rupa dalam vesikel dan disekresikan ke dalam ruangan di ekstraseluler. Perlu diingat, hanya kolagen tipe I dan VI yang telah dideteksi keberadaannya dalam adiposum.

5.1.1 Perkembangan Matriks Ekstraseluler Bifasik Selama Adipogenesis

Perkembangan dinamik protein matriks ekstraseluler telah dilakukan studi *in vitro* menggunakan diferensiasi preadiposit tikus 3T3-L1. Aratani dan Kitagawa menemukan *strong up-regulation* kolagen tipe IV, nidogen-1 (entaktin), dan berbagai kompleks laminin selama beberapa hari pertama dalam 6 hari periode diferensiasi yang mengindikasikan adanya transisi dari *fibrous* menjadi laminar.

Banyak studi pada sekretom adiposit selama adipogenesis juga memberikan informasi penting terkait komponen matriks ekstraseluler. Notabene, media kultur sel *in vitro* mengandung tidak hanya komponen matriks ekstraseluler utuh atau yang terlepas, tetapi juga hasil proses dan degradasi produk dari matriks ekstraseluler. Untuk itu, jumlah protein ekstraseluler dalam sekretom bisa merefleksikan baik sintesis dan degradasi. Dilihat dari berbagai studi, adanya perbedaan pola dari ekspresi berbagai kolagen yang telah dideteksi pada medium selama 12 hari periode diferensiasi dan pertumbuhan sel 3T3-L1. Pada fase awal

diferensiasi, terjadi penurunan jumlah kolagen tipe I dan III di mana pada akhir fase jumlah keduanya kembali sama saat hari ke 0. Pola yang sama juga ditemukan pada peptida terminal-C kolagen. Paralel dengan hal ini (penurunan kolagen *fibrous*), peningkatan viabilitas sel untuk terlepas dari bagian kultur telah diobservasi sekitar hari keempat. Pola yang berlawanan terlihat pada kolagen tipe VI. Mereka awalnya mengalami peningkatan dan akhirnya menurun, tetapi pada kadar yang tinggi dibanding hari ke 0. Kolagen tipe IV, kolagen utama lamina basalis, dan kolagen tipe V meningkat secara bertahap selama diferensiasi.

Dalam studi yang dilakukan Molina dengan 7 hari periode diferensiasi sel 3T3-L1, protein yang disekresikan sebagian besar mengalami *down regulation* pada hari pertama. Akan tetapi, kebanyakan komponen matriks berada pada kisaran dasar di hari pertama dan memuncak kadarnya di hari ketiga termasuk laminin, nidogen, *biglycan*, *lumican*, SPARC, dan EMILIN1. Sesuai dengan observasi yang telah dilakukan, pola yang sama juga ditemukan untuk komponen kolagen tipe VI. Konstruksinya, kolagen IV subunit COL4A2 menunjukkan pola puncak yang sama dengan kolagen lain yang berakhir pada 50% dari tingkat basal pada hari ke 7.

Berbagai variasi hasil dari banyak studi yang sudah dijelaskan mungkin berasal dari perbedaan metode persiapan protein dan proses kuantifikasi data. Demi menjaga pola bifasik sintesis kolagen selama diferensiasi preadiposit tikus, Nakajima dan timnya melaporkan perubahan bentuk matriks kolagen tipe V dan VI menggunakan pewarnaan imunohistokimia pada sel BIP dengan jalinan matriks ekstraseluler yang jelas pada hari ke 4 dan 10 diferensiasi. Bisa disimpulkan bahwa pada hari pertama setelah induksi adipogenesis, dinamika matriks ekstraseluler mencapai salah satu tingkat tertingginya diikuti peningkatan produksi komponen lamina basalis. Sejalan dengan produksi bifasik komponen matriks ekstraseluler, dua fase adipogenesis tampaknya pada fase awal komitmen, diferensiasi, dan fase berurutan dari pertumbuhan sel dicirikan dengan penyimpanan lemak dalam jumlah besar.

Saat tahun 1974, Green dan Meuth melaporkan seleksi jalur sel 3T3-L1 dari embrio tikus Swiss. Mereka mengukur hidrosilasi prolina dan dari hasil tersebut dilakukan perhitungan sintesis kolagen berlebih. Tingginya kadar sintesis kolagen mengonfirmasi asal fibroblas dari sel tersebut.

Selama penilaian ini, perbandingan menarik dihasilkan antara 3T3-L1 dan kloning lainnya, 3T3-M2. Hal yang terakhir adalah tidak menyimpan lemak dan pada saat yang sama memiliki tingkat hidrosilasi prolina 50% lebih rendah. Hal ini meningkatkan tanda tanya, apakah sintesis kolagen merupakan prasyarat untuk diferensiasi dan penyimpanan lemak?

Penggunaan *Ethyl-3,4-Dihydroxybenzoate* (EDHB) sebagai inhibitor spesifik sintesis kolagen ditunjukkan bahwa pada sel TA1, preadiposit berasal dari sel embrio tikus 10T1/2, diferensiasi dan akumulasi trigliserida diblok dalam dosis tertentu. Efek ini hanya didapatkan ketika EDHB ditambahkan ke adiposit, tetapi tidak ketika sel sudah mengalami diferensiasi. Hal ini menunjukkan bahwa sintesis kolagen bisa menyediakan tujuan berbeda selama tahap awal dan akhir perkembangan adiposit. Sintesis kolagen awal tampaknya merupakan persyaratan permisif untuk permulaan diferensiasi, sedangkan sintesis kolagen akhir mungkin lebih terkait dengan fungsi spesifik adiposit dan jaringan adiposa seperti memberikan stabilitas pada sel-sel yang menyimpan lemak. Persyaratan sintesis kolagen untuk diferensiasi sel mungkin menjadi fenomena umum dan tidak terbatas pada preadiposit.

Begitu juga pada sel BIP, keduanya baik sintesis kolagen dan akumulasi trigliserida dapat dihambat pada dosis tertentu oleh EDHB. Akan tetapi, tidak dilakukan pengamatan di tiap tahapannya. Melihat secara rinci pada kolagen tipe I–IV, sintesis semua kolagen, kecuali kolagen tipe III secara signifikan dipengaruhi dengan kebanyakan efek yang terjadi pada kolagen tipe IV–VI. Menariknya, berdasarkan pengukuran akumulasi trigliserida, efek hambatan EDHB pada sel BIP dapat cadangan dengan kultur sel EDHB dilapisi kolagen tipe V atau VI. Hal ini mengindikasikan bahwa sebagian sintesis kolagen tipe V dan VI penting untuk mengawali diferensiasi adiposit dan penyimpanan trigliserida yang tergantung pada kolagen.

5.2 PEMELIHARAAN MATRIKS EKSTRASELULER ADIPOSIT

Pentingnya ECM untuk fungsi dan kelangsungan hidup adiposit ditunjukkan ketika kita menyelidiki protein-dinamika dalam adiposit 3T3-L1 yang matang tanpa pembelahan dengan pelabelan protein isotop stabil

(Bouwman *et al.*, 2004). Di antara jumlah terbatas protein yang diperiksa dalam penelitian ini, ada empat komponen, yaitu ECM, COL1A1, COL1A2, dan *calreticulin*. Kedua kolagen menunjukkan tingkat pelabelan tertinggi di antara semua protein yang diteliti. Terlebih lagi, nilai tukar isomer yang dihitung untuk COL1A1 dan COL1A2 adalah 2:1, tepatnya rasio yang membentuk serat tripleks kolagen tipe I yang menunjukkan bahwa sintesis dari subunit kolagen I dikoordinasikan. Lebih rendah, tetapi masih cukup, pelabelan terlihat untuk *calreticulin* dan protein enzim pemrosesan ECM disulfida isomerase (PDIA1 dan PDIA3). Apa yang bisa dipelajari dari ini adalah bahwa ada omset konstan dari ECM adiposit dalam sel matang. Rupanya adiposit menghabiskan banyak perhatian dan banyak energi metabolisme pada pemeliharaan ECM. Perlu diingat bahwa sintesis kolagen yang tinggi mungkin merupakan efek dari kultur sel dua dimensi dan tidak secara akurat mencerminkan situasi *in vivo*.

5.3 DINAMIKA ECM: PERAN UNTUK PEMROSESAN PROTEIN ECM ENZIM

Tingkat penggantian kolagen yang relatif tinggi pada adiposit dewasa menunjukkan bahwa ECM berada di bawah *turnover* konstan yang dimediasi oleh enzim yang mempromosikan konstruksi ECM dan enzim yang terlibat dalam degradasi. Dengan demikian, untuk adiposit matang harus ada keseimbangan antara proses tersebut, sedangkan selama diferensiasi preadiposit, keseimbangan ini bergeser ke arah faktor-faktor konstruktif. Pada Tabel 2, enzim pengolah terdaftar yang telah terdeteksi pada tingkat protein. Enzim konstruktif jatuh ke dalam dua kelas, yaitu intraseluler enzim yang terlibat dalam pemrosesan prekursor protein ECM dan inhibitor ekstraseluler dari enzim (Christiaens *et al.*, 2008).

Pematangan intraseluler protein ECM yang baru disintesis terjadi di ER. Di sana, protein mengalami modifikasi biokimia *Sidechains* asam amino. Protein ECM kemudian mengalami pemrosesan oleh pembelahan proteolitik sebelum mereka dirakit ke dalam jaringan ECM. Untuk subunit kolagen, ini dapat melibatkan prolina, *lysine-hydroxylation*, glikosilasi, serta pengangkatan peptida N-terminal dan C-terminal oleh prokolagen-N- dan -C-kolagenase masing-masing. Setelah diproses, protein dirakit

sendiri menjadi monomer tergantung pada jenis kolagen dan kemudian disekresikan. Percobaan telah menunjukkan betapa pentingnya peran enzim intraseluler (Ibrahimi *et al.*, 1992) menunjukkan efek penghambatan EDHB pada sintesis protein kolagen, tetapi pada saat yang sama melaporkan bahwa pemberian dini EDHB tidak memengaruhi tingkat mRNA kolagen 6A2. Lebih lanjut, Nakajima dkk menunjukkan bahwa EDHB menghambat perakitan subunit ke dalam molekul kolagen yang sesuai dengan EDHB yang memengaruhi proses pembentukan kolagen pasca-transkripsi (Nakajima *et al.*, 1998). EDHB adalah analog struktural askorbat dan asam α -ketoglutarat (asam 2-oksoglutarat) yang keduanya merupakan kofaktor penting dari enzim prolil hidroksilase (P4HA1). Rupanya, aktivitas enzim ini sangat penting untuk pembentukan kolagen dan diferensiasi preadiposit. Khususnya, EDHB tidak spesifik untuk enzim khusus ini, tetapi merupakan inhibitor untuk seluruh keluarga prolil hidroksilase (PH) (Wright *et al.*, 2003).

Tabel 2. Enzim pada protein matriks ekstraseluler.

Gen	Simbol	UniProtKB accession	Lokasi
<i>A desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 1</i>	ADAMTS1	Q9UHI8	Sec, ECM
<i>A desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 4</i>	ADAMTS4	O75173	Sec, ECM
<i>A desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5</i>	ADAMTS5	Q9UNA0	Sec, ECM
<i>Colligin (collagen-binding protein)</i>	SERPINH1	P50454	ER
<i>Contrapsin-like protease inhibitor 6</i>	SERPINA3N	P09006	Sec
<i>Matrix metalloproteinase-1</i>	MMP1	P03956	Sec, ECM
<i>Matrix metalloproteinase-2</i>	MMP2	P08253	Sec, ECM
<i>Matrix metalloproteinase-9</i>	MMP9	P14780	Sec, ECM
<i>Matrix metalloproteinase-10</i>	MMP10	P09238	Sec, ECM
<i>Matrix metalloproteinase 14; membrane-type-1 matrix metalloproteinase</i>	MMP14; MT1-MMP	P50281	ECM, cell membrane
<i>Matrix metalloproteinase-19</i>	MMP19	Q99542	Sec, ECM
<i>Metalloproteinase inhibitor 1</i>	TIMP1	P01033	Sec, ECM

Gen	Simbol	UniProtKB accession	Lokasi
<i>Metalloproteinase inhibitor 2</i>	TIMP2	P16035	Sec
<i>Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A (siklofilin A)</i>	PPIA	P62937	Cyt
<i>Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B (siklofilin B)</i>	PPIB	P23284	ER
<i>Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (FK506-binding protein 9)</i>	FKBP9	O95302	ER
<i>Plasminogen activator inhibitor 1</i>	SERPINE1	P05121	Sec
<i>Procollagen C-proteinase (bone morphogenic protein 1)</i>	BMP1	P13497	Sec
<i>Procollagen C-proteinase enhancer protein</i>	PCOLCE	Q15113	Sec
<i>Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1</i>	PLOD1	Q02809	ER, cell membrane
<i>Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2</i>	PLOD2	O00469	ER, cell membrane
<i>Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3</i>	PLOD3	O60568	ER, cell membrane
<i>Prolyl 4-hydroxylase, alpha subunit</i>	P4HA1	P13674	ER
Protein-disulfide isomerase	P4HB	P07237	ER, cell membrane
Protein-disulfida isomerase A3	PDIA3	P30101	ER
Protein-disulfida isomerase A4	PDIA4	P13667	ER
Protein-disulfida isomerase A6	PDIA6	Q15084	ER
Protein-lisina 6-oksidade	LOX	P28300	Sec
<i>Lysyl-oxidase homologue 1</i>	LOXL1	Q08397	Sec
<i>Transforming growth factor beta induced protein ig-h3</i>	TGFBI	Q15582	Sec, ECM
<i>Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor (vaspin)</i>	SERPINA12	Q8IW75	Sec

Sec: Secreted, ECM: extracellular matrix, ER: endoplasmic reticulum, Cyt: Cytosol (Sumber: Edwin et al., 2010.)

