

JURNAL KEDOKTERAN DAN KESEHATAN

Efek Inhibitor Proteasom terhadap Histopatologi Arteri Koronaria pada Tikus Model Aterosklerosis

¹Ismawati, ²Ilhami Romus, ³Elfima Aditya Utami

¹KJF Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

²KJF Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

³Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

Jl. Diponegoro No.1, Pekanbaru, Riau, 28133

Email : ismawati75@yahoo.com, ilhamiromus@yahoo.co.id, elfimaaditya@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian sebelumnya menunjukkan peranan proteasom pada setiap tahap aterosklerosis yaitu tahap inisiasi, progresi dan komplikasi. Hal ini mendorong penelitian inhibitor proteasom sebagai terapi aterosklerosis dan bortezomib merupakan inhibitor proteasom yang pertama kali dikembangkan. Pada penelitian ini akan dianalisis efek pemberian inhibitor proteasom (bortezomib) terhadap pembentukan lesi aterosklerosis pada arteri koronaria tikus model aterosklerosis tahap progresi. Penelitian ini menggunakan 15 ekor tikus (*Rattus novergicus*) strain Wistar jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (I), kelompok aterosklerosis (II), dan kelompok aterosklerosis dengan pemberian bortezomib (III). Induksi aterosklerosis dilakukan dengan pemberian vitamin D3 (700.000 IU/kg) secara oral, dan dilanjutkan dengan diet aterogenik (kolesterol 2%, lemak kambing 5%, asam kolat 0,2 % dan diet standar 100%) selama 4 hari. Pemberian bortezomib dosis rendah (50 µg/kgBB) pada hari ke-1 dan ke-3 secara intraperitoneal. Penilaian lesi aterosklerosis dilakukan dengan sistem skoring. Hasil penelitian didapatkan skor lesi tertinggi pada kelompok model aterosklerosis dan adanya penurunan rerata skor lesi aterosklerosis pada kelompok aterosklerosis yang diberi bortezomib (0,70 vs 0,44, $p < 0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian bortezomib dapat menghambat pembentukan lesi aterosklerosis pada tahap progresi.

Kata kunci: Aterosklerosis, Bortezomib, Proteasom

ABSTRACT

Evidence that the role of proteasome at atherosclerosis cause release liability in order to develop proteasome inhibitor as atherosclerosis therapy and Bortezomib is the first-developed proteasome inhibitor. This study will analyze the effects of bortezomib on the formation of atherosclerotic lesions in the coronary arteries of rat atherosclerosis progression stage. This study used 15 rats (*Rattus novergicus*) of male Wistar strains which are divided into control groups (I), atherosclerosis group (II), and atherosclerosis group with bortezomib (III). Atherosclerosis induction was done by administering vitamin D3 (700,000 IU / kg) orally and followed by an atherogenic diet (2% cholesterol, 5% goat fat, 0.2% cholic acid and 100% standard diet) for 4 days. The administration of the lower doses of bortezomib (50 µg/weight) intraperitoneally is twice, i.e. in the 1st and 3rd day. Evaluation of atherosclerotic lesions using a scoring system. The results showed the highest lesion score in the atherosclerosis group and the decrease in the average score of atherosclerosis + bortezomib group (0.70 versus 0.44, $p < 0.05$). It was concluded that the administration of bortezomib inhibits the formation of lesions in the progression stage.

Keywords: Atherosclerosis, Bortezomib, Proteasome

Pendahuluan

Aterosklerosis merupakan salah satu penyebab utama terjadinya penyakit kardiovaskuler (PKV). Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2014, PKV menjadi penyebab kematian nomor satu di dunia dan diperkirakan 17,5 juta orang meninggal setiap tahunnya karena PKV. Di Indonesia, berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 sebanyak 1,5% penduduk Indonesia menderita PKV yang berupa penyakit jantung koroner.^{1,2}

Aterosklerosis merupakan proses inflamasi yang berdasarkan gejala klinisnya dibagi menjadi tahap inisiasi, tahap progresi dan tahap komplikasi.³ Aterosklerosis merupakan proses pembentukan plak yang berasal dari akumulasi lipoprotein, matrik ekstraselular, kalsium, dan otot polos pembuluh darah. Proses ini sering terjadi pada pembuluh darah dengan tekanan yang rendah sehingga memungkinkan terjadinya adhesi dari leukosit pada endotel dan akumulasi lipoprotein. Pembuluh darah dengan sifat seperti ini biasanya terletak pada daerah percabangan, dan daerah yang berbentuk melengkung atau kurva, seperti arteri karotis, arteri koroner, cabang-cabang dari aorta torakalis dan abdominal serta pembuluh tungkai bawah.⁴

