

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit ginjal kronik (PGK) adalah keadaan patologis pada ginjal dengan etiologi yang beragam, mengakibatkan penurunan fungsi ginjal yang progresif dan pada umumnya berakhir dengan gagal ginjal. Menurut *Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)* 2012, PGK didefinisikan sebagai gangguan pada ginjal yang ditandai dengan abnormalitas struktur ataupun fungsi ginjal yang berlangsung selama lebih dari 3 bulan. Abnormalitas struktur dan fungsi ginjal ini ditandai dengan salah satu atau lebih kriteria berikut, yaitu albuminuria > 30 mg/24 jam, kelainan sedimen urin, kelainan histologi, kelainan struktural berdasarkan pencitraan, riwayat transplantasi ginjal dan penurunan laju filtrasi glomerulus (LFG) < 60 ml/menit/1,73m<sup>2</sup>.<sup>1,2</sup>

Penyakit ginjal kronik merupakan masalah kesehatan masyarakat global yang ditandai dengan meningkatnya prevalensi dan insiden gagal ginjal, prognosis yang buruk dan biaya pengobatan yang tinggi. Prevalensi PGK meningkat seiring bertambahnya jumlah penduduk usia lanjut dan kejadian penyakit diabetes melitus serta hipertensi. Sekitar 1 dari 10 populasi global mengalami PGK pada stadium tertentu. Studi meta-analisis yang dilakukan oleh Hills (2016) menunjukkan bahwa prevalensi global PGK sebesar 13,4% dengan mayoritas kasus pada stadium 3. *The American National Health and Nutrition Examination Survey* melaporkan bahwa prevalensi PGK stadium 1 – 4 pada 1990 – 2004 meningkat secara signifikan dibandingkan tahun 1988 – 1994, yaitu 13,1% dan 10,0%.

Menurut hasil *Burden of Disease* tahun 2015, lebih dari 2 juta penduduk meninggal akibat PGK. Prevalensi pasien PGK di Amerika Serikat mencapai 746.557 kasus pada tahun 2017.<sup>3,4,5,6</sup>

Data mengenai PGK di Indonesia didapatkan dari hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS), *Indonesian Renal Registry* (IRR) dan sumber data lain. Menurut RISKESDAS 2013, populasi usia  $\geq 15$  tahun yang terdiagnosis PGK, yaitu sebesar 0,2%. Prevalensi PGK ini meningkat seiring bertambahnya usia, dimana kasus tertinggi yaitu kelompok usia  $\geq 75$  tahun (0,6%). Perhimpunan Nefrologi Indonesia (PERNEFRI) dalam program IRR melaporkan peningkatan pasien PGK yang menjalani hemodialisis pada tahun 2017 mencapai 77.892 pasien. Dan prevalensi PGK di kota Padang sendiri didapatkan prevalensi sebesar 0,3% dengan insiden tertinggi pada usia 45 – 54 tahun, yaitu 0,6%.<sup>3,7,8,9</sup>

Penyakit ginjal kronik berhubungan dengan beberapa komplikasi, seperti hipertensi, penyakit kardiovaskular, anemia, gangguan mineralisasi tulang, malnutrisi, sarkopenia, infeksi, gangguan keseimbangan elektrolit dan asam basa serta hiperurisemia. Hiperurisemia merupakan salah satu komplikasi metabolik yang sering ditemukan pada pasien PGK.<sup>10</sup>

Hiperurisemia terjadi bila kadar asam urat darah  $\geq 6,8$  mg/dl. Hal ini disebabkan karena penurunan LFG akan mengakibatkan menurunnya klirens asam urat pada pasien PGK. Prevalensi hiperurisemia meningkat sesuai dengan penurunan LFG, dimana 40 – 60% pasien PGK stadium 1 – 3 dan 70% pasien PGK stadium 4 – 5 mengalami hiperurisemia. Sarpal (2017) melakukan studi terhadap 196 pasien dengan PGK dan menemukan bahwa terdapat peningkatan

kadar asam urat serum secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dan berkorelasi positif dengan stadium PGK.<sup>11,12,13,14</sup>

Peningkatan kadar asam urat serum telah diidentifikasi sebagai faktor risiko dalam mempercepat progresivitas PGK. Studi kohort yang dilakukan oleh *Swedish Renal Registry* menunjukkan bahwa penurunan LFG atau progresivitas PGK yang cepat menjadi *end stage renal disease* (ESRD) berhubungan dengan kadar asam urat serum pada pasien dengan PGK stadium 3 – 5. Uchida (2015) melaporkan bahwa pada 63.750 pasien dengan  $LFG \leq 60$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, pasien yang disertai dengan hiperurisemia mengalami penurunan LFG sebesar  $2,5 \pm 9,5$  ml/min/1,73m<sup>2</sup> per tahun.<sup>15,16</sup>