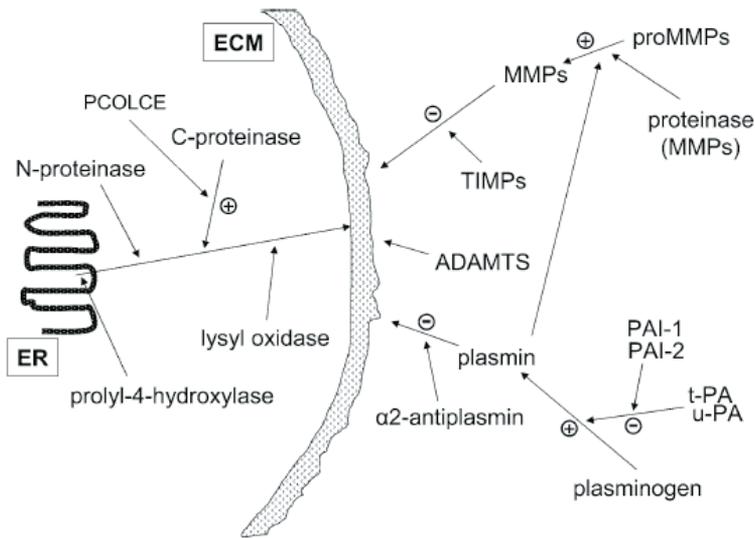
Pengolahan prokolagen ekstraseluler melibatkan pemutusan kedua peptida N-terminal dan C-terminal (Prockop *et al.*, 1998). Prokolagen I/II enzim pengolahan propeptida amino (ADAMTS-2) memotong propeptida N-terminal dari subunit kolagen I dan II, yaitu COL1A1, COL1A2, dan COL2A1. Pembelahan terjadi setelah perakitan dua rantai 1A1-dan satu 1A2 ke dalam monomer tipe kolagen I sebelum monomer tersebut melakukan

multimerisasi menjadi fibril. Proses ini membutuhkan konformasi asli dari prokolagen di mana N-terminus dapat mengadopsi struktur jepit rambut. Selama reaksi, zat antara terbentuk yang telah kehilangan N-propeptida dari satu rantai 1A1 dan dari rantai 1A2, tetapi masih mengandung propeptida pada rantai 1A1 lainnya. Perubahan konformasi dalam N-terminus dicurigai terlibat dalam penentuan pembelahan sekuensial yang ditentukan dari propeptida. Mutasi pada ADAMTS-2 dapat menimbulkan sindrom Ehlers-Danlos tipe VIIC pada manusia, suatu defek dari kartilago. Aktivitas *propping propylene amino* juga telah diamati untuk anggota keluarga gen ADAMTS-2. ADAMTS-3 dapat memproses prokolagen II, tetapi bukan prokolagen I. Kedua N-proteinase tidak memiliki aktivitas untuk memproses kolagen III. Aktivitas pemrosesan kolagen I juga telah diamati untuk ADAMTS-14.

Pembentukan fibril kolagen juga mengharuskan peptida C-terminal dikeluarkan dari subunit oleh pembelahan proteolitik. Untuk kolagen I-III ini dilakukan oleh enzim prokolagen-C-proteinase juga disebut sebagai mamalia *tolloid protein* atau *Bone Morphogenetic Protein 1 (BMP1)*. Berbeda dengan ADAMTS-2, konformasi kolagen asli bukan merupakan prasyarat untuk memproses C-terminus. Selain kolagen, enzim ini memproses prekursor laminin 5 dan *biglycan* serta enzim pengubah LOX. Melalui *splicing* alternatif, berbagai isoform dari C-proteinase dapat dibentuk (Prockop *et al.*, 1998).

Plasmin adalah komponen aktif dari sistem fibrinolitik. Ia mampu membelah tidak hanya fibrin dan *Von Willebrand* tetapi juga beberapa komponen ECM adiposit, yaitu fibronektin, trombospondin, dan laminin. Aktivitas plasmin diatur oleh beberapa protein lain termasuk tipe urokinase (u-PA), aktivator plasminogen tipe jaringan (t-PA), dan inhibitor aktivator plasminogen (PAI). Efek dari sistem fibrinolitik pada jaringan adiposa telah dipelajari pada tikus dengan menghapuskan atau mengekspresikan berlebih overekspresi salah satu gen tersebut, tetapi sulit untuk menyesuaikan semua pengamatan menjadi model efek yang seragam. Berbagai temuan menunjukkan bahwa sistem ini memengaruhi angiogenesis daripada memengaruhi secara langsung remodeling dan adipogenesis ECM. Aliran darah yang cukup oleh angiogenesis membantu pembentukan jaringan adiposa. Namun, PAI-1 tampaknya mampu

mencegah degradasi ECM. Penghambatan farmakologis PAI-1 dalam studi yang berbeda dengan tikus pada diet tinggi lemak menyebabkan berkurangnya berat badan, berat depot lemak, dan volume adiposit (Crandall *et al.*, 2006). Di sini, kepadatan pembuluh darah yang lebih tinggi di jaringan adiposa diamati, tetapi ini mungkin merupakan konsekuensi dari pengurangan volume bantalan lemak.



Gambar 14. Gambaran dari beberapa protein yang terlibat dalam kontrol pemeliharaan dan penggantian dari adiposit ECM (Crandall *et al.*, 2006).

Lebih dari 20 anggota keluarga MMP yang berbeda telah diidentifikasi. Meskipun MMPs secara kolektif menurunkan protein ECM, menurut *data base* UniProt di sana beberapa bentuk spesifisitas substrat mengubah ekspresi MMP pada tikus dapat memengaruhi adipositas. Inaktivasi MMP3 pada diet tinggi lemak menghasilkan peningkatan perkembangan jaringan adiposa dengan hiperplastik serta respons hipertrofik. Pengamatan serupa dilakukan setelah inaktivasi MMP9 dan MMP11 (Lijnen *et al.*, 2006). Pengamatan kontras telah dilakukan dengan penghambatan farmakologi MMPs pada tikus dengan diet tinggi lemak. Ko-penghambatan MMPs 2, 9, dan 14 tidak memengaruhi pengembangan jaringan adiposa, sedangkan penghambatan umum aktivitas MMP menyebabkan penurunan berat

jaringan adiposa. Hasil yang kadang kontroversial ini mencerminkan kompleksitas aktivitas MMP yang bergantung pada konsentrasi relatif MMP berbeda, spesifisitas substratnya, aktivitas inhibitorynya, inhibitor jaringan metaloprotease (TIMP), dan beberapa lainnya (Hida *et al.*, 2005).

Tidak ada informasi yang dapat diperoleh dari *data base* UniProt tentang MMP yang memiliki kolagen VI sebagai substrat, tetapi penyelidikan terbaru telah memberikan informasi mengenai studi ini tentang kanker payudara telah menunjukkan bahwa adiposit dapat mendukung sel kanker. Dalam konteks ini, peran untuk kolagen VI telah dikemukakan dan juga diamati bahwa MMP11 berhubungan dengan invasi tumor dan prognosis yang buruk. Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa COL6A3 adalah substrat MMP11. Selain itu, MMP11 tampaknya menjadi pengatur negatif adipogenesis yang kuat sejalan dengan pengamatan yang disebutkan di atas pada tikus defisien MMP11 (Andarawewa *et al.*, 2005).

Semua MMP disekresikan sebagai zimogen yang tidak aktif dan perlu pembelahan proteolitik agar diaktifkan oleh MMP atau plasmin lainnya. MMP yang paling sering dilaporkan dalam penelitian proteomik adalah MMP2 yang membelah komponen kolagen lamina basal IV. MMP2 serta MMP13 (kolagenase 3) diaktifkan oleh MMP14 (MT1-MMP). Chun *et al.* mengamati bahwa adiposit dari MT1-MMP *null-mice* memiliki diameter 109- lebih kecil daripada adiposit *wild-type*. Preadiposit *knock-out* mampu membedakan pada antarmuka planar, tetapi ketika berbudaya dalam matriks 3D fibril kolagen gagal untuk membedakan dan tidak mengakumulasi trigliserida. Kesimpulannya bahwa MT1-MMP diperlukan untuk modulasi kolagen *pericellular* kaku untuk memungkinkan preadiposit tumbuh keluar dari stroma. Pengamatan pada sel otot polos pembuluh darah menunjukkan bahwa aktivitas MT1-MMP juga dapat langsung merombak matriks dengan sendirinya (Filippov *et al.*, 2005).

Empat TIMP telah terdeteksi hingga sekarang. Seperti pemain *counter* mereka, MMP, TIMPs diatur selama adipogenesis. Sehubungan dengan pengembangan jaringan adiposa, TIMP1 telah dipelajari. Sebuah laporan baru-baru ini menunjukkan bahwa di luar remodeling ECM jaringan adiposa langsung, TIMP1 mungkin memiliki efek pada pengembangan jaringan adiposa dengan bertindak di hipotalamus untuk mengatur asupan makanan. Menariknya, TIMP4 secara khusus dinyatakan dalam jaringan

adiposa dan adiposit di manusia menurut analisis ekspresi gen seluruh jaringan dari UniGene dan GNF Gene Atlas. Namun, sedikit yang diketahui tentangnya berfungsi untuk remodeling ECM dan pengembangan jaringan adiposa. Secara keseluruhan, tampaknya keseimbangan antara TIMPs dan MMPs atau rasionya lebih relevan daripada aktivitas masing-masing kelompok (Melendez *et al.*, 2008).

Sebuah subfamili metalloprotease adalah *A Desintegrin and Metalloproteinase* dengan motif trombospondin (keluarga ADAMTS). Anggota keluarga ini telah ditemukan memiliki aktivitas N-proteinase seperti yang disebutkan di atas, tetapi anggota lain juga dapat memengaruhi perkembangan jaringan adiposa. Di tikus, ekspresi ADAMTS-1, -4, -5, dan -8 telah ditunjukkan dalam jaringan adiposa dan tingkat ekspresi berubah selama perkembangan diet yang disebabkan oleh obesitas. Ekspresi ADAMTS-1 tampaknya tertinggi di fraksi vaskular stroma sejalan dengan peran dalam langkah awal diferensiasi preadiposit oleh degradasi *aggrecan*, kondroitin sulfat atau keratan sulfat proteoglikan.

5.4 PERATURAN DINAMIKA ECM

5.4.1 Regulasi ECM dan insulin

Beberapa tahun yang lalu, kami mempelajari pengaruh insulin pada sekreta dari adiposit 3T3-L1 yang matang. Insulin menginduksi peningkatan yang jelas dari bentuk dewasa COL1A1, dari fragmen COL5A1 dan peptida C-terminal dari COL1A1, COL1A2, dan COL3A1. Perbandingan dengan data transkriptomik menunjukkan bahwa insulin tidak meregulasi transkripsi gen-gen tersebut. Disimpulkan bahwa insulin bertindak pada tingkat pemrosesan dan sekresi pasca-transkripsional. Sesuai dengan ini, hal yang dapat diamati ialah peningkatan kelimpahan relatif PCOLCE, protein penambah endopeptidase prokolagen C yang dapat mengaktifkan C-endopeptidase sebesar 20 kali lipat. Hebatnya, kami mengamati peningkatan regulasi yang signifikan dari tingkat mRNA untuk berbagai enzim pemrosesan protein matriks termasuk sulfatase 2, PH, dan kecenderungan untuk peningkatan mRNA untuk PCOLCE. Secara keseluruhan, data kami menunjukkan bahwa insulin meregulasi

transkripsi gen untuk memodifikasi protein dan memproses enzim dengan cara menstimulasi pembentukan komponen ECM dan ECM secara keseluruhan. Kegiatan ini tampaknya tidak terbatas pada komponen ECM karena peningkatan yang cukup besar dari protein disekresikan lainnya juga diamati tanpa peningkatan secara bersamaan dari tingkat mRNA termasuk adipisin dan melengkapinya C3. Secara umum, efek yang diamati dari menambahkan insulin ke media kultur sel, bahkan lebih kuat ketika percobaan dilakukan dengan adanya glukosa ekstra. Eksperimen yang mengarah ke atas efek aktivitas insulin meniru peningkatan akut dalam insulin pada adiposit dewasa. Untuk preadiposit *in vitro*, insulin adalah stimulator ampuh diferensiasi dan trigliserida penyimpanan sesuai dengan peran anabolik umum (Wang *et al.*, 2008).

Deteksi ekspresi gen yang diregulasi untuk sulfatase 2 menunjukkan bahwa insulin mengubah tingkat 6-O-sulfation dari *Heparan Sulfate Proteoglycans* (HSPGs). Wilsie *et al.* (2005), mendeteksi pengaruh yang jelas dari HSPG pada pengambilan lipid di 3T3-L1 adiposit. Mereka mengusulkan model di mana HSPG berfungsi sebagai situs pengikatan untuk partikel lipid (apoE-VLDL). Dengan demikian, pusat reaksi dibuat untuk hidrolisis cepat trigliserida dari partikel oleh lipoprotein lipase dan untuk pengiriman asam lemak ke transporter asam lemak terikat membran. Sebagai alternatif, partikel lipid diinternalisasi bersama dengan HSPGs telah terakumulasi. Dengan cara ini, ECM memainkan peran penting dalam pengambilan lipid yang dalam beberapa cara diatur oleh insulin.