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa terdapat peranan proteasom, suatu kompleks enzim, dalam proses aterosklerosis. Hal tersebut terkait dengan fungsi proteasom sebagai “mesin” degradasi protein selain lisosom pada sebagian besar protein intraseluler, sehingga proteasom memiliki peranan penting dalam regulasi proses seluler.⁵

Proteasom di dalam sel terdapat dalam 2 bentuk yaitu proteasom 20S (700 KDa) dan 26S (2000 KDa). Proteasom 26S terdiri atas proteasom 20S sebagai inti fungsionalnya yang menjalankan aktivitas katalitik, dengan tambahan kompleks regulator 19S. Proteasom berperan dalam pembelahan sel, pengaturan siklus sel, transduksi sinyal serta apoptosis. Peranan lain dari proteasom juga terkait dengan pengaturan kualitas protein melalui penghancuran protein yang rusak, teroksidasi dan salah konformasi. Proteasom dalam menjalankan fungsinya memerlukan energi berupa ATP serta ubiquitin sebagai pertanda substratnya.⁶ Mekanisme ini dikenal sebagai *Ubiquitin-Proteasome System* (UPS) yang merupakan jalur utama non-lisosomal untuk degradasi protein intraseluler.⁷ Proteasom berperan penting dalam setiap tahapan aterosklerosis, terlihat dengan adanya peningkatan ekspresi proteasom pada pembuluh darah terutama pada tahap progresi.⁸

Peranan proteasom dalam meregulasi proses seluler ini mendorong penelitian lebih lanjut menggunakan inhibitor proteasom. Penggunaan inhibitor proteasom secara *in vivo* bertujuan untuk mengetahui patofisiologi aterosklerosis serta peranan proteasom pada aterosklerosis.⁹ Bortezomib merupakan inhibitor proteasom yang pertama kali dikembangkan dan telah digunakan untuk terapi kanker sejak 2003.¹⁰ Herrman dkk pada penelitiannya tentang keterlibatan UPS dalam tahapan aterosklerosis menyatakan bahwa inhibitor proteasom dapat memiliki efek yang beragam, dapat menguntungkan atau merugikan tergantung pada dosis, durasi pemberian, serta jenis sel dan organ.⁵

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek inhibitor proteasom terhadap aterosklerosis. Tetapi masih terdapat perbedaan efek inhibitor proteasom tersebut terhadap aterosklerosis, ada yang menguntungkan ada yang merugikan.¹¹ Penelitian inhibitor proteasom bortezomib 50 µg/kg selama 6 minggu pada mencit LDLR -/- menekan terbentuknya lesi awal aterosklerosis.¹² Tetapi pemberian bortezomib dengan dosis yang sama pada mencit LDLR -/- dengan lesi aterosklerosis lanjut tidak memberikan efek terapi.¹³ Perbedaan ini kemungkinan akibat perbedaan respon organ, tahap aterosklerosis, tipe sel, cara pemberian dan dosis inhibitor proteasom yang digunakan terhadap aterosklerosis.¹¹ Oleh sebab itu penting untuk menganalisis efek bortezomib pada tahap aterosklerosis tertentu, dalam hal ini adalah tahap progresi.

Pemilihan hewan coba pada penelitian inhibitor proteasom juga menjadi perhatian guna mendapatkan hasil yang paling menyerupai keadaan yang sama pada manusia. Tikus putih menjadi salah satu pilihan yang baik karena didukung dari segi anatomi, fisiologi dan juga segi ekonomi. Tikus putih memiliki beberapa kelebihan yaitu mudah didapat, tidak membutuhkan perawatan khusus, bisa dengan berbagai jenis pangan, dan lebih murah dibandingkan penggunaan hewan coba lain. Tikus merupakan hewan yang resisten terhadap aterosklerosis namun hal ini bisa kita manipulasi dengan pemberian vitamin D3 bersamaan dengan diet tinggi lemak maka tikus dapat diinduksi aterosklerosis.⁸

Berdasarkan paparan diatas, maka penting dilaksanakan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui efek pemberian inhibitor proteasom terhadap pembentukan lesi aterosklerosis berdasarkan gambaran histopatologi arteri koronaria pada tikus model aterosklerosis tahap progresi.