Pasien PGK sering menunjukkan manifestasi disfungsi endotel yang ditandai dengan berkurangnya bioavailabilitas nitric oxide (NO). Dan pada saat yang sama, disfungsi endotel juga diketahui berperan sebagai faktor risiko penting pada progresivitas PGK. Penelitian yang dilakukan oleh Ochodnicky *et al.* (2006) terhadap tikus coba yang menjalani nefrektomi pada 5/6 ginjalnya menunjukkan bahwa derajat kerusakan endotel merupakan prediktor penting dalam progresivitas penyakit ginjal. Penelitian lain oleh Nakayama *et al.* (2009) juga menunjukkan bahwa penurunan NO endotel dapat mempercepat progresivitas penyakit ginjal diabetik dan nondiabetik pada tikus coba.<sup>17,18,19</sup>

Disfungsi endotel merupakan keadaan yang ditandai dengan ketidakseimbangan fungsi faktor relaksasi dan faktor kontraksi yang diproduksi oleh sel endotel. Terdapat beberapa mekanisme yang mendasari terjadinya disfungsi endotel yaitu penurunan mediator vasodilator (penurunan NO, PGI<sub>2</sub>), peningkatan mediator vasokonstriktor, peningkatan stres oksidatif (nitrotyrosine

dan peningkatan asam urat), peningkatan prokoagulan (PAI-1, vWF, selektin-P), dan peningkatan biomarker pro-inflamasi (sICAM, sVCAM, selektin-E, CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6 MCP-1) yang berujung pada penurunan bioavailabilitas NO. Oleh karena itu, seluruh mediator tersebut dapat digunakan sebagai penanda molekuler kerusakan endotel.<sup>20</sup>

Beberapa metode telah digunakan untuk menilai fungsi endotel pada manusia, baik berupa pemeriksaan invasif maupun kurang invasif. Pemeriksaan fungsi endotel secara invasif melalui angiografi koroner bersamaan dengan pemberian infus vasodilator intra koroner dianggap sebagai “baku emas” untuk menilai fungsi endotel. Namun, karena pemeriksaan ini invasif, diperlukan tenaga terampil serta menimbulkan rasa tidak nyaman pada pasien. Oleh karena itu, saat ini dikembangkan pendekatan untuk menilai indeks fungsi endotel yang terfokus pada pemeriksaan marker dalam darah dan urin, seperti NO dan NOS. NO yang diproduksi oleh sel endotel merupakan penentu utama vasodilatasi endotel dependen dan merupakan inhibitor koagulasi, inflamasi dan stres oksidatif yang telah dianggap sebagai penanda status endotel yang penting.<sup>20,21</sup>

*Nitric oxide* merupakan molekul anorganik yang secara alami diproduksi oleh berbagai sel dalam tubuh manusia. NO disintesis di dalam sel endotel melalui konversi *L-arginine* menjadi *L-citrulline* oleh enzim *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS). Produksi NO oleh sel endotel pembuluh darah sangat penting dalam regulasi tonus vasomotor karena dapat mempengaruhi aliran darah dan fungsi pembuluh darah lainnya. NO tidak hanya sebagai vasodilator kuat, tetapi juga merupakan agen antitrombotik dan berperan biologis dalam pencernaan, pernapasan, syaraf dan sistem kekebalan tubuh. Pengukuran konsentrasi NO

dalam sampel penelitian cukup sulit karena NO merupakan molekul yang sangat mudah berdifusi dan memiliki waktu paruh sangat singkat (kurang dari 4 detik) dan cepat dioksidasi menjadi nitrit dan nitrat sebelum diekskresikan dalam urin.<sup>20,21</sup>

Progresivitas PGK berhubungan dengan perburukan fungsi endotel vaskular ginjal. Perburukan kerusakan endotel vaskular ini ditandai dengan menurunnya NO. NO merupakan *endothelium derived relaxing factor* (EDRF) yang berperan sebagai regulator poten pada hemodinamik intrarenal. Penurunan bioavailabilitas NO akan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel dan mengakibatkan hipertensi glomerular melalui peningkatan resistensi arteriolar glomerular serta mempercepat kerusakan ginjal pada pasien PGK. Imig dan Roman (1992) melaporkan bahwa NO mengubah tonus vaskular aferen sehingga mengubah kemampuan autoregulasi pembuluh darah preglomerular dalam mengatur tekanan kapiler glomerular. Penelitian serupa oleh Deng dan Baylis (2008) juga melaporkan bahwa NO pada ginjal mengatur resistensi arteriolar aferen.<sup>25</sup>