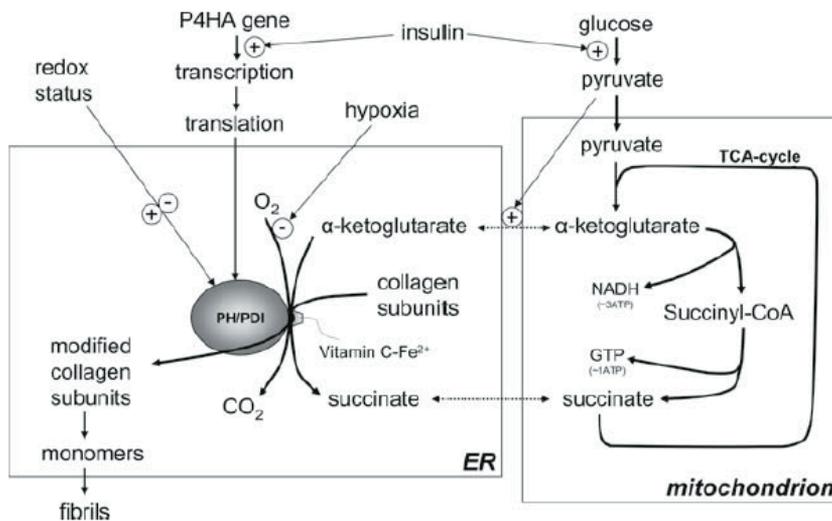
5.4.2 Regulasi ECM dan Metabolisme Energi

Ketika preadiposit berdiferensiasi dan sel mulai menyimpan lemak, ECM mengadopsi struktur laminar basal. Penyerapan dan penyimpanan asam lemak tergantung pada regulasi gen melalui aktivitas reseptor nuklir PPARc dalam kombinasi dengan reseptor nuklir lain seperti RXR. Penyimpanan lemak paralel dan pengembangan ECM menunjukkan bahwa kedua proses tersebut mungkin diatur secara bersamaan oleh PPARc. Namun, tidak banyak gen untuk ECM *components* atau enzim pengolahnya terbukti menjadi target langsung PPARc. Hasil yang disarankan telah diperoleh

untuk COL6A3 dan trombospondin 1. Elemen responsif spesifik untuk mengikat PPARc ada pada promotor gen pengeras untuk MMP1 (Francois *et al.*, 2004). Ketika rosiglitazon agonis kuat PPARc ditambahkan ke adiposit 3T3-L1 matang, sel-sel kehilangan 10% dari trigliserida. Pada saat yang sama, sebuah peraturan menurun diamati pada ekspresi gen untuk protein matriks dan berbagai enzim pengolah (Wang *et al.*, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa pengurangan konten trigliserida bersih sel mungkin disertai dengan pengurangan volume sel, sementara peningkatan ECM diperlambat melalui pengaturan turun transkripsional. Namun, efek ini tampaknya tidak terbatas pada protein ECM, tetapi juga berlaku untuk protein yang disekresikan lainnya.

Seperti disebutkan di atas, cara penting untuk mengendalikan pergantian ECM dalam adiposit matang adalah dengan mengatur enzim pengolah untuk sintesis dan pemecahan protein ECM. Kompleks protein yang menarik dalam hal ini adalah enzim prolil-4-hidroksilase terlibat dalam modifikasi kolagen yang diperlukan untuk perakitan menjadi monomer kolagen dan fibril. Ini adalah tetramer dari dua rantai alpha-1 (P4HA1) dan dua subunit beta juga disebut sebagai Protein Disulfida Isomerase (P4HB, PDI). Lokasi kompleks ini kemungkinan besar ER di mana rantai alfa dari kompleks enzim mengubah residu prolina di kolagen menjadi 4-hidroksiprolin. Ini membutuhkan vitamin C (asam askorbat) sebagai pemasok kofaktor Fe_2 untuk reaksi. Selain itu, reaksi membutuhkan O_2 dan ketoglutarat serta mengubahnya menjadi CO_2 dan suksinat masing-masing. Pada prinsipnya, konversi ini dianggap sebagai *shunt* dalam siklus TCA mengungkapkan bahwa satu prolina hidroksilasi menghabiskan energi setara empat ATP (satu GTP dan satu NADH). Ternyata, sintesis kolagen adalah proses yang sangat hemat energi bahkan pertukaran metabolit antara mitokondria dan ER seperti pada pirau yang diduga tidak mungkin. Pada mitokondria *islet* pankreas tikus ditunjukkan bahwa α -ketoglutarat adalah metabolit dari kataplerosis. Apalagi mitokondria dan ER bisa membangun interaksi langsung yang dimediasi oleh kontak protein khusus. Diamati bahwa piruvat meningkatkan sekresi α -ketoglutarat dari mitokondria dengan empat kali lipat. Dalam hal ini, sintesis kolagen mungkin dipengaruhi oleh konsentrasi piruvat yang berfungsi sebagai substrat untuk sintesis α -ketoglutarat dan

mempromosikan sekresinya dari mitokondria. Kemanjuran reaksi serta pengembangan ECM dan adiposit tampaknya bergantung pada suplai oksigen ke jaringan, sehingga muncul spekulasi bahwa kompleks enzim ini adalah situs untuk penginderaan oksigen seperti yang telah ditunjukkan untuk anggota lain dari keluarga gen HIF-PH (Thoms *et al.*, 2009).



Gambar 15. Ringkasan faktor-faktor yang memengaruhi aktivitas PH/PDI kompleks enzim (Thoms *et al.*, 2009).

PDI, mitra molekuler PH berfungsi menciptakan dan menata ulang ikatan disulfida selama pelipatan protein di ER. Sejalan dengan sifat katalitiknya, aktivitas PDI tampaknya bergantung pada status redoks dalam sel (Nardai *et al.*, 2005). Melipatnya kolagen ke dalam struktur yang tepat diperlukan untuk pembelahan peptida N-terminal mungkin hanya salah satu dari banyak tempat kerja enzim ini selama pembentukan komponen ECM. Tidak hanya komponen struktural ECM, tetapi juga memodifikasi enzim, seperti TIMP1 dan TIMP2 bergantung pada aktivitas ikatan disulfida. Melalui enzim seperti PDI, status redoks sel dan khususnya rasio NADH/NAD, mungkin memiliki pengaruh yang kuat pada pergantian dari adiposit ECM.

5.4.3 Peraturan ECM dan Kekuatan Mekanik

Meskipun salah satu fungsi ECM dari adiposit adalah perlindungan sel terhadap gangguan oleh kekuatan mekanik, aspek ini belum banyak dipelajari. Ketika 3T3-L1 preadiposit dikenakan peregangan mekanis, terjadilah penghambatan diferensiasi. Penurunan regulasi ekspresi gen PPARc2 kemungkinan besar dimediasi oleh jalur MAPK/ERK. Hal ini menunjukkan bahwa ketika kekuatan eksternal dirasakan, sel-sel dapat menghabiskan energi lebih banyak pada ECM remodeling. Peregangan juga dapat mencegah perubahan morfologi yang diperlukan selama diferensiasi. Hubungan antara bentuk sel dan potensi untuk berdiferensiasi telah ditunjukkan pada tahun 1983 oleh Spiegelman dan Ginty (Spiegelman dan Ginty, 1983).

Pengamatan yang menarik menunjukkan keterlibatan ECM dalam pengembangan morfologi sel dilakukan pada tikus MT1-MMP (MMP14) *null*. Tikus-tikus itu lipodistrofik dan preadiposit dalam sistem 3D-kultur *in vitro* mengadopsi bentuk sel yang berbeda sebagai sel dari tikus *wild-type*. *Down-regulation* CREB dan CREB terfosforilasi diperhatikan. Sepertinya sel-sel telah kehilangan kapasitas untuk berinteraksi dengan serat kolagen di sekitarnya dan kehilangan gaya traksi yang diperlukan untuk mengubah bentuk. Singkatnya, kekuatan mekanik eksternal pada sel memengaruhi kekuatannya untuk membedakan dan berfungsi dengan baik, sedangkan kekuatan traksi dari sel ke lingkungan diperlukan untuk perkembangan morfologi sel. ECM merupakan perantara dalam kedua proses tersebut.

5.4.4 Regulator ECM Lainnya

Selain insulin, hormon lain termasuk leptin, angiotensin II, dan estrogen juga ditujukan untuk pengembangan ECM di organ lain, tetapi tidak di jaringan adiposa. Jaringan adiposa mengekspresikan hormon-hormon ini dan juga reseptor-reseptornya. Dapat diduga bahwa ECM adiposa juga di bawah pengaturan hormon-hormon melalui autokrin dan parakrin. Sementara leptin dan angiotensin II menstimulasi produksi ECM melalui TGF- β , estrogen melindungi ECM dengan mengurangi MMP dan meningkatkan TIMP.

Sistem saraf simpatik juga dapat dilibatkan dalam pengaturan dinamika ECM. Studi tentang otot polos pembuluh darah menunjukkan bahwa rangsangan reseptor A1- dan B1/B2-adrenergik menginduksi dan menghambat produksi ECM masing-masing melalui TGF- β . Meskipun belum ditangani secara langsung di jaringan adiposa, mekanisme serupa dapat beroperasi melalui reseptor A2- dan B yang memainkan peran utama dalam kontrol lipolisis (O'Callaghan dan Williams, 2002).

5.5 ADIPOSIT ECM, PENGATURAN BERAT BADAN, DAN OBESITAS

Salah satu fungsi utama dari jaringan adiposa adalah penyimpanan sementara lemak sebagai trigliserida. Dalam hal keseimbangan energi positif, preadiposit berkembang menjadi adiposit di mana bentuk sel berubah secara dramatis. Proses ini tergantung pada perubahan dalam ECM. Sebagaimana diuraikan dalam paragraf sebelumnya, adipogenesis dapat dibagi dalam dua fase, yaitu fase pertama di mana sel-sel berkomitmen untuk menyimpan trigliserida dan fase kedua yang berhubungan dengan peningkatan jumlah trigliserida yang cukup besar disertai pembulatan dan pertumbuhan dari sel-sel.

Jika adiposit matang mengambil lebih banyak lemak, volume sel juga meningkat dan demikian pula dengan ECM. Pada subjek obesitas, terdapat banyak adiposit hipertrofik sehingga muncul pertanyaan bagaimana ECM dapat mengatasi hal ini. Rupanya terdapat batas fisik untuk pertumbuhan adiposit dan batas ini ditentukan oleh kemampuan sel untuk menjaga ECM dalam kondisi tersebut yang dapat melindungi sel terhadap gangguan. Pandangan yang muncul kemudian adalah hipertrofi adiposit mencegah pasokan oksigen ke isi sel sehingga menciptakan keadaan hipoksia. Kekurangan oksigen akan menginduksi apoptosis dari beberapa sel yang kemudian menarik makrofag dan menghasilkan keadaan peradangan di jaringan yang mungkin merupakan bagian dari patogenesis gangguan terkait obesitas seperti diabetes tipe II. Tidak banyak yang diketahui tentang konsekuensi mekanis hipoksia tetapi ECM mungkin terlibat. Hipoksia tidak diragukan lagi akan menyebabkan perubahan dalam status redoks seluler seperti yang disebutkan di atas. Hal ini akan menyebabkan

malafungsi enzim pemrosesan protein ECM seperti lisil oksidase dan prolil-4-hidroksilase, enzim penting untuk sintesis kolagen. Pada orang yang resistan terhadap insulin, hidroksilasi prolina dapat dihambat lebih banyak lagi karena penurunan pasokan piruvat sebagai masukan untuk siklus TCA. Dengan kondisi tersebut, orang mungkin mengharapkan destabilisasi ECM untuk adiposit yang terus tumbuh. Dengan demikian, ECM dapat menjadi pemain penting dalam etiologi diabetes tipe II. Khan *et al.* juga melaporkan bahwa disregulasi metabolik tubuh pada diabetes terkait dengan perubahan dari adiposit ECM memungkinkan ekspansi bebas stres dengan merobohkan kolagen VI dan meningkatkan homeostasis energi seluruh tubuh (Trayhurn *et al.*, 2008).

Tidak banyak yang diketahui tentang dinamika ECM selama keseimbangan energi negatif. Namun, hal ini penting karena untuk obesitas, hilangnya massa lemak adalah cara yang lebih disukai untuk menurunkan risiko komplikasi. Suplementasi media biakan dengan TNF α mengarah pada pengurangan kandungan lemak hingga 77%. Orang bisa berspekulasi bahwa hilangnya trigliserida menurunkan volume pembentukan sel stres antara isi sel dan ECM di sekitarnya. Hal ini akan membutuhkan ECM untuk merombak. Namun, penyusutan ECM mungkin sulit atau bahkan tidak mungkin, serta dapat menghambat lipolisis, sehingga menjawab pertanyaan mengapa kehilangan lemak adiposit tidak dapat mencapai penyelesaian. Memang, kehilangan lemak 10% oleh pengobatan rosiglitazone disejajarkan dengan transkripsi *down-regulation* sintesis dan pengolahan protein ECM (Wang *et al.*, 2007).

Obesitas memiliki kaitan erat dengan dengan peradangan. Adiposit pada obesitas meningkatkan produksi sitokin dan menarik makrofag yang berkontribusi pada peningkatan status peradangan sistemik. Di sisi lain, makrofag merangsang remodeling jaringan adiposa oleh *macrophage released* MMP dan/atau menginduksi adiposit yang dapat mengubah fungsi adiposit.

Beberapa penelitian lain menunjukkan hubungan antara ECM dan regulasi berat. *Knocking-out* kolagen VI pada tikus ob/ob menurunkan berat badan karena berkurangnya massa lemak pada usia muda. Mencit SPARC-*null* yang menunjukkan peningkatan adipositas menampilkan pengaruh yang kuat pada konversi ECM dari stroma yang kaya fibronektin ke

lamina basal yang kaya laminin. Pasien terinfeksi HIV 1 yang menerima protease inhibitor karena terapi anti-viral sering menyebabkan pengecilan lemak perifer disertai kesulitan dalam adipogenesis dan penumpukan lemak (Kim *et al.*, 2006). Perlakuan ini ditujukan untuk mengubah aktivitas protease endogen MMP2 dan MMP9 serta enzim pengolah lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa adipogenesis dan stabilitas adiposit dapat dipengaruhi oleh gangguan dinamika ECM. Pada tingkat epidemiologi, peningkatan plasma konsentrasi MMP2 dan MMP9 telah dilaporkan pada orang dewasa obesitas dan peningkatan kadar MMP9 dan TIMP1 pada anak-anak obesitas. Tingkat plasma TIMP1 telah ditemukan terkait dengan adipositas pada manusia. Sebuah studi genetik dengan polimorfisme di wilayah promotor gen MMP1 di antara subjek Korea menghasilkan hubungan yang signifikan dengan BMI (Nho *et al.*, 2008).



BAB

Adipogenesis dan Lipotoksistas

6.1 JARINGAN ADIPOSA, JARINGAN SEKRESI ENDOKRIN

Massa lemak ditentukan oleh keseimbangan dinamis antara asupan makanan dan pengeluaran energi. Gangguan keseimbangan ini menyebabkan obesitas, penyakit multifaktorial yang melibatkan peningkatan massa jaringan adiposa. Pandangan tentang adipositas menganggap obesitas sebagai faktor risiko utama untuk pengembangan resistansi insulin, hiperglikemia (dengan atau tanpa diabetes tipe 2), hiperlipidemia dan hipertensi secara kolektif disebut sebagai sindrom metabolik. Gangguan terkait ini memengaruhi pasien untuk berbagai kondisi kardiovaskular yang menyebabkan risiko tinggi serangan jantung dan stroke.

