

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit ginjal diabetik (PGD) merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia termasuk Indonesia. Penyakit ginjal diabetik adalah salah satu komplikasi diabetes melitus (DM) yang sering yaitu sekitar 55% pasien dengan DM akan berkembang menjadi PGD. PGD ditandai dengan adanya albuminuria menetap pada minimal dua kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3 sampai 6 bulan, dimana bukti klinis paling dini dari penyakit ginjal diabetik adalah mikroalbuminuria (30 – 299mg/24 jam). Penyakit ginjal diabetik dapat disertai peningkatan tekanan darah dan menurunnya laju filtrasi glomerulus (LFG) yang progresif. Penyakit ginjal diabetik dapat berakhir sebagai penyakit ginjal tahap akhir yaitu berkisar 40 - 65% dan menyebabkan pasien mendapatkan terapi pengganti ginjal.^{1,2}

Menurut *World Health Organization* (WHO) 2016 prevalensi diabetes melitus akan meningkat di seluruh dunia pada milenium ketiga ini, termasuk di negara Asia Tenggara, diantaranya Indonesia. Data dari WHO pada 54 negara, sekitar 80% kasus penyakit ginjal kronik (PGK) yang disebabkan oleh DM, hipertensi atau kombinasi keduanya. Untuk prevalensi PGD mempunyai rata-rata 55%. Insidensi PGK 10 kali lebih tinggi pada pasien dengan DM dibanding tanpa DM. Gheit *et al* (2016) dalam studi prevalensi mendapatkan bahwa diabetes melitus mengambil peran sebesar 40-65% sebagai penyebab utama stadium akhir penyakit ginjal kronik (PGK) di Amerika Serikat, Jepang dan Eropa. *Microalbuminuria Prevalence Study* (MAPS) (2005) yang meneliti prevalensi PGD dengan penanda mikroalbuminuria di 10 negara Asia

mendapatkan prevalensi PGD 48,6%. Prevalensi PGD di Thailand dilaporkan sebesar 43%, di Filipina sebesar 30,7%, Singapura 48% dan Indonesia 36%. *Indonesian renal registry* (IRR) tahun 2015 mendapatkan data bahwa DM menjadi etiologi terbesar kedua sebanyak 25% setelah hipertensi. Data IRR pada tahun 2018 mencatat terjadi peningkatan angka PGK yang disebabkan oleh DM yaitu sebanyak 28% dan tetap penyebab kedua terbanyak PGK setelah hipertensi. IRR juga mendapatkan data kejadian PGD di Sumatera Barat dengan persentase 28,6% dari semua kejadian PGK dan semua kejadian PGK yang terdaftar pada unit dialisa.^{5,6,8,55}

Data dari Amerika Serikat menyatakan bahwa pasien penyakit ginjal tahap akhir yang menjalani terapi pengganti ginjal yang disebabkan oleh PGD, morbiditasnya 2 – 3 kali lebih tinggi dibanding PGK non diabetikum. Prognosis yang buruk akan muncul apabila terjadi progresi PGD dan memburuknya fungsi ginjal yang cepat sehingga menyebabkan mortalitas 70% lebih tinggi dari pada populasi normal.⁸

Patogenesis terjadinya PGD diawali dengan kondisi hiperglikemia kronis yang mengaktifkan jalur metabolik, peningkatan produksi sitokin proinflamasi dan aktivasi jalur hemodinamik. Jalur metabolik akibat hiperglikemia kronis akan menyebabkan glikosilasi non enzimatis yang menyebabkan peningkatan dan penumpukan *advanced glycation ends products* (AGEs). Selain itu terjadi juga aktivasi jalur *diacylglycerol* (DAG) dan *protein kinase C* (PKC) yang secara patogenik menyebabkan peningkatan produksi *endothelial nitric oxide synthetase* (eNOS), *endotelin - 1* (ET-1), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *transforming growth factor β* (TGF- β), *plasminogen activator inhibitor 1* (PAI-1) dan *nuclear factor kappa B* (NF- κ B). Akibat

dari jalur metabolik dan produksi mediator inflamasi tersebut menyebabkan gangguan pada glomerulus dan tubulus yang akan berakhir kepada penurunan laju filtrasi glomerulus dan proteinuria.¹¹