Penurunan produksi NO berhubungan dengan penurunan aktivitas eNOS dan ekspresi gen eNOS. Gen eNOS mRNA secara konstitutif diekspresikan dengan panjang sekitar 4052 nukleotida dan memiliki waktu paruh 10 – 35 jam. eNOS merupakan salah satu dari 3 isoform NOS selain neuronal NOS (nNOS) dan inducible NOS (iNOS), yang dikode oleh kromosom 7q35-36. eNOS sebagian besar diekspresikan oleh sel endotel. Sel lain yang mengekspresikan eNOS adalah otot jantung, trombosit, neuron tertentu dari otak, sinsitiotrofoblas plasenta

manusia dan sel epitel tubulus ginjal. eNOS merupakan isoform utama yang menghasilkan NO pada ginjal orang dewasa.<sup>20,22,23</sup>

Aktivitas eNOS diatur oleh 2 asam amino, yaitu serin dan threonin, dan berhubungan dengan beberapa protein, seperti caveolin, *heat shock protein 90* (hsp90) dan ekspresi protein eNOS mRNA. Aktivitas eNOS di dalam sel endotel dimodulasi oleh faktor sirkulasi, seperti insulin dan dihambat oleh produksi endogen dari metabolisme arginin, seperti *asymmetric dimethyl-L-arginine* (ADMA). Penurunan ekspresi dan/atau aktivitas eNOS disebabkan karena eNOS diubah dari enzim yang menghasilkan NO menjadi enzim yang menghasilkan anion superoksida (eNOS *uncoupling*) sehingga mengakibatkan penurunan produksi NO. Faktor lain yang dapat menyebabkan berkurangnya aktivitas eNOS, yaitu stres oksidatif, penurunan substrat L-arginine, peningkatan ADMA dan penurunan kofaktor *tetrahydrobiopterin* (BH<sub>4</sub>).<sup>20</sup>

Pengukuran aktivitas enzim eNOS di dalam serum merupakan hasil interaksi dari berbagai faktor dan pada beberapa penyakit, aktivitas eNOS dipengaruhi oleh aktivator, inhibitor serta kofaktornya. Namun, pada dasarnya, aktivitas eNOS tergantung pada kadar eNOS di dalam serum. Beberapa penelitian telah melakukan penelitian mengenai kadar eNOS serum pada manusia dengan menggunakan metode ELISA. Walaupun eNOS merupakan enzim intrasel, namun eNOS dapat dideteksi dalam serum. Hess (2007) menyebutkan bahwa perbedaan gradien konsentrasi menyebabkan terjadinya pelepasan enzim intrasel ke dalam serum, dimana enzim intrasel memiliki konsentrasi yang lebih tinggi di intrasel dibandingkan ekstrasel. Perbedaan gradien konsentrasi menyebabkan adanya aliran enzim intrasel keluar sel sehingga terjadi difusi pasif melalui membran sel.

Konsentrasi enzim intrasel yang tinggi juga menyebabkan terjadinya peregangan pada membran sel. Dimana pada keadaan fisiologis, membran sel tidak permeabel untuk dilewati protein molekul besar. Sehingga, ketika konsentrasi enzim intrasel rendah, baik karena produksi yang menurun atau degradasi yang meningkat, maka akan direfleksikan dengan rendahnya kadar enzim tersebut di dalam serum.<sup>24,25</sup>

*Endothelial* NOS merupakan enzim yang sangat penting dan memiliki peran utama pada produksi NO untuk menjaga integritas vaskular terutama pada ginjal. Defisiensi eNOS dapat menginduksi rusaknya endotel kapiler glomerulus dan peritubulus dan memperberat kerusakan ginjal pada penyakit ginjal progresif. Penelitian yang dilakukan oleh Nakayama (2008) memperlihatkan bahwa defisiensi eNOS menyebabkan glomerulosklerosis, mesangiolisis, kerusakan tubulus, dan berkurangnya sel endotel akibat menurunnya proliferasi sel endotel dan peningkatan apoptosis. Pada penelitian Heeringa (2000) memperlihatkan bahwa defisiensi eNOS akan menyebabkan glomerulonefritis yang berkaitan dengan inflamasi berat disertai infiltrasi neutrofil dan trombosis kapiler. Takahashi dan Harris (2014) melaporkan bahwa defisiensi eNOS pada tikus dengan diabetes mengalami perubahan nefropati diabetik yang progresif dengan mempercepat terjadinya albuminuria, mesangiolisis, penumpukan fibrin pada glomerulus, dan fibrosis tubulointerstisial.<sup>26,27,28</sup>