Pengamatan klinis bahwa tidak setiap individu obesitas mengembangkan masalah ini menunjukkan bahwa itu bukan efek langsung dari jumlah absolut akumulasi lemak. Banyak pasien obesitas sangat sehat secara metabolis meskipun terjadi penumpukan lemak yang masif, sedangkan yang lain hanya mengalami obesitas sedang mengembangkan sindrom metabolik penuh. Oleh karena itu, ada indikasi bahwa peningkatan jaringan adiposa mungkin merupakan faktor penting yang menentukan komplikasi metabolik terkait dengan obesitas (Medina *et al.*, 2005; Rosen dan Spiegelman, 2000).

Telah disarankan bahwa hubungan antara perluasan jaringan adiposa dan komorbiditas ini adalah resistansi insulin, yaitu; keadaan yang ditandai dengan gangguan respons terhadap insulin di jaringan perifer. Dua mekanisme non-eksklusif telah diusulkan untuk menjelaskan bagaimana perluasan jaringan adiposa memengaruhi sensitivitas insulin. Hal pertama menunjukkan bahwa akumulasi lemak yang berlebihan dikaitkan dengan keadaan peradangan kronis yang ditandai dengan peningkatan produksi sitokin oleh adiposit dan/atau makrofag yang menginfiltrasi jaringan adiposa. Sitolin yang diproduksi oleh adiposit atau makrofag ini dapat secara langsung berlawanan dengan insulin *signalling* (Wellen dan Hotamisligil, 2005). Mekanisme kedua menunjukkan bahwa perubahan metabolisme pada adiposit menurunkan kapasitas untuk menyimpan lipid, memfasilitasi aliran lipid ke organ lain. Ketika jumlah bahan bakar yang masuk ke organ-organ ini melebihi organ-organ

oksidatif atau kapasitas penyimpanan yang beracun, respons yang dikenal sebagai lipotoksitas diinduksi dengan pembentukan metabolit yang menghambat kerja insulin. Fenomena akumulasi lipid ektopik ini lebih khusus lagi spesies lipid reaktif, tampaknya menjadi hubungan penting antara resistansi insulin, obesitas, dan fitur lain dari sindrom metabolik.

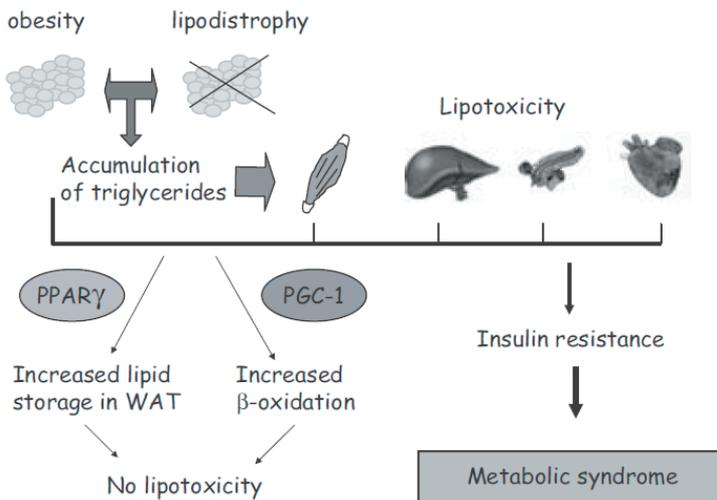
Sampai penemuan leptin dan hormon-hormon lain dalam adiposit, jaringan lemak dianggap sebagai organ penyimpanan pasif untuk kelebihan energi. Selain fungsi ini sebagai reservoir energi, adiposit sekarang dianggap sebagai sel endokrin, menyekresikan banyak faktor bioaktif termasuk leptin, *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α), interleukin-6 (IL-6), adiponektin, resistin, dan yang lain (Fruhbeck *et al.*, 2001).

Leptin terkenal karena efeknya dalam mengatur asupan makanan dan pengeluaran energi. Manusia dengan defisiensi leptin atau mutasi reseptor leptin mengalami obesitas berat (Montague *et al.*, 1997). Selain itu, leptin telah terbukti memiliki efek langsung pada sensitivitas insulin, mengembalikan resistansi insulin pada tikus dan pasien dengan lipodistrofi kongenital. TNF α adalah salah satu sitokin yang diproduksi oleh adiposit yang dapat berkontribusi pada pengembangan resistansi insulin pada obesitas. Di satu sisi, TNF α dapat merusak tindakan insulin sehingga mencegah metabolisme glukosa dan meningkatkan lipolisis. Pada tingkat molekuler, TNF α meningkatkan fosforilasi serin reseptor insulin substrat-1 (IRS-1) dan menurunkan tingkat ekspresi GLUT4 sehingga berkontribusi terhadap resistansi insulin. Adipokin dengan efek sensitivasi insulin adalah adiponektin. Ekspresi adiponektin menurun pada obesitas dan tingkatnya berkorelasi dengan sensitivitas insulin. Lebih lanjut, adiponektin tidak hanya meningkatkan penghambatan *output* glukosa hepatic, tetapi juga meningkatkan ambilan glukosa dan pemanfaatan glukosa di jaringan adiposa dan otot (Kubota *et al.*, 2002).

Telah terbukti bahwa resistin menurunkan transport glukosa secara *in vitro* dan meningkatkan konsentrasi glukosa darah puasa dan produksi glukosa hepatic *in vivo* (Steppan *et al.*, 2001). Meskipun data yang diperoleh dalam garis sel hewan pengerat, signifikansi fisiologis resistin pada manusia kurang jelas.

6.2 PERAN JARINGAN ADIPOSA PADA LIPOTOKSISITAS DAN RESISTANSI INSULIN

Resistensi insulin dianggap sebagai perubahan patofisiologi utama pada diabetes tipe 2, penyakit yang juga ditandai oleh hiposekresi insulin dan hiperglikemia. Ada bukti kuat bahwa disfungsi jaringan adiposa memainkan peran penting dalam pengembangan resistansi insulin dan diabetes tipe 2. Obesitas menunjukkan situasi di mana ada peningkatan akumulasi lemak, sedangkan lipodistrofi merupakan situasi di mana perkembangan jaringan adiposa terganggu mencegah penumpukan lemak. Dalam kedua situasi klinis, kapasitas untuk mempertahankan lipid dalam adiposit terganggu menyebabkan akumulasi trigliserida abnormal dan spesies lipid lainnya dalam jaringan non-adiposa (lipotoksisitas) serta mengembangkan resistansi insulin perifer.



Gambar 16. Adipogenesis dan lipotoksisitas (Shulman, 2000).

Meskipun belum ditetapkan dengan baik beberapa mekanisme telah disarankan untuk menjelaskan bagaimana spesies lipid beracun terlibat dalam pengembangan resistansi insulin dan diabetes tipe 2. Ini melibatkan inhibisi glukosa yang diinduksi oleh asam lemak melalui penghambatan satu atau lebih langkah dalam kaskade persinyalan insulin.

Telah ditunjukkan bahwa asam lemak bebas (FFA) dapat mengganggu translokasi GLUT4 dan/atau sintesis pada otot dan jaringan adiposa putih (Shulman, 2000). Selain itu, FFA dapat merusak langkah-langkah dalam transduksi *insulin signal* yang menyebabkan aktivitas reseptor insulin-3-kinase (PI3 kinase) yang terkait dengan substrat insulin dan langkah penting dalam memicu pergerakan molekul GLUT4 intraseluler ke permukaan sel (Russell, 2004). Molekul lain yang mungkin terpengaruh dalam proses ini adalah protein kinase. Ada juga bukti asam lemak mengurangi konversi glukosa menjadi glikogen untuk penyimpanan. Akumulasi asam lemak juga menyebabkan peningkatan sintesis seramid, yaitu molekul lipid yang mengganggu ambilan glukosa yang dirangsang insulin dan menginduksi apoptosis melalui aktivasi sintase oksida nitrat. Mekanisme lain melibatkan pembentukan peroksida lipid dari stres oksidatif seluler (Unger, 1995).

Proses yang disebutkan sebelumnya beroperasi secara simultan di dalam sel otot. Dengan demikian, penghambatan beberapa langkah metabolisme menyebabkan gangguan konsumsi glukosa dan berkontribusi terhadap hiperglikemia. Asam lemak juga dapat berkontribusi terhadap perkembangan hiperglikemia melalui efek pada hati di mana glikolisis yang terganggu menghasilkan peningkatan *output* glukosa hepatic dari glukoneogenesis dan glikogenolisis. Metabolisme asam lemak juga menghasilkan adenosin trifosfat dan bentuk yang berkurang dari nikotinamida adenina dinukleotida fosfat (NADP) yang menguntungkan glukoneogenesis dan berkontribusi terhadap perkembangan hiperglikemia (Unger, 1995).

Konsep lipotoksitas dalam β -sel itu sendiri juga telah disarankan untuk berkontribusi pada patologi diabetes tipe 2. Akumulasi asam lemak dalam *lead* sel- β untuk meningkatkan sekresi insulin dalam studi akut, tetapi ketika konsentrasi asam lemak atau waktu paparan asam lemak ini meningkat dan sekresi insulin terhambat.

6.3 PPARG, ADIPOGENESIS, DAN LIPOTOKSISITAS

Reseptor nuklir PPARG sangat diperlukan untuk adipogenesis dan sensitivitas insulin (Spiegelman, 1998). Selain efeknya pada diferensiasi

preadiposit dan seterusnya nomor adiposit, aktivasi PPAR γ menstimulasi penyimpanan asam lemak dalam adiposit matang. Temuan bahwa ligan sintesis PPAR γ , tiazolidinedion (TZD) bertindak sebagai obat antidiabetes dengan meningkatkan sensitivitas insulin telah menghasilkan harapan baru bahwa reseptor ini akan menjadi target molekuler kunci untuk pengobatan resistansi insulin. Meskipun mekanisme aksi TZD yang tepat masih belum jelas, kemungkinan menggunakan efeknya pada metabolisme glukosa melalui jaringan adiposa dan otot rangka. Ligan farmakologis ini menginduksi diferensiasi adiposit dan meningkatkan jumlah adiposit yang mengekspresikan pengangkut glukosa GLUT4 dan meningkatkan gen lipogenik (yaitu CD36 dan aP2), mengurangi FFA bersirkulasi. Selain itu, TZD dianggap mendistribusikan kembali trigliserida dari otot skeletal dan hati ke jaringan adiposa (Sugiyama, 2000).

Studi pada model tikus yang dibuat oleh rekayasa genetika spesifik jaringan telah menunjukkan pentingnya komunikasi antar jaringan dalam pengaturan metabolisme energi. Tikus dengan KO lengkap dan spesifik jaringan PPAR γ menggambarkan peran spesifik jaringan PPAR γ dan menunjukkan pentingnya komunikasi antar jaringan dalam pengembangan sindrom metabolik. Sebagai contoh, homomorfik PPAR γ tikus³³ dan *adipose tissue-specific deletion* dari PPAR γ ³⁴ menghasilkan lipodistrofi kongenital dan progresif. Penurunan deposisi lemak ini pada jaringan adiposa putih (WAT) dikaitkan dengan lipotoksitas dan akumulasi FFA di jaringan non-adiposa seperti hati, otot skeletal, dan pankreas, dan ini terkait dengan perkembangan resistansi insulin.

Akumulasi hipotoksik lipid dalam jaringan perifer juga terjadi di bawah kondisi keseimbangan energi positif ketika jaringan adiposa ditantang untuk menampung lipid berlebih. Hal ini dapat terjadi akibat pembentukan adiposit hipertrofik yang membesar untuk mengakumulasi lipid berlebih. Adiposit hipertrofik yang besar dianggap lebih resistan terhadap insulin dan mengeluarkan adipokin yang memicu perkembangan resistansi insulin. Selanjutnya, adiposit ini tidak dapat mempertahankan FFA yang disimpan, sehingga menghasilkan limpahan lipid yang mengarah pada peningkatan sirkulasi FFA, dan lipotoksitas dalam jaringan perifer yang memfasilitasi pengembangan sindrom metabolik.

Namun, perluasan jaringan adiposa yang terkait dengan obesitas dapat didasarkan pada respons hiperplasia dari jaringan adiposa daripada hanya pada hipertrofi adiposit matang sehingga menghasilkan jaringan adiposa dengan adiposit yang lebih kecil, tetapi lebih banyak. Adiposit yang lebih kecil ini mempertahankan sensitivitas insulin dengan sekresi adipokin *insulin-sensitizing*. Ini adalah kasus pada model tikus heterozigot PPAR γ yang menunjukkan peningkatan sensitivitas insulin dan perlindungan dari lipotoksitas meskipun massa lemak meningkat.

PPAR γ diekspresikan sebagai dua isoform. Salah satu isoform, PPAR γ 1, diekspresikan dalam banyak jaringan dan tipe sel termasuk jaringan adiposa putih dan coklat, otot skeletal, hati, sel beta pankreas, makrofag, kolon, tulang, dan plasenta (Escher, 2001). Ekspresi varian lainnya, PPAR γ 2 terbatas pada jaringan adiposa putih dan coklat di bawah kondisi fisiologis. PPAR γ 2 bukan hanya isoform adipogenik *in vitro* tetapi juga satu-satunya isoform PPAR γ yang diatur pada tingkat transkripsi oleh nutrisi (Vidal *et al.*, 1997). Selanjutnya, PPAR γ 2 adalah isoform yang diinduksi di hati dan otot rangka sebagai respons terhadap kelebihan gizi atau obesitas genetik. Ekspresi ektopik PPAR γ 2 di hati dan otot di negara obesitas menunjukkan bahwa PPAR γ 2 mungkin memiliki peran dalam resistansi insulin dan lipotoksitas dalam jaringan. Baru-baru ini, telah ditunjukkan bahwa overekspresi PPAR γ 2 di hati menginduksi steatosis hati akut sementara secara nyata menurunkan adiposit perifer disertai dengan peningkatan pengeluaran energi dan peningkatan sensitivitas insulin sistemik (Uno *et al.*, 2006).

Zhang *et al.* telah melaporkan gangguan selektif PPAR γ 2 pada tikus. Evaluasi metabolik model-model ini menunjukkan bahwa tikus PPAR γ 2-*null* resistan terhadap insulin. Namun, model Zhang menghadirkan perubahan lipodistrofi. Hewan dengan gangguan akumulasi jaringan adiposa mengembangkan resistansi insulin. Oleh karena itu, tidak jelas apakah resistansi insulin yang diamati pada model Zhang adalah sekunder terhadap lipodistrofi atau terkait dengan efek independen PPAR γ 2 pada sensitivitas insulin.