Metode Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan surat keterangan lolos kaji etik oleh Panitia Tetap Etik Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau dengan nomor : 132/UN.19.5.1.1.8/UEPKK/2019. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test-only control group design*. Variabel bebas pada penelitian yaitu inhibitor proteasom (Bortezomib). Variabel terikat berupa gambaran histopatologi arteri koronaria. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Riau. Penelitian ini menggunakan 15 ekor tikus wistar jantan usia 10-12 minggu yang dibagi menjadi 3 kelompok, kelompok I sebagai kelompok kontrol diberi pakan standar secara *ad libitum*, kelompok II merupakan kelompok aterosklerosis dan kelompok III merupakan kelompok aterosklerosis dan diberi bortezomib.

Induksi aterosklerosis dilakukan dengan pemberian vitamin D3 diiringi pakan aterogenik. Vitamin D3 (700.000 IU/kg) diberikan pada hari pertama secara oral melalui intubasi lambung. Pakan aterogenik dengan komposisi kolesterol 2%, lemak kambing 5%, asam kolat 0,2 % dan diet standar sampai dengan 100% diberikan selama 4 hari.

Bortezomib (50 µg/kgBB) diberikan secara intraperitoneal sebanyak dua kali pemberian, yaitu di hari ke-1 dan ke-3.

Hewan coba dimatikan pada hari ke-4 untuk diambil organ jantungnya. Sebelum dimatikan, tikus dimasukkan ke dalam wadah yang telah berisi uap eter jenuh 3-5 cc. Kemudian dilakukan pembuatan sediaan. Pembuatan sediaan mikroskopis pada penelitian ini menggunakan teknik pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE). Penilaian aterosklerosis berdasarkan histopatologi pembuluh darah dengan menggunakan skor sebagai berikut: skor 0 (normal), skor 1: makrofag dan sel busa, skor 2: proliferasi otot polos, infiltrasi lipid medial dan fibrosis/kalsifikasi, skor 3: terdapat defek permukaan berupa fisura, ulseratif, hematoma, dan trombus.⁸ Penilaian sediaan mikroskopik dilakukan oleh ahli patologi anatomi dengan mikroskop cahaya pada 9 lapangan pandang dengan pembesaran 400x. Setiap sediaan mikroskopik skornya dijumlahkan dan dihitung reratanya. Uji ANOVA digunakan untuk menganalisis perbedaan antar kelompok perlakuan.

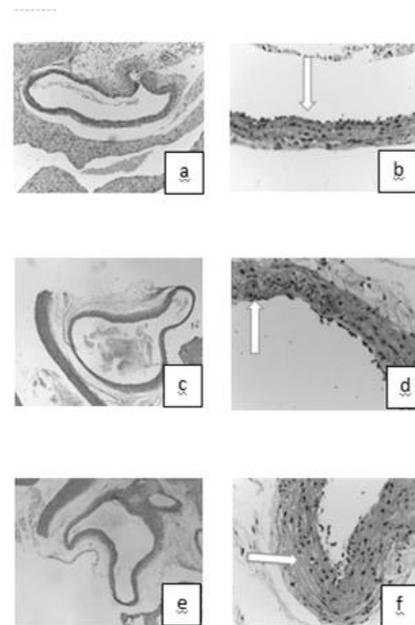
Hasil

Hasil pengamatan histopatologi arteri koronaria menunjukkan bahwa skor aterosklerosis yang tertinggi terdapat pada kelompok II (aterosklerosis), sedangkan yang terendah terdapat pada kelompok I (kontrol). Pemberian bortezomib 50 µg/kgBB /hari pada hari ke-1 dan ke-3 dapat menghambat pembentukan lesi aterosklerosis secara bermakna (tabel 1).