Hiperglikemia memasuki sel glomerulus difasilitasi oleh *glucose transporter* (GLUT), yang mengakibatkan aktivasi beberapa mekanisme seperti *polyol diacyl glycerol*, *hexosamine pathway*, dan PKC, dan penumpukan zat yang disebut sebagai *advanced glycation end-products* (AGEs) di sel-sel mesangial. Aktivitas molekuler zat-zat ini juga mengaktifkan jalur *mitogen activated protein kinase* (MAPK). Aktivasi PKC dan MAPK lebih lanjut mengaktifkan TGF- β yang mana aktivitas TGF- β merangsang ekspresi protein *extra cellular matrix* (ECM) yang mengekspansi ke jaringan mesangium glomerular. Berbagai proses di atas berperan dalam terbentuknya nefropati pada pasien DM akan tetapi juga dalam progresifitasnya menuju penyakit ginjal tahap akhir.²²

Selain aktivitas jalur metabolik dan hemodinamik, stres oksidatif diketahui merupakan bagian penting dari patogenesis PGD. Stres oksidatif berkembang dari ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan, radikal bebas meningkat karena disfungsi mitokondria yang biasanya terjadi pada diabetes melitus. Hiperglikemia *postprandial* pada diabetes melitus akan menyebabkan overproduksi *reactive oxygen species* (ROS) yang mana akan berdampak pada kerusakan endotel dan vaskuler. Stres oksidatif (SO) berperan dalam glomerulosklerosis dan fibrosis tubuluslointerstitial pada PGD. Rodriguez *et al* (2012) mengemukakan bahwa terdapat

hubungan langsung antara beratnya kerusakan ginjal dengan derajat stress oksidatif pada penyakit ginjal diabetes.^{4,7,9}

Hermanides *et al* (2010) mengemukakan bahwa stress oksidatif lebih tinggi pada kondisi glukosa darah yang berfluktuasi. Monnier L *et al* (2010) mendapatkan hasil penelitian bahwa stress oksidatif yang terjadi pada pasien DM tipe 2 sebanding dengan indeks *mean amplitude glucose excursion* (MAGE). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa stress oksidatif berkorelasi positif kuat dengan indeks MAGE, tetapi tidak berkorelasi dengan HbA1C.^{12,13}

Zeng F *et al* (2010) dalam studi *in vitro* menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia yang intermiten akan menyebabkan apoptosis sel endotel vaskuler melalui overproduksi superoksida mitokondria. Studi *in vivo* telah dilakukan menggunakan monitoring glukosa berkelanjutan yang menggambarkan penilaian fluktuasi glukosa darah. Beberapa kondisi lainnya yang dapat menginduksi stress oksidatif pada ginjal antara lain hipertensi, sindrom metabolik, dislipidemia, infeksi akut, merokok dan mengkonsumsi alkohol. Lebih lanjut Zeng F *et al* (2010) melakukan penelitian pada pasien DM tipe 2 yang baru dikenal dan pasien dengan toleransi glukosa tertangu. Penelitian ini mendapatkan hasil bahwa fluktuasi glukosa yang terjadi akan memicu aktivasi stress oksidatif. Metabolisme glukosa yang berlebihan akan menghasilkan radikal bebas. Pada kondisi normal di dalam tubuh terjadi keseimbangan antara produksi radikal bebas yang berperan sebagai oksidan dengan antioksidan. Beberapa contoh radikal bebas adalah anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil, *nitric oxide* (NO^\cdot) dan hidrogen peroksida (H_2O_2).¹¹

Meningkatnya stres oksidatif akibat hiperglikemia kronis pada pasien diabetes melitus mengakibatkan aktifnya beberapa mediator yang terlibat dalam patogenesis penyakit ginjal diabetik diantaranya *mitogen activated protein kinase* (MAPK), *extracellular signal-regulated protein kinase* (ERK), *nuclear factor- κ B* (NF- κ B), dan *protein kinase C* (PKC). Mediator-mediator terlibat dalam proses inflamasi, fibrosis, disfungsi endotel dan apoptosis sel di glomerulus ginjal.¹⁴

Greg *et al* (2016) mengidentifikasi *Apoptosis signal-regulating kinase 1* (ASK1)/MAP3K5 sebagai *upstream signaling kinase* dari p38 MAPK dan c-Jun N-terminal kinase (JNK). Penting bahwa, ASK1 diaktifkan hanya dalam keadaan patologis, sehingga dapat menjadi target baru dalam proses patologis dari jalur pensinyalan p38 MAPK dan JNK hilir. Studi pada model hewan dengan penyakit ginjal telah menunjukkan bahwa defisiensi genetik atau penghambatan selektif ASK1 mengurangi aktivasi p38 MAPK dan JNK. Studi *in vitro* pada sel ASK1^{-/-} ginjal menunjukkan bahwa ASK1 mengaktifkan p38 MAPK yang diinduksi oleh stres oksidatif tetapi tidak diinduksi oleh sistem imun bawaan.¹⁴