Meskipun penampilan WAT *in vivo* normal, gen target PPAR γ yang terlibat dalam adipogenesis menurun dan terjadi resistansi insulin. Tikus PPAR γ 2KO mengalami penurunan kadar trigliserida rantai panjang

dalam WAT meskipun total massa lipid tetap. Efek ini menghasilkan peningkatan akumulasi spesies lipid lainnya, seperti trigliserida rantai pendek, diasilgliserol, fosfolipid, dan spesies seramid yang langka.

Dalam kondisi diet tinggi lemak (HFD), tikus PPARG2KO mengumpulkan jumlah lemak berlebih yang sama dalam adiposit yang lebih hipertrofi dibandingkan dengan binatang tipe liar. Namun, resistansi insulin pada tikus PPARG2KO dengan *diet chow* tidak lebih buruk daripada diet hiperkalori meskipun ditandai hipertrofi adiposit dan penurunan ekspresi gen target PPARG. Model ini mengalami penurunan kadar adiponektin plasma pada *diet chow* normal, tetapi kadarnya sama rendahnya seperti pada tikus tipe liar selama HFD. Data ini menunjukkan bahwa PPARG2 mungkin terlibat dalam mekanisme mediasi resistansi insulin yang diinduksi HFD melalui efeknya pada regulasi adiponektin.

Telah ditunjukkan bahwa PPARG2 diinduksi di hati dan otot di bawah kondisi makan berlemak tinggi (Vidal *et al*, 1996). Dalam model KO PPARG2, ketiadaan induksi PPARG2 pada otot skeletal dengan pemberian lemak tinggi menghasilkan peningkatan regulasi program ekspresi gen PPAR α /d target oksidasi asam lemak yang dapat berkontribusi untuk mencegah resistansi insulin yang diinduksi oleh lipotoksisitas pada hewan ini.

6.4 PERAN PGC1 DALAM MENCEGAH LIPOTOKSISITAS

Seperti disebutkan sebelumnya, lipotoksisitas dapat dicegah dengan meningkatkan kapasitas penyimpanan asam lemak dalam jaringan adiposa dan juga meningkatkan kapasitas oksidasi asam lemak dalam jaringan perifer. PGC1 α adalah faktor transkripsi yang telah terbukti berpartisipasi dalam jalur mengontrol homeostasis glukosa dan mempromosikan oksidasi asam lemak melalui peningkatan fungsi dan aktivitas mitokondria (Puigserver, 1998). Oleh karena itu, PGC1 α dapat menjadi penghubung penting dalam patogenesis diabetes tipe 2 dengan mencegah lipotoksisitas.

PGC1 α mengintegrasikan jalur metabolik yang mendukung kelangsungan hidup mamalia selama kelaparan atau hibernasi dengan mempromosikan glukoneogenesis hati, β -oksidasi, serta meningkatkan

fungsi mitokondria keseluruhan yang dapat meningkatkan penyerapan glukosa dan metabolisme insulin di otot (Yoon *et al.*, 2001).

Dalam otot, PGC1 α tidak hanya memfasilitasi masuknya glukosa dengan mengaktifkan transkripsi yang bergantung pada MEF2C dari GLUT4, tetapi juga mempromosikan pemanfaatan glukosa, mengaktifkan gen yang terlibat dalam fosforilasi oksidatif. Selanjutnya, overekspresi PGC1 α menginduksi saklar tipe serat dari serabut otot tipe II *fast twitch* ke tipe I *slow twitch fibres* (Lin *et al.*, 2002), membuat otot tikus ini resistan terhadap kelelahan akibat kontraksi dan memperoleh lebih banyak kapasitas oksidatif.

Dalam hati, PGC1 α mengintegrasikan adaptasi metabolik dari hewan pengerat ke puasa dengan menginduksi enzim glukoneogenesis sehingga meningkatkan *output* glukosa. Telah ditunjukkan bahwa ekspresi PGC1 α hati dan glukoneogenesis diinduksi pada model tikus resistansi insulin dan diabetes tipe 2 (Lin *et al.*, 2002).

Ekspresi ektopik PGC1 α pada adiposit putih meningkatkan ekspresi protein *uncoupling 1* (UCP-1), gen yang mengode protein rantai pernapasan (sitokrom subunit c-oksidadase COX II dan IV) dan enzim oksidasi asam lemak, serta menyebabkan adiposit putih memperoleh fitur dari adiposit cokelat (Tiraby *et al.*, 2003).

Pada tikus ob/ob, ekspresi transkrip yang mengkodekan protein mitokondria menurun dengan berkembangnya obesitas. Perawatan TZD pada tikus ob/ob meningkatkan ekspresi PGC1 α dan meningkatkan massa mitokondria dan pengeluaran energi. PGC1 α memiliki peran peka insulin dalam jaringan adiposa yang meningkatkan ekspresi gliserol kinase dengan melepaskan kopresor.

PGC1 α awalnya diidentifikasi sebagai koagulan PPAR γ dan telah terbukti secara kooperatif mengatur program biogenesis dan termogenesis adaptif mitokondria pada jaringan adiposa cokelat dan otot skeletal. Dua model tikus KO PGC1 α telah dihasilkan dan ditunjukkan untuk menunjukkan intoleransi dingin. Sementara itu, satu model menunjukkan peningkatan usia terkait lemak tubuh dan yang lain modelnya ramping.

Ekspresi PGC1 α juga diregulasi dalam β -sel dari model hewan diabetes tipe 2. Meskipun peningkatan regulasi ini tidak dipahami dengan baik, diketahui bahwa asam lemak meningkatkan ekspresi PGC1 α dan

merusak fungsi β -sel tikus. PGC1b adalah homolog PGC1a dan sangat diekspresikan dalam jaringan dengan kandungan mitokondria tinggi seperti otot skeletal dan jantung. Tidak seperti PGC1a, ekspresi PGC1b tidak berubah pada hati tikus yang dipuaskan atau terpapar oleh dingin (Meirhaeghe, 2003). PGC1b telah terbukti mengontrol sintesis lipid hepar dan produksi lipoprotein. Ekspresi ektopik PGC1b pada otot rangka menginduksi biogenesis mitokondria dan meningkatkan konsumsi oksigen mitokondria. Namun, baru-baru ini telah ditunjukkan bahwa PGC1b juga terlibat dalam regulasi transisi dan metabolisme serat otot skeletal sehingga menunjukkan bahwa PGC1b memiliki efek yang tumpang-tindih dan berbeda dari PGC1a (Mortensen, 2006). Keduanya meningkatkan metabolisme oksidatif tanpa efek yang nyata pada metabolisme glikolitik dan keduanya beralih ke tipe miofibril lambat, tetapi hanya PGC1a yang mengatur konten glikogen seluler.



Daftar Pustaka

- Aagaard, M.M., *et al.* 2011. Molecular basis for gene-specific transactivation by nuclear receptors. *Biochim Biophys Acta*, 1812:824–35.
- Albab, C.F., *et al.* 2019. Moderate intensity exercise is most influential in the expression of UCP-1 in mice male. *Health Nations*, 3(12):490–492.
- Amaliyah, M.N. and Rejeki, P.S. 2018. The effect of exercise on fat browning through plasma irisin level modulation to overcome obesity. *Folia Medica Indonesiana*, 54(4):301–305.
- Andarawewa, K.L., *et al.* 2005. Stromelysin-3 is a potent negative regulator of adipogenesis participating to cancer celladipocyte interaction/crosstalk at the tumor invasive front. *Cancer Res*, 65:10862–10871.
- Aoki, N., *et al.* 2007. Identification and characterization of microvesicles secreted by 3T3-L1 adipocytes: redox- and hormone- dependent induction of milk fat globule-epidermal growth factor 8-associated microvesicles. *Endocrinology*, 148:3850–3862.
- Arango, N.A., *et al.* 2005. Conditional deletion of beta-catenin in the mesenchyme of the developing mouse uterus results in a switch to adipogenesis in the myometrium. *Dev Biol*, 288:276–283.
- Banerjee, S.S., *et al.* 2003. The kruppelike factor KLF2 inhibits peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression and adipogenesis. *J Biol Chem*, 278:2581–2584.
- Batchnarova, N., *et al.* 1995. Inhibition of adipogenesis by the stress-induced protein CHOP (Gadd153). *EMBO J*, 14:4654–4661.

- Barak, Y., *et al.* 1999. PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*, 4:585–595.
- Bennett, C.N., *et al.* 2005. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proc Natl Acad Sci*, 102:3324–29.
- Bezy, O., *et al.* 2005. Delta-interacting protein A, a new inhibitory partner of CCAAT/enhancer-binding protein beta, implicated in adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 280:11432–11438.
- Blumberg, J.M., *et al.* 2006. Complex role of the vitamin D receptor and its ligand in adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem*, 281:11205–11213.
- Bouwman, F., *et al.* 2004. A combination of protein profiling and isotopomer analysis using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry reveals an active metabolism of the extracellular matrix of 3T3-L1 adipocytes. *Proteomics*, 4:3855–3863.
- Bowers, R.R., *et al.* 2006. Stable stem cell commitment to the adipocyte lineage by inhibition of DNA methylation: role of the BMP-4 gene. *Proc Natl Acad Sci*, 103:13022–27.
- Bowers, R.R., and Lane, M.D. 2007. A role for bone morphogenetic protein-4 in adipocyte development. *Cell Cycle*, 6:385–89.
- Bowers, R.R., and Lane, M.D. 2008. Wnt signaling and adipocyte lineage commitment. *Cell Cycle* 7:1191–96 42. Zehentner BK, Leser U, Burtscher H. 2000. BMP-2 and sonic hedgehog have contrary effects on adipocyte-like differentiation of C3H10T1/2 cells. *DNA Cell Biol*, 19:275–81.
- Boudjelal, M., *et al.* 1997. Overexpression of Stra13, a novel retinoic acid-inducible gene of the basic helix-loop-helix family, inhibits mesodermal and promotes neuronal differentiation of P19 cells. *Genes Dev*, 11:2052–2065.
- Burkhart, D.L. and Sage, J. 2008. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat Rev Cancer*, 8:671–82.
- Cahill, G.F. Jr. 2006. Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr*, 26:1–22.
- Calo, E., *et al.* 2010. Rb regulates fate choice and lineage commitment in vivo. *Nature*, 466:1110–14.
- Cao, Z., *et al.* 1991. Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Genes Dev*, 5:1538–1552.
- Caprio, M., *et al.* 2007. Pivotal role of the mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis. *FASEB Journal*, 21: 2185–2194.
- Christiaens, V., *et al.* 2008. Role of proteolysis in development of murine adipose tissue. *Thromb Haemost*, 99:290–294.
- Christy, R.J., *et al.* 1991. CCAAT/enhancer binding protein gene promoter: binding of nuclear factors during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Proc Natl Acad Sci*, 88:2593–97.

- Clarke, S.L., *et al.* 1997. CAAT/enhancer binding proteins directly modulate transcription from the peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 promoter. *Biochem Biophys Res Commun*, 240:99–103.
- Classon, M., *et al.* 2000. Opposing roles of pRB and p107 in adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci*. 97:10826–10831.
- Cohen, M.M. 2003. The hedgehog signaling network. *Am J Med Genet A*, 123A: 5–28.
- Coleman, R.A., *et al.* 1978. Selective changes in microsomal enzymes of triacylglycerol phosphatidylcholine, and phosphatidylethanolamine biosynthesis during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem*, 253:7256–61.
- Covas, D.T., *et al.* 2008. Multipotent mesenchymal stromal cells obtained from diverse human tissues share functional properties and gene-expression profile with CD146+ perivascular cells and fibroblasts. *Exp Hematol*, 36: 642–54.
- Crandall, D.L., *et al.* 2006. Modulation of adipose tissue development by pharmacological inhibition of PAI-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26: 2209–2215.
- Date, T., *et al.* 2004. Bone morphogenetic protein-2 induces differentiation of multipotent C3H10T1/2 cells into osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes in vivo and in vitro. *J Orthop Sci*, 9:503–8.
- Davis, K.E., *et al.* 2004. The forkhead transcription factor FoxC2 inhibits white adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 279:42453–42461.
- Davis, L.A. and Zur Nieden, N.I. 2008. Mesodermal fate decisions of a stem cell: the Wnt switch. *Cell Mol Life Sci*, 65:2658–74.
- Edwin, C., *et al.* 2010. Adipocyte Extracellular Matrix Composition, Dynamics and Role in Obesity. *Cell Mol Life Sci*, 67:1277–1292.
- El-Jack, A.K., *et al.* 1999. Reconstitution of insulin-sensitive glucose transport in fibroblasts requires expression of both PPAR γ and C/EBP α . *J Biol Chem*, 274:7946–7951.
- Escher, P., *et al.* 2001. Rat PPARs: quantitative analysis in adult rat tissues and regulation in fasting and refeeding. *Endocrinology*, 142:4195–202.
- Fajas, L., *et al.* 1997. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR γ gene. *J Biol Chem*, 272:18779–18789.
- Fajas, L., *et al.* 2002. E2Fs regulate adipocyte differentiation. *Dev Cell*, 3:39–49.
- Farmer, S.R. 2006. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab*, 4(4):263–73.