Tabel 1. Rerata skor gambaran histopatologis arteri koronaria

No.	Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III
1	0,00	0,55	0,22
2	0,00	0,77	0,44
3	0,00	0,66	0,66
4	0,22	0,88	0,44
5	0,00	0,66	0,44
Rata-rata± SD	0,04±0,98	0,70±0,125 _{a,b}	0,44±0,155

Keterangan: ^a= p<0,05 II vs I, ^b=p<0,05 II vs III



Gambar 1. Gambaran histopatologi arteri koronaria (pewarnaan HE, a,c,e: perbesaran 100x; b,d,f: perbesaran 400x). (a),(b): kelompok I, lapisan endotel normal; (c),(d): kelompok II, terdapat kalsifikasi; (e),(f): kelompok III, terdapat sel busa

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada jaringan kelompok kontrol, didapatkan hasil rerata skor histopatologis yaitu sebesar 0,04 (tabel 1), dengan gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria sebagai berikut (Gambar 1 (a), (b)). Gambar 1 (d) menunjukkan adanya kalsifikasi pada lapisan tunika media pada kelompok tikus aterosklerosis (skor 2). Kelompok aterosklerosis+bortezomib juga masih

ditemukan adanya lesi berupa sel busa (skor 1) (Gambar 1(f)). Meskipun demikian, dibandingkan dengan kelompok II, pada kelompok III ini terjadi penurunan nilai rerata skor lesi aterosklerosis.

Pembahasan

Pada penelitian ini induksi aterosklerosis yang dilakukan pada kelompok II berhasil mendapatkan model aterosklerosis yang diinginkan. Hal ini dapat dilihat dengan adanya gambaran berupa makrofag, sel busa, proliferasi otot polos, serta infiltrasi lipid pada intrasel otot polos. Gambaran tersebut menunjukkan kondisi pembuluh darah pada tahap progresi (skor 2).

Induksi aterosklerosis pada penelitian ini dilakukan dengan pemberian vitamin D3 dan diet aterogenik. Vitamin D3 berperan untuk meningkatkan kalsifikasi pada pembuluh darah dan menstimulasi proliferasi sel otot polos pembuluh darah, sedangkan pemberian diet aterogenik menyebabkan terjadinya peningkatan LDL dan penurunan HDL. Kandungan kolesterol dan lemak kambing pada pakan aterogenik menghasilkan kondisi hiperkolesterolemia yang meningkatkan produksi LDL, sedangkan asam kolat berfungsi untuk mengubah gambaran lipoprotein agar lebih aterogenik dengan menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL. Adanya peningkatan LDL akan memengaruhi terbentuknya LDL teroksidasi yang dapat memicu terjadinya kerusakan endotel. Kondisi ini menjadi awal terjadinya lesi aterosklerosis.⁸

Selain kandungan dalam pakan aterogenik, lama durasi pemberian diet aterogenik juga memengaruhi tahapan

pembentukan lesi aterosklerosis. Penelitian ini menggunakan model induksi aterosklerosis yang dikembangkan oleh Ismawati *et al* (2016) terhadap hewan coba jenis yang sama diberikan diet aterogenik dengan durasi selama 4 hari menghasilkan gambaran lesi sel busa, proliferasi otot polos, dan kalsifikasi. Gambaran tersebut menunjukkan lesi berada pada tahap progresi.⁸ Pada model aterosklerosis ini durasi induksi diet aterogenik memerlukan waktu yang lebih singkat dibandingkan penelitian lain. Penelitian yang dilakukan Li *et al* (2011) pada tikus yang diinduksi diet aterogenik selama 15 minggu menunjukkan gambaran berupa sel busa, proliferasi sel otot polos, dan kalsifikasi. Selain itu, penelitian oleh Zhen *et al* (2016) yang dilakukan diet selama 4 minggu pada hewan coba yang sama menunjukkan gambaran pada aorta tikus berupa sel busa dengan infiltrasi sel otot polos.¹⁴ Kedua penelitian tersebut menunjukkan gambaran lesi pada tahap progresi. Perbedaan durasi dari pembentukan lesi aterosklerosis ini dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya dapat terjadi karena pengaruh dari komposisi diet aterogenik yang diberikan, jenis hewan coba, serta proses pemberian diet yang dilakukan.^{14,15,16}

Kelompok kontrol pada penelitian ini seharusnya tidak memiliki lesi aterosklerosis, demikian juga dengan adanya perbedaan hasil rerata skor lesi pada kelompok aterosklerosis. Hal ini dapat terjadi karena aterosklerosis merupakan proses yang kompleks, banyak faktor yang dapat memengaruhi terjadinya proses terbentuknya lesi. Faktor tersebut antara lain dislipidemia, pola hidup, umur, jenis kelamin, dan infeksi yang dapat memicu

terjadinya aterosklerosis. Pada penelitian ini faktor infeksi, pengaruh umur, dan jenis kelamin dapat dihilangkan karena hewan coba yang digunakan sebelumnya sudah dipastikan dalam keadaan sehat, berada dalam rentang usia yang sama dan berjenis kelamin jantan.¹⁷