Aktivitas dan kadar eNOS dapat dipengaruhi oleh berbagai keadaan, seperti dislipidemia, hipertensi, resistensi insulin, diabetes melitus, keganasan dan hiperurisemia. Hiperurisemia dapat menurunkan aktivitas dan kadar eNOS melalui peningkatan stres oksidatif melalui pembentukan ROS secara enzimatik dengan 3 jalur utama, yaitu jalur sistem *xanthine oxidase* (XO), jalur NADPH-

oxydase dan jalur *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS), walaupun pada akhirnya, ketiga proses ini akan saling berhubungan. Stres oksidatif akan meningkatkan aktivasi NADPH-oxidase dan menurunkan bioavailabilitas NO endotel dan menyebabkan disfungsi mitokondria dengan menurunkan ATP intrasel. Penurunan NO endotel, disfungsi mitokondria dan penurunan ATP menyebabkan terjadinya disfungsi endotel dan lebih lanjut mengakibatkan hipertensi dan kerusakan ginjal. Proses ini pada akhirnya akan memperberat kerusakan endotel yang telah terjadi pada pasien PGK.<sup>20,29,30</sup>

Produksi ROS, terutama superoksida, yang berlebihan bersamaan dengan meningkatnya kadar asam urat akan menyebabkan reaksi langsung superoksida dengan NO. Keadaan ini tidak hanya akan menurunkan bioavailabilitas NO melalui proses degradasi dan inaktivasi NO, tetapi juga meningkatkan pembentukan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ). Peroksinitrit merupakan oksidan yang sangat poten, yang dapat menyebabkan oksidasi  $\text{BH}_4$  yang merupakan kofaktor utama eNOS menjadi bentuk inaktif, yaitu *trihydrobiopterin* sehingga terjadi defisiensi  $\text{BH}_4$ . Tanpa adanya konsentrasi  $\text{BH}_4$  yang adekuat, akan mengakibatkan terjadinya eNOS *uncoupling*. Peningkatan  $\text{O}_2^-$  menyebabkan fungsi endotel semakin terganggu dan akan menyebabkan lingkaran setan stres oksidatif, penurunan bioavailabilitas NO, peningkatan  $\text{ONOO}^-$ , eNOS *uncoupling*, yang pada akhirnya semakin memperburuk fungsi endotel dan mempercepat progresivitas PGK.<sup>31</sup>

Penelitian mengenai terapi alternatif untuk mencegah progresivitas PGK masih menjadi tantangan saat ini. Beberapa bukti klinis telah menyebutkan bahwa asam urat merupakan target terapi yang potensial untuk memperlambat progresivitas PGK. Kadar asam urat yang terus meningkat dapat berkontribusi



terhadap memburuknya fungsi ginjal. Selama ini, *xanthine oxidase inhibitor* telah menjadi pilihan utama terapi hiperurisemia pada PGK.<sup>32</sup>

Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa allopurinol maupun febuxostat memberikan efek terhadap perbaikan fungsi ginjal. Penelitian yang dilakukan oleh Goicoechea *et al.*(2010) menunjukkan bahwa terdapat peningkatan LFG sebesar  $1,3 \pm 1,3$  ml/min/ $1,73m^2$  setelah 24 bulan pemberian allopurinol. Weng *et al.*(2016) melaporkan bahwa pada 40 pasien PGK yang diberi febuxostat mengalami perbaikan LFG yang signifikan pada pasien PGK dibandingkan alopurinol.<sup>33,34,35</sup>

Melihat besarnya pengaruh kadar asam urat terhadap fungsi endotel dalam mempercepat progresivitas PGK dan pentingnya peran eNOS terhadap fungsi endotel, maka berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Korelasi kadar asam urat serum dengan *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) pada pasien penyakit ginjal kronik”.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat korelasi antara kadar asam urat serum dengan *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) pada pasien penyakit ginjal kronik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui korelasi antara kadar asam urat serum dengan *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) pada pasien penyakit ginjal kronik.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui rerata kadar asam urat serum pada pasien PGK.
2. Mengetahui rerata kadar *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) pada pasien PGK.
3. Mengetahui derajat korelasi antara kadar asam urat serum dengan *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) pada pasien PGK.

### 1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai sumbangan data dan informasi mengenai korelasi antara kadar asam urat serum dengan *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) pada pasien PGK.
2. Diharapkan dengan mengetahui kadar *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) serum sebagai faktor yang berperan dalam meningkatkan fungsi endotel vaskular, para klinisi dapat secara ketat mengontrol kadar asam urat pada pasien PGK.
3. Diharapkan mengetahui kadar *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) serum dapat digunakan sebagai bahan penelitian lebih lanjut sebagai salah satu strategi dalam menghambat progresifitas penyakit ginjal kronik.