- Feng, J.Q., *et al.* 1994. Structure and sequence of mouse bone morphogenetic protein-2 gene (BMP-2): comparison of the structures and promoter regions of BMP-2 and BMP-4 genes. *Biochim Biophys Acta*, 1218:221–24.
- Filippov, S., *et al.* 2005. MT1-matrix metalloproteinase directs arterial wall invasion and neointima formation by vascular smooth muscle cells. *J Exp Med*, 202:663–671.
- Francois, M., *et al.* 2004. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma down-regulates chondrocyte matrix metalloproteinase-1 via a novel composite element. *J Biol Chem*, 279:28411–28418.
- Freytag, S.O., *et al.* 1994. Ectopic expression of the CCAAT/enhancer-binding protein a promotes the adipogenic program in a variety of mouse fibroblastic cells. *Genes Dev*, 8:1654–63.
- Friedman, J.M. 1997. Leptin, leptin receptors and the control of body weight. *Eur J Med Res*, 2:7–13.
- Fruhbeck, G., *et al.* 2001. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 280: E827–47.
- Fu, M., *et al.* 2005a. Cyclin D1 inhibits peroxisome proliferator-activated receptor gamma-mediated adipogenesis through histone deacetylase recruitment. *J Biol Chem*, 280:16934–16941.
- Fu, M., *et al.* 2005b. A Nuclear Receptor Atlas: 3T3-L1 adipogenesis. *Mol Endocrinol*, 19:2437–2450.
- Green, H. and Kehinde, O. 1974. Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell*, 1:113–16.
- Green, H. and Kehinde, O. 1976. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell*, 7:105–13.
- Green, H. and Kehinde, O. 1979. Formation of normally differentiated subcutaneous fat pads by an established preadipose cell line. *J Cell Physiol*, 101:169–72.
- Gregoire, F.M., *et al.* 1998. Understanding adipocyte differentiation. *Physiological Reviews*, 78:783–809.
- Heldin, C., *et al.* 1997. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*, 390:465–71.
- Helvering, L.M., *et al.* 2000. Regulation of the promoters for the human bone morphogenetic protein 2 and 4 genes. *Gene*, 256:123–38.
- Hida, K., *et al.* 2005. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci*, 102:10610–10615.

- Huang, H.Y., *et al.* 2011. Involvement of cytoskeleton-associated proteins in the commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to adipocyte lineage induced by BMP2/4. *Mol Cell Proteomics*, 10:1–8.
- Huang, H.Y., *et al.* 2009. BMP signaling pathway is required for commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage. *Proc Natl Acad Sci*, 106:12670–75.
- Ibrahimi, A., *et al.* 1992. Essential role of collagens for terminal differentiation of preadipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 187:1314–1322.
- Iyengar, P., *et al.* 2005. Adipocyte-derived collagen VI affects early mammary tumor progression in vivo, demonstrating a critical interaction in the tumor/stroma microenvironment. *J Clin Invest*, 115:1163–1176.
- Kang, S., *et al.* 2007. Wnt signaling stimulates osteoblastogenesis of mesenchymal precursors by suppressing CCAAT/enhancer-binding protein alpha and peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Biol Chem*, 282: 14515–24.
- Karundeng, R., *et al.* 2014. Jaringan lemak putih dan jaringan lemak coklat: aspek histofisiologi. *Jurnal Biomedik*, 6(3):S8-S15.
- Kim, R.J., *et al.* 2006. HIV protease inhibitor-specific alterations in human adipocyte differentiation and metabolism. *Obesity (Silver Spring)*, 14:994–1002.
- Kohn, A.D. and Moon, R.T. 2005. Wnt and calcium signaling: beta-catenin-independent pathways. *Cell Calcium*, 38:439–46.
- Komiya, Y. and Habas, R. 2008. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*, 4:68–75.
- Koutnikova, H., *et al.* 2003. Compensation by the muscle limits the metabolic consequences of lipodystrophy in PPAR gamma hypomorphic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100:14457–62.
- Kubota, N., *et al.* 2002. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *Journal of Biological Chemistry*, 277:25863–6.
- Kuri-Harcuch, W. and Marsch-Moreno, M. 1983. DNA synthesis and cell division related to adipose differentiation of 3T3 cells. *J Cell Physiol*, 114(1):39–44.
- Li, Z., *et al.* 2008. Reduced white fat mass in adult mice bearing a truncated Patched 1. *Int J Biol Sci*. 4:29–36.
- Lin, J., *et al.* 2002. Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, 418:797–801.
- Lijnen, H.R., *et al.* 2006. Tiplaxtinin impairs nutritionally induced obesity in mice. *Thromb Haemost*, 96:731–737.
- Lin, C.S., *et al.* 2010. Defining adipose tissue-derived stem cells in tissue and in culture. *Histol. Histopathol*, 25:807–15.

- Linhardt, H.G., *et al.* 2001. C/EBPalpha is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci*, 98:12532–12537.
- Liu, J. and Farmer, S.R. 2004. Regulating the balance between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and beta-catenin signaling during adipogenesis. A glycogen synthase kinase 3beta phosphorylation-defective mutant of beta-catenin inhibits expression of a subset of adipogenic genes. *J Biol Chem*, 279:45020–45027.
- Liu, J., *et al.* 2006. A functional interaction between PPARgamma and beta-catenin. *Mol Cell Biol*, 26:5827–5837.
- MacDougald, O.A. and Lane, M.D. 1995. Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Annu Rev Bioche*, 64:345–73.
- Medina-Gomez, G., *et al.* 2005. The link between nutritional status and insulin sensitivity is dependent on the adipocytespecific peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 isoform. *Diabetes*, 54:1706–16.
- Melendez-Zajgla, J., *et al.* 2008. Tissue inhibitor of metalloproteinases-4. The road less traveled. *Mol Cancer*, 7:85.
- Meirhaeghe, A., *et al.* 2003. A functional polymorphism in a STAT5B site of the human PPAR gamma 3 gene promoter affects height and lipid metabolism in a French population. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol*, 23:289–294.
- Meirhaeghe, A., *et al.* 2003. Characterization of the human, mouse and rat PGC1 beta (peroxisome-proliferator-activated receptorgamma co-activator 1 beta) gene in vitro and in vivo. *Biochemical Journal*, 373:155–65.
- Mescher, A.L. 2010. *Adipose Tissue. Junqueira's Basic Histology Text & Atlas (Twelfth Edition)*. New York: Mc GrawHill.
- Moitra, J., *et al.* 1998. Life without white fat: a transgenic mouse. *Genes Dev*, 12: 3168–81.
- Moldes, M., *et al.* 2003. Peroxisome-proliferator-activated receptor gamma suppresses Wnt/beta-catenin signalling during adipogenesis. *Biochem J*, 376:607–613.
- Montague, C.T., *et al.* 1997. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 387:903–8.
- Mori, T., *et al.* 2005. Role of Kr uppel-like factor 15(KLF15) in transcriptional regulation of adipogenesis. *J Biol Chem*. 28:12867–12875.
- Mortensen, O.H., *et al.* 2006. PGC-1{alpha} and PGC-1{beta} have both similar and distinct effects upon myofiber switching towards an oxidative phenotype. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 291:E807–16.

- Mueller, E., *et al.* 2002. Genetic analysis of adipogenesis through peroxisome proliferator-activated receptor gamma isoforms. *J Biol Chem*, 277:41925–41930.
- Munro, L.A., *et al.* 2011. Using personality as predictor of diet induced weight loss and weight management. *Int J Behav Nutr Phys Act*, 8:129.
- Nakae, J., *et al.* 2003. The forkhead transcription factor FOXO1 regulates adipocyte differentiation. *Dev Cell*, 4:119–129.
- Nakajima, I., *et al.* 1998. Adipose tissue extracellular matrix: newly organized by adipocytes during differentiation. *Differentiation*, 63:193–200.
- Nardai, G., 2005. Diabetic changes in the redox status of the microsomal protein folding machinery. *Biochem Biophys Res Commun*, 334:787–795.
- Negrel, R., *et al.* 1978. Establishment of preadipocyte clonal line from epididymal fat pad of *ob/ob* mouse that responds to insulin and to lipolytic hormones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(12):6054–6058.
- Nho, Y.K., *et al.* 2008. Matrix metalloproteinase-1 promoter is associated with body mass index in Korean population with aged greater or equal to 50 years. *Clin Chim Acta*, 396:14–17.
- O'Callaghan, C.J. and Williams, B. 2002. The regulation of human vascular smooth muscle extracellular matrix protein production by alpha- and beta-adrenoceptor stimulation. *J Hypertens*, 20:287–294.
- Oishi, Y., *et al.* 2005. Kruppel-like transcription factor KLF5 is a key regulator of adipocyte differentiation. *Cell Metab*. 1:27–39.
- Ossipow, V., *et al.* 1993. CCAAT/enhancer-binding protein mRNAs translated into multiple proteins with different transcription activation potentials. *Proc Natl Acad Sci*, 90:8219–23.
- Otto, T.C. and Lane, M.D. 2005. Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 40:229–42.
- Patel, Y.M. and Lane, M.D. 1999. Role of calpain in adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci*, 96:1279–84.
- Patel, Y.M. and Lane, M.D. 2000. Mitotic clonal expansion during preadipocyte differentiation: calpain-mediated turnover of p27. *J Biol Chem*, 275:17653–60.
- Pierleoni, C., *et al.* 1998. Fibronectins and basal lamina molecules expression in human subcutaneous white adipose tissue. *Eur J Histochem*, 42:183–188.
- Pairault, J. and Green, H. 1979. A study of the adipose conversion of suspended 3T3 cells by using glycerophosphate dehydrogenase as differentiation marker. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10):5138–5142.

- Prasetya, R.E., *et al.* 2018. Effect of moderate intensity exercise on body weight and blood estrogen level ovariectomized mice. *MKB*, 50(3):147-151.
- Prockop, D.J., *et al.* 1998. Procollagen N-proteinase and procollagen C-proteinase. Two unusual metalloproteinases that are essential for procollagen processing probably have important roles in development and cell signaling. *Matrix Biol*, 16:399–408.
- Prokesch, A., *et al.* 2009. Novel insights into adipogenesis from omics data. *Current Medicinal Chemistry*, 16:2952-64.
- Puigserver, P., *et al.* 1998. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 92:829–39.
- Rejeki, PS., *et al.* 2016. Comparison effect of Cv 12, St 36 and St 40 EA on short term energy balance regulation in high fat diet rat. *Folia Medica Indonesiana*, 52(3):174–179.
- Reya, T. and Clevers, H. 2005. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*. 434:843–50.
- Reznikoff, K.A., *et al.* 1973. Establishment and characterization of a cloned line of C3H mouse embryo cells sensitive to postconfluence inhibition of division. *Cancer Res*. 33:3231–38.
- Rochford, J.J., *et al.* 2004. ETO/MTG8 is an inhibitor of C/EBPbeta activity and a regulator of early adipogenesis. *Mol Cell Biol*, 24:9863–9872.
- Rosen, E.D., *et al.* 1999. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Molecular Cell*. 4:611–7.
- Rosen, E.D. and Spiegelman, B.M. 2000. Molecular regulation of adipogenesis. *Annual Review of Cell Developmental Biology*, 16:145–71.
- Ross, S.E., *et al.* 2000. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science*, 289: 950–53.
- Ross, M.H. and Woljciech, P. 2011. *Adipose Tissue: Histology a Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology (Sixth Edition)*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Wolters Kluwer
- Russell, A.P. 2004. Lipotoxicity: the obese and endurance-trained paradox. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 28(Suppl. 4):S66–71.
- Sarjeant, *et al.* 2012. Adipogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(9): 10.
- Saputro, Z.B., *et al.* 2019. The effect of moderate intensity fun aerobic gym on HDL-C and LDL- C on overweight women. *Folia Medica Indonesiana*, 55(2):89-92.

- Shepherd, P.R., *et al.* 1993. Adipose cell hyperplasia and enhanced glucose disposal in transgenic mice overexpressing GLUT4 selectively in adipose tissue. *J Biol Chem*, 268:22243–46.
- Shimba, S., *et al.* 2005. Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102(34)12071-12076.
- Schwarz, E.J., *et al.* 1997. Retinoic acid blocks adipogenesis by inhibiting C/EBPbeta-mediated transcription. *Mol Cell Biol*, 17:1552–61.
- Shulman, G.I. 2000. Cellular mechanisms of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 106:171–6.
- Siersbaek, R., *et al.* 2011. Extensive chromatin remodelling and establishment of transcription factor ‘hotspots’ during early adipogenesis. *EMBO J*, 30: 1459–72.
- Spiegelman, B.M. and Ginty, C.A. 1983. Fibronectin modulation of cell shape and lipogenic gene expression in 3T3-adipocytes. *Cell*, 35:657–666.
- Spiegelman, B.M. 1998. PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, 47:507–14.
- Steppan, C.M., *et al.* 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 409:307–12.
- Student, A.K., *et al.* 1980. Induction of fatty acid synthetase synthesis in differentiating 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem*, 255:4745–50.
- Sugiyama, Y., *et al.* 2000. Mechanisms of thiazolidinedione derivatives for hypoglycemic and insulin sensitizing effects. *Nippon Rinsho*, 58:370–5.
- Sun, T., *et al.* 2009. MicroRNA let-7 regulates 3T3-L1 adipogenesis. *Mol Endocrinol*, 23:925–31.
- Tanaka, T., *et al.* 1997. Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. *EMBO J*, 16:7432–43.
- Tang, Q.Q., *et al.* 2005. Sequential phosphorylation of CCAAT enhancer-binding protein beta by MAPK and glycogen synthase kinase 3beta is required for adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci*. 102:9766–71.
- Tang, Q-Q. and Lane, M.D. 1999. Activation and centromeric localization of CCAAT/enhancer binding proteins during the mitotic clonal expansion of adipocyte differentiation. *Genes Dev*, 13:2231–41.
- Tang, Q-Q. and Lane, M.D. 2000. Role of C/EBP homologous protein (CHOP-10) in the programmed activation of CCAAT/enhancer-binding protein- β during adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci*, 97:12446–50.
- Tang, Q-Q., *et al.* 2003. Mitotic clonal expansion: asynchronous process required for adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci*, 100:44–49.