Pada kelompok aterosklerosis+bortezomib (kelompok III) menunjukkan rerata skor lesi yang lebih rendah dibandingkan kelompok tikus model aterosklerosis (0,704). Hasil uji statistik menunjukkan penurunan rerata lesi yang perbedaannya bermakna ($p=0,001$). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Wilck *et al* (2012) yang menunjukkan inhibitor proteasom dosis rendah memiliki efek antioksidan, anti-inflamasi, serta mengurangi pembentukan lesi aterosklerosis.¹⁸ Selain itu, penelitian yang dilakukan Herck *et al* (2010) pada tikus dengan diet tinggi lemak dan karbohidrat yang diberikan bortezomib dosis rendah selama 4 minggu menunjukkan hasil penurunan yang signifikan dari pembentukan sel otot polos dan makrofag walaupun tanpa perubahan ukuran plak yang bermakna. Namun adanya penurunan dua jenis sel tersebut menunjukkan bahwa adanya pengaruh penghambatan dari kerja proteasom terhadap proses aterosklerosis.¹⁹

Inhibitor proteasom dalam tahapan progresi memiliki kontribusi untuk menghambat pembentukan sel busa. Selain itu, inhibitor proteasom juga menghambat transformasi, proliferasi, serta migrasi sel otot polos pembuluh darah. Mekanisme proteasom dalam pembentukan sel busa yaitu dengan cara mensupresi apoptosis makrofag yang mengandung lipid oleh LDL yang teragregasi (agLDL). Hal tersebut terjadi karena ekspresi

enzim konjugasi ubiquitin E2-25K dan degradasi p53 oleh proteasom. Sel otot polos pada tahapan progresi mengalami perubahan dari fenotip kontraktile menjadi metabolik yang dipengaruhi oleh peningkatan degradasi miokardin akibat peningkatan aktivitas proteasom. Miokardin merupakan protein yang berperan untuk ekspresi gen sel otot polos fenotip kontraktile. Selain itu, proliferasi sel otot polos terjadi karena peningkatan degradasi *cyclin* p21 oleh proteasom. Kontribusi proteasom yang juga penting pada tahapan progresi yaitu aktivasi NF- κ B yang memperantarai migrasi sel otot polos dari tunika media ke tunika intima.⁵

Dalam penelitian Stangl dan Stangl (2010) menyampaikan bahwa efek terapi inhibitor proteasom pada aterosklerosis dipengaruhi oleh tahapan perkembangan aterosklerosis.²⁰ Tahapan yang potensial untuk dilakukan intervensi oleh bortezomib adalah tahapan progresi, dengan pertimbangan penelitian Ismawati *et al* (2016) menunjukkan ekspresi tertinggi proteasom pada pembuluh darah saat aterosklerosis berada pada tahap progresi.⁸

Penelitian terkait penggunaan inhibitor proteasom lebih berkembang pada pengobatan untuk kanker, sedangkan efek bortezomib pada aterosklerosis masih belum banyak diteliti. Walaupun diduga ada beberapa risiko efek samping kardiovaskular pada kelompok berisiko ketika inhibitor proteasom diterapkan sebagai pengobatan kanker secara intermiten selama beberapa minggu, telah diusulkan bahwa inhibitor proteasom mungkin memiliki efek menguntungkan karena sifat anti-

inflamasinya.²¹ Penelitian yang dilakukan oleh Wilck dkk mengenai efek pemberian dosis rendah bortezomib menunjukkan hasil yang berbeda. Penelitian mengenai efek inhibitor proteasom pada tahap lanjut aterosklerosis dilakukan oleh Wilck *et al* menunjukkan bahwa pemberian bortezomib dosis 50 µg/kg selama 6 minggu pada mencit LDLR -/- dengan lesi aterosklerosis lanjut (tahap komplikasi) tidak memberikan efek terapi.¹³ Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan model hewan coba yang digunakan dan perbedaan tahap aterosklerosisnya.

Hasil tersebut memberikan bukti kuat pengaruh tahapan aterosklerosis pada efektifitas inhibitor proteasom dan pengaruh pemberian dosis rendah pada penggunaan inhibitor proteasom. Tetapi penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu belum dapat menjelaskan mekanisme kerja bortezomib dalam mencegah terjadinya aterosklerosis.

