

## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Nefropati diabetik

## 2.1.1 Definisi, Etiologi, dan Klasifikasi

Nefropati diabetik adalah sindrom klinis dengan manifestasi persisten albuminuria ( $>300$  mg/d atau  $>200$   $\mu\text{g}/\text{min}$ ) selama 2-6 bulan, penurunan *glomerular filtration rate* (GFR) yang progresif, dan peningkatan tekanan darah arteri (Satirapoj, 2010). Perkembangan alami nefropati diabetik berbeda menurut jenis diabetes dan adanya albuminuria (30-300 mg/hari). Jika glukosa darah tidak terkontrol,  $> 80\%$  pasien dengan diabetes tipe 1 dan 20-40% pasien dengan diabetes tipe 2 disertai albuminuria akan berkembang menjadi nefropati diabetik (proteinuria  $>300\text{mg}/\text{hari}$ ) dalam 15 tahun. Di antara pasien dengan diabetes tipe 1 dengan nefropati dan hipertensi, 50% akan berkembang pada ESRD (*end stage renal disease*) dalam 10 tahun (Dronavalli *et al.*, 2008).

Hiperglikemia, hipertensi, obesitas, merokok, ras, laki-laki, dislipidemia, usia, dan faktor genetik adalah faktor resiko utama perkembangan penyakit ginjal diabetik (Rachmani dan Ravid, 1999; Shestakova *et al.*, 2006; Agarwal *et al.*, 2011). Insiden nefropati diabetik lebih tinggi pada ras Afrika Amerika, Asia, dan Native Amerika daripada ras Kaukasia (Gross *et al.*, 2005). Saudara kandung pasien dengan nefropati berisiko 3 kali lebih besar menderita penyakit yang sama dibandingkan pada saudara kandung pasien diabetes tanpa nefropati (Rohilla *et al.*, 2011).

Tahap perkembangan penyakit ginjal diabetik dibedakan menjadi beberapa fase, umumnya dibedakan menjadi lima tingkat (Tabel 2.1.1). Ekskresi albumin persisten antara 30-300mg/hari (20-200 mg/min) disebut sebagai mikroalbuminuria. Adanya albuminuria berhubungan dengan meningkatnya resiko untuk berkembang menjadi penyakit kardiovaskuler dan penyakit ginjal progresif. Dikatakan jelas nefropati diabetik jika albuminuria di atas 300mg/hari. Sejak nefropati diabetik terjadi, tingkat penurunan GFR dan efek buruk hipertensi mulai tampak pada pasien diabetes tipe 1 dan 2. Terjadi penurunan GFR 2-

20mL/menit/tahun secara linear pada perkembangan penyakit ginjal diabetik. Tanpa adanya intervensi agresif, nefropati diabetik akan berkembang menjadi ESRD rata-rata dalam 6-7 tahun. Tingkat penurunan fungsi ginjal setelah nefropati diabetik bervariasi antara pasien dan dipengaruhi faktor tambahan, termasuk tekanan darah dan kontrol glikemik (Dronavalli *et al.*, 2008). Perkembangan yang lebih cepat bisa terjadi pada tingkat albuminuria yang lebih tinggi dan hipertensi (Satirapoj, 2010).

**Tabel 2.1.1 Tahapan Klinis Penyakit Ginjal Diabetik (Satirapoj, 2010)**

	Albuminuria	Durasi	Hipertensi	GFR
<b>Fase 1</b> Hiperfiltrasi	<30 mg/hari	Onset	Normal	↑ 20-50%
<b>Fase 2</b> Normoalbuminuria ( <i>silent phase</i> )	<30 mg/hari	2-5 tahun	Normal	Normal / ↑
<b>Fase 3</b> Mikroalbuminuria ( <i>incipient</i> )	30-300 mg/hari	5-15 tahun	Tinggi	Normal
<b>Fase 4</b> Makroalbuminuria ( <i>overt nephropathy</i> )	>300 mg/hari	10-20 tahun	Tinggi	↓ 12-15 ml/ menit/tahun
<b>Fase 5</b> ESRD		20-30 tahun	Tinggi	<10-15 ml/menit