Jonte T lille *et al* (2018) mendefinisikan ASK1 sebagai kinase sensitif redoks yang berfungsi pada puncak jalur pensinyalan stres oksidatif yang mengaktifkan lengan p38 dan JNK dari jalur MAPK. ASK1 diaktifkan sebagai respons terhadap H₂O₂, *tumor necrosis factor* (TNF- α) dan Fas melalui mekanisme yang berbeda dan menyampaikan sinyal tersebut kepada MAPK. Ekspresi alel tipe aktif atau teraktivasi dari ASK1 mengaktifkan JNK dan p38 dan menginduksi apoptosis sel melalui aktivasi caspase.²

Hiperglikemia dan stres oksidatif menginduksi sekresi berbagai zat aktif biologis termasuk adipokin seperti TNF- α dan interleukin 6. TNF- α mendorong fosforilasi I *kappa B* kinase (IKK) sehingga menginduksi aktivasi *nuclear factor- κ B* (NF- κ B). Sitokin lain seperti interleukin-6 menginduksi *signal transducer and activator of transcription* (STAT3) melalui jalur Jak1/2. Aktivasi NF- κ B dan STAT3 di dalam nukleus menyebabkan produksi sitokin proinflamasi, sehingga memperburuk inflamasi pada diabetes.²¹

Hidenori Ichijo *et al* (1997) meneliti apakah perlakuan sel dengan TNF- α dapat mengaktifkan ASK1. Terbukti bahwa perlakuan sel dengan TNF- α dapat mengaktifkan ASK1. Selain itu, ASK1 endogen juga diaktifkan oleh TNF- α pada berbagai sel di mana apoptosis diinduksi oleh TNF- α , termasuk sel-sel ginjal manusia. Hidenori Ichijo *et al* menunjukkan bahwa sitokin proinflamasi dapat mengaktifkan ASK1, yang berkontribusi terhadap apoptosis seluler, yaitu dengan mengaktifkan jalur pensinyalan *stress activated protein kinase* (SAPK) dan MKK3/MAPKK6 p38. Jalur pensinyalan SAPK dan p38 keduanya sangat diperlukan untuk apoptosis sel.¹⁵

Mikroalbuminuria merupakan baku emas untuk mendiagnosis terjadinya penyakit ginjal diabetes. Terdapat tiga komponen yang menjadi barrier filtrasi glomerulus yaitu podosit, sel endotel kapiler dan membran basalis glomerulus. Bukti klinis paling dini dari penyakit ginjal diabetik adalah mikroalbuminuria (30 – 299 mg/24jam atau 20 – 199 μ g/l) yang disebut dengan *insipient nephropaty*. Tanpa intervensi khusus ekskresi albumin akan meningkat sebesar 10 -20% pertahun sehingga akan menjadi *overt nephropaty* (> 300mg/24jam atau > 200 μ g/l) dalam waktu 10 – 15

tahun. Bila *overt nephropaty* telah terjadi tanpa intervensi khusus, laju filtrasi glomerulus akan menurun secara bertahap dalam beberapa tahun dengan variasi berbeda antar individu (2 – 20ml/tahun) yang akan berakhir dengan penyakit ginjal tahap akhir.¹⁶

Penyakit ginjal diabetes terjadi kelainan pada glomerular maupun tubular yang akan menyebabkan terjadinya albuminuria. Kelainan di glomerulus dapat ditemukan di membran basalis, podosit, dan endotel kapiler. Pada membran basalis glomerulus terjadi penebalan dan terjadi penumpukan ECM yang mengakibatkan permeabilitasnya meningkat dan terjadi albuminuria. Pada sel mesangial terjadi peningkatan ukuran sel mesangial dan peningkatan ECM di mesangial sehingga menyebabkan terjadinya ekspansi mesangial disertai penebalan membran basalis glomurus. Hal ini akan menyebabkan peningkatan permeabilitas di glomerulus dan menyebabkan albuminuria^{16,17,18}

Cedera pada podosit terjadi *loss podocyte* dimana podosit terlepas dari membran basalis. Kerusakan podosit dapat terjadi karena disfungsi adesi, penurunan densitas podosit, dan apoptosis sel akibat stress oksidatif. Telah banyak studi menghasilkan informasi bahwa podosit glomerulus sebagai pemain kunci dalam patogenesis PGD. Studi biopsi pada manusia telah memberikan bukti bahwa cedera podosit baik fungsional dan struktural sudah terjadi pada fase sangat awal dari PGD. Podosit yang terdapat pada glomerulus juga akan mengalami transisi menjadi podosit yang akan menyebabkan disfungsi dan pelepasan podosit proses ini disebut *Epithel Membran transition* (EMT). Aktivitas dari EMT menyebabkan kerusakan podosit, penurunan

densitas podosit, apoptosis podosit dan podosit *detachment*. Proses-proses tersebut akan menyebabkan perubahan pada *foot processes* pada *slit diaphragma* podosit sehingga akan terjadi albuminuria.^{17,20,56}