Kesimpulan dan Saran

Pemberian inhibitor proteasom, bortezomib, 50 µg/kgBB dapat menghambat pembentukan lesi aterosklerosis pada arteri koronaria tikus model aterosklerosis tahap progresi. Skor lesi tertinggi pada kelompok model aterosklerosis dan adanya penurunan rerata skor lesi kelompok aterosklerosis+bortezomib (0,70 versus 0,44, $p < 0,05$). Meskipun demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menjelaskan mekanisme kerja inhibitor proteasom dalam menghambat aterosklerosis tahap progresi.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. Global Status Report On Noncommunicable Diseases 2014. World Health Organization. 2014.
2. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hasil utama Riset Kesehatan Dasar. 2018.
3. Dąbek J, Kułach A, Gąsior Z. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB): A new potential therapeutic target in atherosclerosis? *Pharmacological Reports*. 2010;62(5):778–83.
4. Sargowo D. Patogenesis Aterosklerosis. UB Press. 2015. 82–83
5. Herrmann J, Lerman LO, Lerman A. On to the Road to Degradation: Atherosclerosis and the Proteasome. *Cardiovascular Research*. 2010;85(2):291–302.
6. Murray R. Biokimia harper. 29 ed. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2014.
7. Powell SR, Herrmann J, Lerman A, Patterson C, Wang X. The ubiquitin-proteasome system and cardiovascular disease. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2012;109:295–346.
8. Ismawati, Oenzil F, Yanwirasti, Yerizel E. Changes in expression of proteasome in rats at different stages of atherosclerosis. *Anatomy & Cell Biology* [Internet]. 2016;49(2):99. Tersedia pada: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5115/acb.2016.49.2.99>
9. Wang F, Lerman A, Herrmann J. Dysfunction of the ubiquitin-proteasome system in atherosclerotic cardiovascular

- disease. *American Journal of Cardiovascular Disease*. 2015;5(1):83–100.
10. Eldridge AG, O'Brien T. Therapeutic strategies within the ubiquitin proteasome system. *Cell Death & Differentiation*. 2010;17(1):4–13.
 11. Wilck N, Ludwig A. Targeting the ubiquitin-proteasome system in atherosclerosis: Status Quo, challenges, and perspectives. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2014;21:2344-63.
 12. Wilck N, Fechner M, Dreger H, Hewing B, Arias A, Meiners S, et al. Attenuation of early atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by proteasome inhibition. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2012;32(6):1418–26.
 13. Wilck N, Fechner M, Dan C, Stangl V, Stangl K, Ludwig A. The effect of low-dose proteasome inhibition on pre-existing atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(4).
 14. Liu Z, Chen T, Niu H, Ren W, Li X, Cui L, et al. The establishment and characteristics of rat model of atherosclerosis induced by hyperuricemia. *Stem Cells International*. 2016.
 15. Ismawati, Oenzil F, Yanwirasti, Yerizel E. Analisis konsentrasi low density lipoprotein teroksidasi serum pada tahapan aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2017;29(2017).
 16. Li J, Chen CX, Shen YH. Effects of total glucosides from paeony (*paeonia lactiflora* Pall) roots on experimental atherosclerosis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;135(2):469–75.
 17. Kurniati NF, Nurfatwa M, Anita A. Macrophage activity increases in hypercholesterolemia rat aorta. *Majalah Kedokteran Bandung*. 2018;50(36):13–20.
 18. Wilck N, Fechner M, Dreger H, Hewing B, Arias A, Meiners S, et al. Attenuation of early atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by proteasome inhibition. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. Juni 2012;32(6):1418–26.
 19. Van Herck JL, De Meyer GRY, Martinet W, Bult H, Vrints CJ, Herman AG. Proteasome inhibitor bortezomib promotes a rupture-prone plaque phenotype in ApoE-deficient mice. *Basic Research in Cardiology*. 2010;105(1):39–50.
 20. Stangl K, Stangl V. The ubiquitin-proteasome pathway and endothelial (dys)function. *Cardiovascular Research*. 2010;85(2):281–90.
 21. Shukla SK, Rafiq K. Proteasome biology and therapeutics in cardiac diseases. *Translational Research*. 2019;205:64–76.