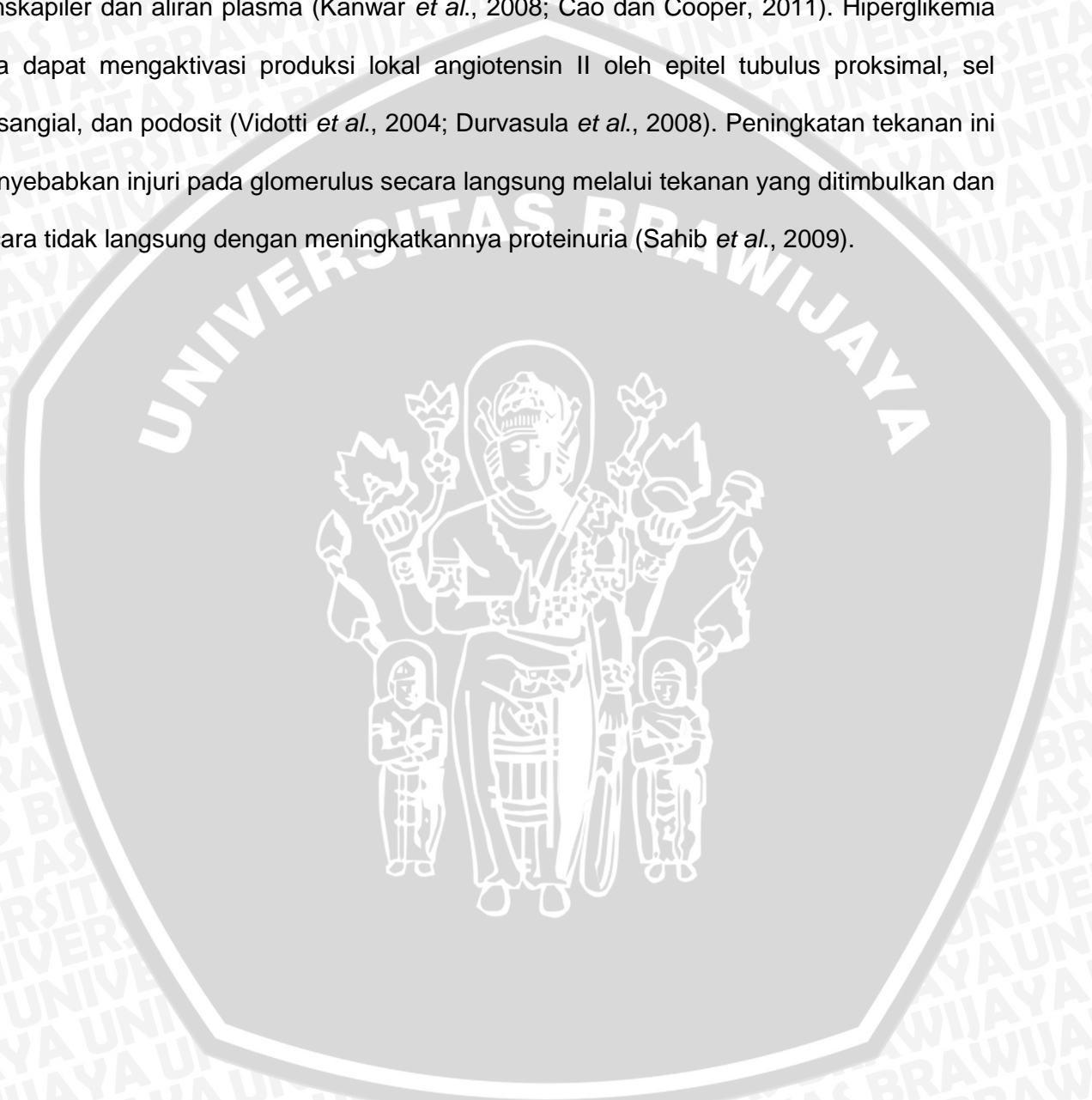
### 2.1.2 Gejala dan Patogenesis

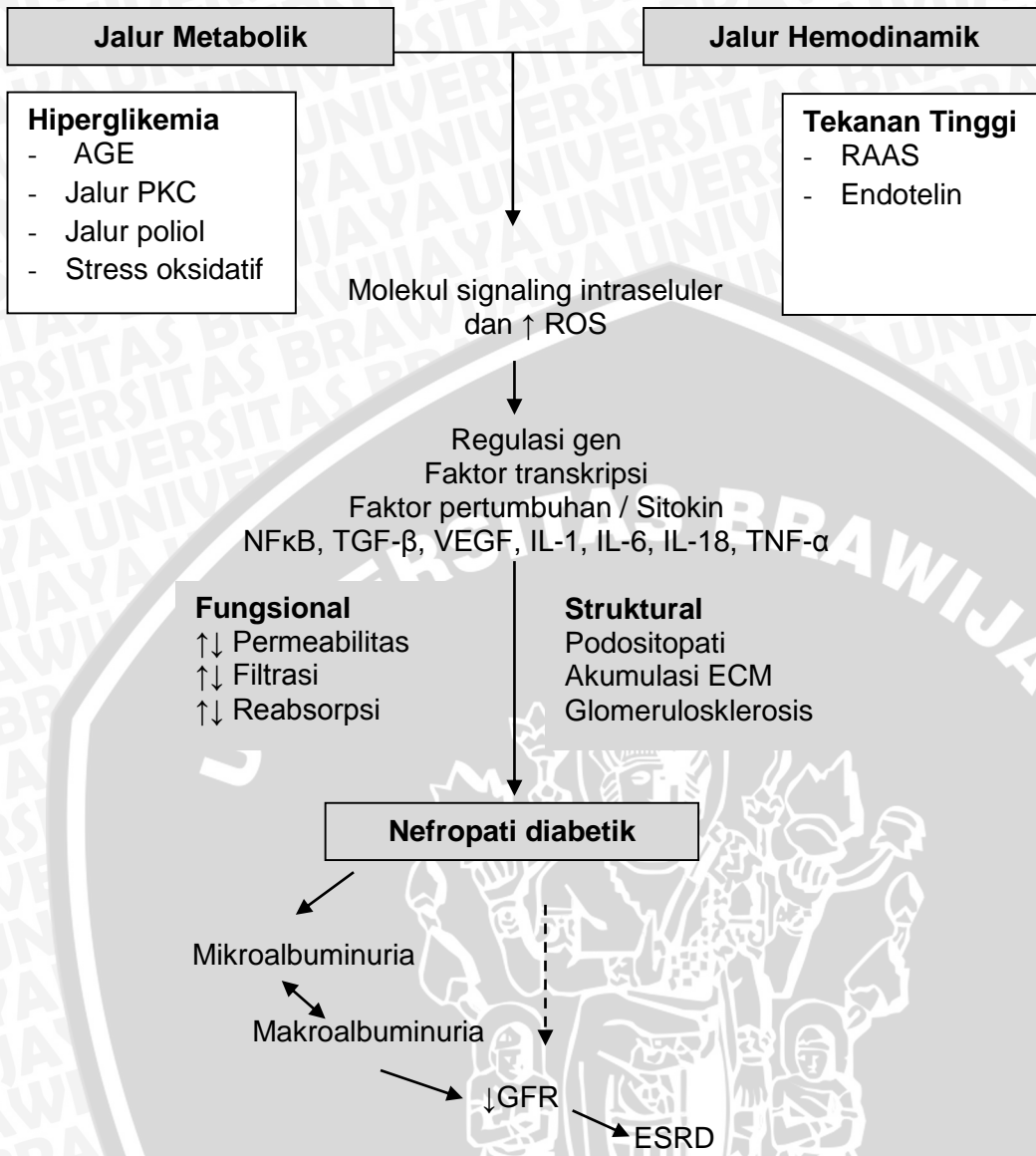
Nefropati diabetik tidak menimbulkan gejala sampai timbul kerusakan fungsi ginjal dan gejalanya tidak spesifik. Gejala awal yang sering timbul sebagaimana gejala kerusakan ginjal umum yaitu kelebihan volum cairan (edema pada kaki). Gejala lainnya yaitu penurunan nafsu makan, gangguan tidur, kelemahan, nyeri daerah perut, dan sulit berkonsentrasi (*American Diabetes Association*, 2011).