- Tang, Q-Q., *et al.* 2003. CCAAT/enhancer-binding protein beta is required for mitotic clonal expansion during adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci*, 100: 850–55.
- Tang, Q-Q., *et al.* 2004. Commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage. *Proc Natl Acad Sci*, 101:9607–11.
- Thomas, D.M., *et al.* 2001. The retinoblastoma protein acts as a transcriptional coactivator required for osteogenic differentiation. *Mol Cell*, 8:303–16.
- Thoms, S., *et al.* 2009. Organelle interplay in peroxisomal disorders. *Trends Mol Med*, 15:293–302.
- Timothy, J.B., *et al.* 2010. Sensory and sympathetic nervous system control of white adipose tissue lipolysis. *Mol Cell Endocrinol*, 318(1-2):34–43.
- Tiraby, C., *et al.* 2003. Acquirement of brown fat cell features by human white adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 278:33370–6.
- Tontonoz, P., *et al.* 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*, 79:1147–56.
- Tontonoz, P. and Spiegelman, B.M. 2008. Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. *Annu Rev Biochem*, 77:289–312.
- Trayhurn, P., *et al.* 2008. Hypoxia and the endocrine and signalling role of white adipose tissue. *Arch Physiol Biochem*, 114:267–276.
- Unger, R.H. 1995. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes*, 44:863–70.
- Uno, K., *et al.* 2006. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science*, 312:1656–9.
- Van der Horst, G., *et al.* 2003. Hedgehog stimulates only osteoblastic differentiation of undifferentiated KS483 cells. *Bone*, 33:899–910.
- Vertino, A.M., *et al.* 2005. Wnt10b deficiency promotes coexpression of myogenic and adipogenic programs in myoblasts. *Mol Biol Cell*, 16:2039–48.
- Vidal-Puig, A., *et al.* 1996. Regulation of PPAR gamma gene expression by nutrition and obesity in rodents. *Journal of Clinical Investigation*, 97:2553–61.
- Vidal-Puig, A.J., *et al.* 1997. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *Journal of Clinical Investigation*, 99: 2416–22.
- Vinson, C.R., *et al.* 1989. Scissor-grip model for DNA recognition by a family of leucine zipper proteins. *Science*, 246:911–16.
- Wahren, J. and Ekberg, K. 2007. Splanchnic regulation of glucose production. *Annu Rev Nutr*, 27:329–45.

- Wang, N.D., *et al.* 1995. Impaired energy homeostasis in C/EBP alpha knockout mice. *Science*, 26:1108–12.
- Wang, Q., *et al.* 2008. miR-17-92 cluster accelerates adipocyte differentiation by negatively regulating tumor-suppressor Rb2/p130. *Proc Natl Acad Sci*, 105:2889–94.
- Wang, P., *et al.* 2009. Generally detected proteins in comparative proteomics—a matter of cellular stress response? *Proteomics*, 9:2955–2966.
- Wang, P., *et al.* 2007. Absence of an adipogenic effect of rosiglitazone on mature 3T3-L1 adipocytes: increase of lipid catabolism and reduction of adipokine expression. *Diabetologia*, 50:654–665.
- Wellen, K.E. and Hotamisligil, G.S. 2005. Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 115:1111–9. 5
- Wilsie, L.C., *et al.* 2005. Cell surface heparan sulfate proteoglycans contribute to intracellular lipid accumulation in adipocytes. *Lipids Health Dis*, 4:2.
- Wolfgang, M.J. and Lane, M.D. 2006. Control of energy homeostasis: role of enzymes and intermediates of fatty acid metabolism in the central nervous system. *Annu Rev Nutr*, 26:23–44.
- Wright, G., *et al.* 2003. Activation of the prolyl hydroxylase oxygen-sensor results in induction of GLUT1, heme oxygenase-1, and nitric-oxide synthase proteins and confers protection from metabolic inhibition to cardiomyocytes. *J Biol Chem*, 278:20235–20239.
- Yeh, W.-C., *et al.* 1995. Cascade regulation of terminal adipocyte differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper proteins. *Genes Dev*, 9:168–81.
- Yoon, J.C., *et al.* 2001. Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature*, 413:131–8.
- Yun, Z., *et al.* 2002. Inhibition of PPAR gamma 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stra13: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. *Developmental Cell*, 2:331–41. 10.1016/S1534-5807(02)00131-4.
- Zhang, J.W., *et al.* 2004. Role of CREB in transcriptional regulation of CCAAT/enhancer-binding protein beta gene during adipogenesis. *J Biol Chem*, 279:4471–78.



Glosarium

- 3T3-L1 : garis sel yang berasal dari sel tikus yang digunakan dalam penelitian biologis adiposa
- α B kristalin : gen target di jalur persinyalan BMP, salah satu jenis protein sitoskeleton
- β -catenin : protein yang berkontribusi dalam perkembangan sel fisiologis
- ARF : ADP Ribosylation Factor 6, faktor yang berfungsi pada tahap awal penambahan vesikel selama rekrutmen protein pembungkus pada kompartemen membran sel.
- ARNT : *Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator 1*, gen yang mengkode protein yang membentuk kompleks dengan ikatan ligan aril hidrokarbon reseptor
- ADAMTS-2 : a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type I motif 2, gen yang memerintah pembuatan enzim yang memproses molekul prokolagen
- Adipsin : salah satu protein utama pada sel lemak

Adipositokin	: zat yang dikeluarkan oleh adiposit
Adipogenesis	: pembentukan adiposit (sel lemak)
Adipokin	: sitokin yang berkontribusi pada inflamasi sistemik
Adiposit	: sel lemak
Adiponektin	: salah satu jenis adipositokin yang dihasilkan jaringan lemak yang bersifat anti-inflamasi
Adrenokortikoid	: hormon steroid yang diproduksi oleh kelenjar adrenal bagian korteks
AKT	: protein kinase B, protein enzim yang menginaktivasi glikogen sintase kinase 3
Angiogenesis	: pembentukan pembuluh darah baru
Angiotensin	: hormon yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah sehingga tekanan darah naik
Anterior	: depan
AP-2 α	: <i>activator-protein 2α</i> , faktor transkripsi yang mengatur proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis
Apoptosis	: kematian sel secara terprogram yang terjadi secara normal
Asam retinoat	: senyawa metabolit vitamin A
Asam askorbat	: vitamin C
Aterosklerosis	: degenerasi pembuluh darah
ATP	: senyawa organik yang membawa energi tinggi
ATP-sintase	: protein enzim yang mengkatalis pembentukan ATP
Autokrin	: jenis komunikasi sel dengan sel itu sendiri
b-ZIP	: <i>basic region-leucine zipper</i> , faktor transkripsi yang meregulasi transkripsi
<i>Biglycan</i>	: protein yang mengikat lipoprotein di pembuluh darah

<i>Buffalo hump</i>	: penumpukan lemak terutama di bahu, bentuk menyerupai punuk kerbau
BMAL1	: Brain and Muscle ARNT-Like 1, protein di otot yang mengatur ritme sirkadian
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Protein</i> , sekumpulan hormon faktor pertumbuhan, protein yang memberikan sinyal pada dua jenis reseptor, yaitu BMP _{r1} dan BMP _{r2}
Bromodeoksiuridin	: analog nukleosida sintetis yang berguna pada proliferasi sel
C/EBP α	: CCAAT <i>enhancer binding protein</i> α , faktor transkripsi yang mengatur diferensiasi sel dan proliferasi sel
cAMP	: <i>cyclic adenosine monophosphate</i> , molekul berbentuk cincin yang terbuat dari ATP untuk persinyalan intraseluler
<i>Calreticulin</i>	: protein penting di retikulum endoplasma yang mengikat kalsium
CHOP10	: C/EBP <i>homologous protein</i> , faktor transkripsi di retikulum endoplasma yang menginduksi apoptosis dan infeksi mikroba
CpG	: <i>cytosine-guanine-rich oligonucleotide</i> , ikatan di mana daerah DNA nukleotida sitosin diikuti oleh nukleotida guanin
c-Myc	: gen yang menjadi pengatur utama metabolisme dan proliferasi sel
COL1A1	: <i>collagen type I alpha 1 chain</i> , gen yang mengkode komponen utama kolagen tipe 1, kolagen fibrilar yang ditemukan di jaringan ikat, termasuk tulang rawan
CREB	: cAMP-response element binding protein, protein intraseluler yang mengaktivasi gen transkripsi

DEC1/Stra13	: faktor transkripsi yang terlibat dalam proses inhibisi proliferasi seldan menunda siklus sel
Defisiensi	: kekurangan
Degradasi	: kerusakan
Deiodinase	: perubahan hormon tiroksin menjadi triiodotiroksin
<i>de novo</i> lipogenesis	: proses pembentukan asam lemak dari asetil koenzim A
Dimerisasi	: penggabungan dua molekul sejenis menjadi molekul yang lebih besar
Displasia	: pembentukan dan perkembangan sel yang tidak beraturan
DIPA	: <i>Delta Interacting Protein A</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i> , materi genetik penyimpan informasi genetik
DNase	: enzim ekstraseluler yang memotong DNA menjadi nukleotida yang dapat larut dalam asam, sedangkan DNA tidak larut dalam asam.
E2F	: faktor transkripsi
ECM	: matriks ekstraseluler
EDHB	: <i>Ethyl-3,4-Dihydroxybenzoate</i> , kofaktor penting dari enzim prolil hidroksilase
EGR2	: gen respons pertumbuhan awal
Endokrin	: komunikasi antarsel yang jaraknya jauh
Endopeptidase	: enzim pemecah protein yg memutuskan ikatan peptida yang berada di dalam rantai protein sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida
Epinefrina	: hormon yang diproduksi kelenjar adrenal
Estrogen	: hormone seks wanita yang dihasilkan oleh ovarium
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i> , suplemen pertumbuhan untuk merangsang pertumbuhan dalam

	: jumlah yang besar dari kultur jaringan sel
FFA	: <i>free fatty acid</i> , asam lemak yang berada sebagai asam bebas tidak terikat sebagai trigliserida
Fibrinolitik	: aksis di mana plasminogen diaktivasi menjadi produk aktif utama yaitu plasmin. Plasmin bekerja menghancurkan fibrin dan bekuan darah
Fibroblas	: sel yang membentuk matriks ekstraseluler, kolagen, dan kerangka struktural
Fibronektin	: protein ekstraseluler yang membantu sel melekat dengan matriks dan merupakan glikoprotein besar yang ditemukan dalam semua vertebrata
Fosforilasi	: penambahan gugus fosfat pada suatu protein atau molekul organik lain
Forskolin	: senyawa molekul nabati yang diekstraksi dari <i>Coleus forskohlii</i> pada keluarga mint
FOXC2	: <i>Forkhead box</i> protein C2, gen yang memerintah pembuatan protein
FOXO1	: <i>Forkhead box</i> protein O1, target intraseluler utama aksi insulin dan berkontribusi pada regulasi ekspresi gen glukoneogenik
Fusiformis	: bentuk tombak
Genom	: keseluruhan informasi genetik yang dimiliki suatu sel atau organisme
Glikogen	: cadangan glukosa yang digunakan sebagai energi
Glikogenolisis	: proses pemecahan glikogen untuk dapat memperoleh glukosa sebagai energi
Glikolisis	: proses pemecahan glukosa di mana glukosa dioksidasi menjadi molekul asam piruvat
Glikoprotein	: molekul protein yang terikat pada rantai pendek karbohidrat

Glikosilasi	: proses di mana glikus terikat pada protein, lipid, atau molekul organik lainnya
Gliserol	: komponen utama lemak dan minyak
Gliserol kinase	: enzim fosfotransferase yang terlibat dalam sintesis trigliserida dan gliserofosfolipid
Glisina	: salah satu asam amino yang mengandung protein
Glukokortikoid	: golongan hormon steroid yang disekresi kelenjar adrenal
Glukoneogenesis	: proses sintesis atau pembuatan glukosa dari senyawa non-karbohidrat di dalam tubuh
GLUT4	: <i>glucose transporter 4</i> , transporter glukosa yang diatur insulin yang ditemukan terutama di jaringan adiposa dan otot lurik (rangka dan jantung)
GSK-3 β	: glikogen sintase kinase-3 β , protein kinase yang aktivitasnya berkaitan dengan beberapa penyakit seperti diabetes mellitus.
GTP	: <i>Guanosine-5'-triphosphate</i> , senyawa yang yang diperlukan untuk sintesis RNA selama proses transkripsi
Hh	: <i>hedgehog</i> , salah satu jenis landak, salah satu pengatur utama perkembangan hewan
Haploinsufisiensi	: keadaan yang terjadi ketika makhluk diploid hanya memiliki satu gen, dari dua, yang berfungsi baik, Satu gen tersebut tidak dapat mencukupi pembuatan protein
HDAC3	: <i>Histone deacetylase 3</i> , memodulasi aktivitas transkripsi reseptor nukleus
HDL	: <i>high density lipoprotein</i> , salah satu golongan lipoprotein di mana kandungan protein lebih banyak dibanding lemak
Heparin sulfat	: salah satu komponen matriks ekstraseluler

Heterodimer	: sebuah molekul yang terdiri atas dua komponen yang berbeda, tetapi strukturnya bergabung erat
Heterodimerisasi	: dimerisasi dari dua subsatuan yang berbeda
Hidroksilasi	: proses kimia yang memasukkan gugus hidroksil ke dalam senyawa organik
Hidrolisis	: reaksi kimia yang mana H ₂ O (molekul dari air) akan diurai atau dipecah kedalam bentuk kation H ⁺ (Hidrogen) serta anion OH ⁻ (Hidroksida) melalui suatu proses kimiawi
HIF-1A	: <i>Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha</i> , protein sinyal yang dapat meregulasi gen protein lain
Hiperglikemia	: keadaan kadar gula darah melebihi batas normal
Hiperlipidemia	: tingginya kadar lipid atau lemak dalam darah, yang terdiri atas trigliserida dan kolesterol
Hipertrofi	: peningkatan ukuran volume organ atau jaringan karena pembesaran sel
Hiperplasia	: peningkatan jumlah sel
Hipotalamus	: bagian otak yang mengeluarkan zat kimia dalam bentuk hormon
Histone	: protein yang ditemukan pada inti sel eukariota yang terbungkus DNA, yang kemudian bersama DNA menyusun struktur nukleosom
<i>Hyperphosphorylation</i>	: keadaan ketika biokimia dengan banyak situs fosforilasi jenuh penuh
IGF1	: <i>insulin-like growth factor 1</i> , hormon polipeptida yang diproduksi di hati, memiliki struktur molekul yang sama dengan insulin