Beberapa protein yang menggambarkan kondisi podosit, seperti nefrin urin, *synaptopodin*, *podocalixin* dan *podocin* mengalami peningkatan eksresi pada pasien PGD. Marker *podocalyxin* urin memiliki spesifisitas yang rendah karena protein ini juga diekspresikan oleh sel endotel, sel epitel parietal dan beberapa sel nonrenal seperti trombosit dan sel induk hemopoetik. Protein nefrin spesifik terdapat di podosit, nefrin merupakan bagian penting pada *slit diaphragma* podosit. Nefrin adalah protein transmembran yang berlokasi di *slit diaphragma*, terdiri atas 1.241 asam amino dengan berat molekul 185-200kDa. Protein ini berperan dalam adesi sel dengan sel matriks. Nefrin berinteraksi dengan jalur sinyal untuk mempertahankan integritas podosit. Pada PGD terjadi *downregulation* dari nefrin yang memiliki sifat antiapoptosis. Nefrin yang terlepas akan keluar melalui urin sehingga dapat dideteksi pada urin pasien.^{48,49}

Wang G *et al* (2007) menemukan bahwa ekspresi nefrin, *synaptopodin* dan *podocin* urin meningkat pada pasien DM dibandingkan kontrol, tetapi hanya nefrin dan *synaptopodin* yang berkorelasi dengan proteinuria. Jim B *et al* (2012) mendapatkan hasil penelitian bahwa nefrin urin ditemukan pada 100% pasien diabetes dengan mikro dan makroalbuminuria, sedangkan pada pasien normoalbuminuria didapatkan nefrin urin sebanyak 54%. Ng DPK *et al* (2011) di Cina mendapatkan hasil bahwa nefrin urin menunjukkan hubungan yang signifikan dengan penurunan estimasi laju filtrasi glomerulus pada pasien normoalbuminuria.^{49,51,70}

Penyakit ginjal diabetes merupakan komplikasi penyakit DM yang paling sering. Kerusakan ginjal pada penyakit DM adalah akibat hiperglikemia di glomerulus mengaktifkan jalur metabolik dan inflamasi yang menyebabkan penumpukan ECM di glomerulus. Hiperglikemia pada DM dapat meningkatkan stress oksidatif, dimana jalur stress oksidatif mengaktifkan ASK1 sebagai *upregulator* P38 MAPK dan JNK yang berperan dalam apoptosis sel. Apoptosis sel di glomerulus terutama sel podosit dapat mempercepat glomerulosklerosis, albuminuria dan penurunan laju filtrasi glomerulus (LFG). Nefrin urin adalah penanda spesifik kerusakan podosit pada PGD. Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian tentang korelasi antara kadar ASK1 serum dengan kadar nefrin urin, sehingga dapat mengetahui peranan ASK1 pada proses kerusakan ginjal pada penyakit ginjal diabetes.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat korelasi antara kadar ASK1 serum dengan kadar nefrin urin pada pasien penyakit ginjal diabetik?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum: Mengetahui korelasi antara ASK1 serum dengan kadar nefrin urin pada penyakit ginjal diabetik.

Tujuan Khusus:

1. Mengetahui kadar ASK1 serum pada pasien ginjal diabetik
2. Mengetahui kadar nefrin urin pada pasien dengan penyakit ginjal diabetik
3. Mengetahui derajat korelasi antara kadar ASK1 serum dengan nefrin urin pada penyakit ginjal diabetik

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bidang Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemahaman tentang peran ASK1 terhadap cedera podosit pada PGD.

1.4.2 Bidang Klinis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk menganjurkan pemeriksaan ASK1 serum sebagai alternatif pemeriksaan tambahan untuk menilai aktivitas sinyal apoptosis sel akibat hiperglikemia pada PGD dan pemeriksaan nefrin urin untuk menilai adanya cedera podosit pada pasien PGD.

1.4.3 Bidang Pelayanan Masyarakat

Pemanfaatan penelitian ini untuk menambah pengetahuan masyarakat dalam mengevaluasi fungsi ginjal. Penelitian ini juga dapat dijadikan sebagai dasar untuk menganjurkan pemeriksaan ASK1 serum dan nefrin urin pada PGD agar dapat memperlambat progresifitas penyakit dan meningkatkan penatalaksanaan pasien.