IL-6	: interleukin-6, sitokin protein yang berfungsi sebagai pembawa pesan yang mengaktifkan sistem kekebalan terhadap invasi asing dan dapat membantu melawan penyebaran kanker
Imunopresipitasi	: teknik pengendapan larutan antigen protein yang digunakan sebagai antibodi yang secara khusus mengikat protein tertentu
INSIG-2a	: <i>insulin induced gen 2</i> , protein pada manusia yang dikode oleh gen INSIG2
Insulin	: hormon yang dihasilkan pankreas untuk membantu penyerapan glukosa ke dalam sel
Interskapular	: antar skapula
<i>In vitro</i>	: prosedur perlakuan yang diberikan dalam lingkungan terkendali di luar organisme hidup
<i>In vivo</i>	: eksperimen menggunakan keseluruhan organisme hidup
Intramuskuler	: injeksi ke dalam otot tubuh
Irisin	: hormon yang diproduksi selama olahraga dan mampu membantu sel lemak putih berubah menjadi sel lemak coklat
IRS-1	: <i>serin reseptor insulin substrat-1</i> , protein yg dikode oleh gen IRS 1, berperan penting dalam jalur persinyalan insulin
Kapiler	: pembuluh darah kecil
Kartilago	: tulang rawan
Karotenoid	: pigmen yang terdapat dalam tumbuhan (wortel, beberapa jenis buah-buahan, dan sayur-sayuran terutama yang berwarna merah jingga) yang larut dalam lemak.
Kaskade	: deretan piranti yang bekerja berurutan satu setelah yang lain

Keratan sulfat	: glikosaminoglikan (sejenis polisakarida) yang membentuk matriks ekstraseluler di tulang rawan dan di kornea mata
Kinase	: enzim yang memotong gugus fosfat dari molekul donor berenergi tinggi, seperti ATP, menjadi suatu substrat spesifik
KLF5	: <i>Krueppel-like factor 5</i> , protein pengikat elemen transkripsi dasar
<i>Knockout</i>	: rekayasa genetika laboratorium tikus (<i>Mus musculus</i>) dengan gen spesifik yg tidak aktif, atau “tersingkir,” oleh pengenalan asing (buatan) DNA urut
Kolagen	: jenis protein berserat dan tak larut, memberi struktur dan kekuatan pada tulang, kulit, urat, dan jaringan ikat
Kolagenase	: enzim yang memutus ikatan peptida pada kolagen
Kondrosit	: sel tulang yang membentuk sel tulang rawan
Kondrogenesis	: pembentukan tulang rawan
Kondroitin sulfat	: senyawa glikosaminoglikan tersulfasi yang tersusun dari rantai gula yang saling bergantian
Kongenital	: kondisi medis tidak normal yang biasanya diturunkan pada saat atau sebelum kelahiran
Kromatin	: benang-benang halus yg terdapat inti sel yg mengandung materi genetis terdiri atas nukleoprotein
Krox20	: faktor pengatur transkripsi
Lamina basalis	: lapisan di bawah sel epitel
Laminin	: jenis glikoprotein berat molekul tinggi yang ditemukan dalam matriks ekstraseluler
Lateral	: ke pinggir, di sebelah sisi

LDL	: <i>low density lipoprotein</i> , membawa kolesterol dari organ hati ke sel-sel tubuh
Leptin	: hormon yang dibentuk sel lemak untuk mengendalikan nafsu makan
Leusin	: asam amino rantai cabang yang sangat penting untuk sintesis protein dan perbaikan otot
Lipid	: lemak
Lipoprotein lipase	: enzim ekstraseluler pada permukaan endotel vaskular yang memecah trigliserida di sirkulasi
Lipodistrofik	: kondisi abnormal atau degeneratif jaringan adiposa (lipoatrofi atau lipohipertrofi)
Lipogenesis	: pembentukan lemak/lipid
Lipolisis	: pemecahan lipid dan melibatkan hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas
Lipoprotein	: struktur biokimia yang berisi protein dan lemak
Lipotoksitas	: efek berbahaya dari akumulasi lemak pada jaringan perifer saat pasokan asam lemak memenuhi kapasitas jaringan adiposa menyebabkan kematian sel dan kegagalan sel beta
Lisil oksidase	: enzim yang mengkatalis pembentukan ikatan silang kolagen dalam memperkuat tulang dan jaringan ikat
Lobulus	: pembagian dari suatu organ
Lox	: lisil oksidase, salah satu jenis protein sitoskeleton
<i>Lumican</i>	: proteoglikan lain yang ditemukan dalam matriks tulang
Makrofag	: sel darah putih yang bekerja dengan cara menelan dan mencerna (fagositosis) kuman, dan sel yang rusak (pecah, mati, atau sekarat)

MAP kinase	: protein (substansi enzim yang mengalami fosfatase), yang berfungsi untuk menyampaikan informasi dari perifer ke sistem sentral
MMP	: sekelompok enzim Zinc yang memainkan peranan dalam perbaikan dan remodeling jaringan
Mesenkim	: jaringan ikat yang berfungsi untuk meghubungkan jaringan
Mesenterium	: organ yang menghubungkan usus dengan dinding perut bagian dalam
Metilasi	: reaksi penggantian suatu atom atau molekul dengan gugus metil
miRNA	: mikroRNA, kelompok nonkoding RNA sepanjang 22 nukleotida, yang mengatur gen target post-transkripsi seperti remodeling kromatin, proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis
Miogenesis	: pembentukan jaringan otot rangka, terutama selama perkembangan embrio
Miometrium	: lapisan tengah rahim yang tersusun oleh jaringan otot polos
Miosit	: sel otot
Mitogen	: senyawa organik yang berperan di dalam siklus sel sebagai stimulasi kelanjutan proses menuju mitosis
Mitokondria	: organel sel sebagai tempat terjadinya respirasi
Mitosis	: pembelahan sel yang menghasilkan dua sel anak dengan jumlah kromosom yang sama seperti sel induknya
Mutasi	: peristiwa berubahnya informasi yang terkandung dalam DNA

MSC	: <i>Mesenchimal Stem Cell</i> , sumber stem sel yang bersifat multipoten sehingga mampu berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel.
NADH	: Nikotinamida adenina dinukleotida, koenzim aktif dari vitamin B3 Niacin
Neurotransmitter	: senyawa kimia tubuh yang menyampaikan pesan dari sel saraf ke sel saraf target di otot
Nidogen	: protein yang berada di lamina basal
<i>Noggin</i>	: protein penghambat BMP
Norepinefrina	: senyawa kelompok katekolamin di tubuh dan otak sebagai neurotransmitter
Nukleus	: inti sel
Omentum	: lemak yang ada di perut
Osteosit	: sel tulang
Osteoblas	: jenis sel mesenkimal yang bertanggung jawab untuk pembentukan dan perkembangan tulang
Osteogenesis	: proses pembentukan tulang baru
PAI	: <i>inhibitor aktivator plasminogen</i> , protein yang pada manusia dikodekan oleh gen SERPINE1 yang berkaitan dengan trombosis dan aterosklerosis
PH, P4HA1	: enzim prolil hidrosilase, yang berperan dalam pembentukan kolagen dan diferensiasi preadiposit
Panikulus adiposus	: lapisan lemak dari jaringan subkutan
Parakrin	: komunikasi antarsel dalam jarak yang dekat
PDI	: Protein Disulfida Isomerase, enzim dalam retikulum endoplasma (ER) pada eukariota dan periplasma bakteri yang mengkatalisis pembentukan dan pemutusan ikatan disulfida antara residu sistein dalam protein

PGC1 α	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC)-1α</i> , faktor transkripsi yang berpartisipasi dalam mengontrol homeostasis glukosa
Peptida	: molekul yang terbentuk dari dua atau lebih asam amino
Peripilin	: komponen penting dari permukaan droplet lipid dan menahan aksi lipase trigliserida dalam kondisi basal
Peroksisom	: organel pada sel eukariota yang melakukan reaksi oksidatif
Piruvat	: senyawa hasil dari metabolisme glukosa
Plasmin	: protease serin yang berfungsi melarutkan fibrin bekuan darah
Pluripoten	: kemampuan sel berdiferensiasi menjadi salah satu lapisan tubuh (lapisan endoderm, mesoderm, atau ektoderm)
Polimerase	: enzim yang mengkatalisasi reaksi pembentukan DNA
Polipeptida	: polimer yang tersusun atas beberapa peptida
PPAR γ	: <i>Peroxisome- Proliferator Activated Receptor-γ</i> , sekelompok protein yang termasuk reseptor inti dalam metabolisme karbohidrat dan lipid
Proliferasi	: siklus pembelahan sel untuk memperbanyak diri
Prolina	: salah satu asam amino dasar
Progenitor	: sel yang mampu berdiferensiasi menjadi suatu jenis sel tertentu
Propidium iodida	: pewarna fluoresens untuk mewarnai inti sel dan kromosom
Prostaglandin	: senyawa berasal dari lemak, yang berfungsi seperti hormon, meningkatkan kontraksi uterus, menstimulasi pembekuan darah

Prostanoids	: derivat asam arakidonat yang dimetabolisme enzim siklooksigenase (COX)
Protease	: enzim yang menghidrolisis ikatan peptida pada molekul protein yang menghasilkan peptida atau asam amino
Proteoglikan	: protein yang merupakan komponen penting matriks ekstraseluler
Proteolitik	: degradasi protein
Redoks	: reaksi reduksi dan oksidasi di mana bilangan oksidasi atom akan berubah
Reseptor <i>G protein-coupled</i>	: protein pada membran sel yang mengikat zat ekstraseluler dan mentransmisikan sinyal dari zat tersebut ke protein G
Resistensi insulin	: keadaan yang ditandai dengan gangguan respons terhadap insulin di jaringan perifer
Retikulum endoplasma	: bagian sel yang merupakan kantung membran, bagian dari sistem endoplasmik
Retroperitoneal	: ruang anatomis di belakang peritoneum
Ribosom	: organel sel sebagai tempat sintesis protein
RNAi	: RNA interferensi, mekanisme sel hidup untuk mengendalikan aktivitas gen
Rosiglitazon	: obat anti-diabetes
RT-PCR	: <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i> , mengubah RNA menjadi DNA
RUNX2	: <i>runt-related transcription factor 2</i> , faktor transkripsi yang penting dalam osteoblas dan memainkan peran penting dalam mengatur kontrol fisiologis responsif gen skeletal
RXR	: <i>reseptor retinoid X</i> , yaitu jenis reseptor nuklir

Sentromerik	: bagian pada untaian DNA yang bertanggung jawab atas pergerakan kromosom yang telah tereplikasi
Septa	: pemisah
Seramid	: molekul lipid yang mengganggu ambilan glukosa yang dirangsang insulin
Serin	: asam amino penyusun protein
Siklin D1	: protein yang dikode oleh gen CCND1
Siklus TCA	: siklus asam trikarboksilat, tahap kedua dari tahapan respirasi sel, yang diawali dengan proses glikolisis (pemechan glukosa)
Sintesis	: proses pembentukan atau penyusunan
Sitokin	: salah satu protein yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh
Sitoplasma	: bagian cair pada sel untuk menopang berbagai organel sel
Sitoskeleton	: kerangka sel, merupakan suatu jaring berkas protein yang mengorganisasi sitoplasma dalam sel
Sitosol	: komponen sel di dalam sitoplasma yang berupa cairan
Smad-1, -5, -8	: protein, sebagai faktor transkripsi
SREBPs	: <i>Sterol Regulatory-Binding Protein</i> , faktor transkripsi yang mengikat urutan DNA elemen pengatur sterol
STAT	: <i>Signal transducers and activators of transcription</i> , faktor transkripsi yang berada di sitoplasma sel
Steatosis	: penumpukan lemak pada sel atau organ
Subkutan	: lapisan di bawah kulit
Substrat	: molekul yang bereaksi dengan enzim dalam suatu reaksi kimia dan molekul yang dihasilkan disebut produk
Sulfatase	: enzim dari kelas esterase yang mengkatalisis hidrolisis sulfat ester

TCF	: <i>T-Cell Factor</i> , faktor pertumbuhan yang merangsang produksi dan pengembangan sel-T
Termogenesis	: proses pembentukan panas
Termogenin	: protein transmembran pada lemak coklat
Tetraploid	: Bio organisme yang mempunyai empat pasang dasar kromosom
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i> , faktor pertumbuhan sel multipoten yang memengaruhi diferensiasi sel
TIMP	: <i>inhibitor jaringan metaloprotease, tissue inhibitors of matrix metalloproteinase</i> , glikoprotein penghambat jaringan metalloproteinase
Tiazolidindion	: obat diabetes yang dapat meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin
Tiroksin (T4)	: hormon yang dihasilkan kelenjar tiroid
TNF α	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alfa</i> , salah satu jenis sitokin yang terlibat dalam proses inflamasi
Tpt1	: salah satu jenis protein sitoskeleton
Transgenik	: organisme yang bahan genetiknya telah diubah menggunakan bioteknologi atau teknik rekayasa genetika
Transkripsi	: proses pencetakan RNA oleh DNA
Treonin	: salah satu asam amino esensial
Triasilgliserol	: = trigliserida = gliserida yang terbentuk dari esterifikasi di ketiga gugus hidroksil gliserol dengan asam lemak
Triiodotironin (T3)	: hormon yang dihasilkan kelenjar tiroid, yang memiliki aktivitas sepuluh kali lebih tinggi daripada tiroksin
Trigliserida	: salah satu jenis lemak dalam darah
Trofoblas	: sel utama pembentuk plasenta

Trombospondin	: golongan glikoprotein yang berperan dalam transduksi sinyal antara sel dengan sel, dan antara sel dengan matriks ekstraselular
t-PA	: aktivator plasminogen tipe jaringan
Ubikuitinasi	: proses penambahan protein ubikitin ke substrat protein
UCP-1	: <i>uncoupling protein 1</i> , protein yang mampu memediasi thermogenesis (pembentukan panas) pada tubuh
u-PA	: urokinase, urokinase, aktivator plasminogen yang berperan dalam migrasi dan remodeling sel
Vaskularisasi	: proses menjadi penuh dengan pembuluh darah
Vakuola	: organel sel yang berisi cairan yang dibatasi membran tunggal tonoplas
Vesikel	: organel kecil yang tertutup membran di dalam sel, mengandung berbagai jenis cairan
Viabilitas	: kemungkinan untuk dapat hidup
<i>Von Willebrand</i>	: protein yang merupakan salah satu dari beberapa komponen sistem koagulasi yang bekerja bersama dan secara berurutan, untuk menghentikan pendarahan di dalam tubuh
Zimogen	: enzim dalam bentuk yang belum aktif

ADIPOGENESIS

PERKEMBANGAN ADIPOSA
DARI SEL PUNCA HINGGA ADIPOSIT