Albuminuria merupakan manifestasi dari beberapa kerusakan struktur pada ginjal, yaitu peningkatan cela pori *glomerular basement membrane* (GBM), morfologi abnormal podosit, hilangnya muatan negatif GBM, dan peningkatan tekanan intraglomerular (Sahib *et al.*, 2009). Patogenesis nefropati dimulai dari kondisi hiperglikemi yang menginduksi kelainan metabolik dan kelainan hemodinamik (Dronavalli *et al.*, 2008; Rohilla *et al.*, 2011). Meningkatkan tekanan darah sistemik dan kapiler glomerulus akibat hiperglikemia



mengaktivasi berbagai hormon vasoaktif, termasuk *renin angiotensin-aldosteron system* (RAAS), prostanoid, NO (*nitric oxide*), VEGF, dan endotelin sehingga mengganggu autoregulasi mikrosirkulasi lokal glomerular ditandai dengan penurunan resistensi dan dilatasi arteriole terutama arteri aferen yang menyebabkan ketidakseimbangan tekanan hidrolik transkapiler dan aliran plasma (Kanwar *et al.*, 2008; Cao dan Cooper, 2011). Hiperglikemia juga dapat mengaktivasi produksi lokal angiotensin II oleh epitel tubulus proksimal, sel mesangial, dan podosit (Vidotti *et al.*, 2004; Durvasula *et al.*, 2008). Peningkatan tekanan ini menyebabkan injuri pada glomerulus secara langsung melalui tekanan yang ditimbulkan dan secara tidak langsung dengan meningkatkannya proteinuria (Sahib *et al.*, 2009).





**Gambar 2.1.2 Patogenesis Nefropati diabetik (Satirapoj, 2010; Cao & Cooper, 2011)**

Hiperglikemia menyebabkan kerusakan jaringan renal melalui jalur pembentukan AGE (*advanced glycation end product*), aktivasi *protein kinase C* (PKC), akselerasi poliol, dan jalur stress oksidatif (Ohshiro *et al.*, 2005; Kanwar *et al.*, 2008; Cao dan Cooper, 2011). Hiperglikemia meningkatkan ekspresi *glucose transporter* sehingga meningkatkan uptake glukosa pada sel-sel ginjal. Peningkatan glukosa intraseluler mengaktifkan jalur poliol (Haneda *et al.*, 2003 dan Arnoni *et al.*, 2008). Jalur poliol mengkonversi glukosa menjadi fruktosa dengan mengubah glukosa menjadi sorbitol dengan enzim aldose reduktase (AR) dan sorbitol dehidrogenase (SDH) kemudian mengubah sorbitol menjadi fruktosa dengan



bantuan kofaktor *nicotamide adenine dinucleotide phosphat* (NADPH). Akumulasi sorbitol pada ginjal mengurangi produksi *nitric oxide* oleh sel endotel dan meningkatkan produksi prostaglandin yang berkontribusi terhadap filtrasi abnormal glomerulus, meningkatkan rasio NADPH/NAD<sup>+</sup> yang memblok jalur glikolisis menghasilkan stress oksidatif, sintesis diasil gliserol (DAG), dan meningkatkan produksi AGE yang mengaktifkan PKC (Ohshiro *et al.*, 2005). Hiperglikemia juga meningkatkan terbentuknya AGE sebagai akibat glikasi lipid dan protein oleh glukosa. Interaksi AGE ekstraseluler dengan reseptornya RAGE dan AGE intraselular akan mengaktifkan berbagai signaling intraselular (aktivasi PKC dan faktor transkripsi seperti NFκB) (Kanwar *et al.*, 2008).

Baik hiperglikemia secara langsung maupun melalui terbentuknya ikatan AGE-RAGE, AGE intraselular, angiotensin II, dan aktivasi PKC akan meningkatkan aktivitas NADPH oxidase yang selanjutnya meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Lee *et al.*, 2003). Baik secara independen maupun interaksi antara peningkatan produksi ROS, peningkatan sintesis AGE, aktivasi PKC, dan angiotensin II akan mengaktifkan berbagai faktor transkripsi seperti NFκB yang selanjutnya meningkatkan transkripsi berbagai faktor pertumbuhan, molekul adesi, dan mediator inflamasi yaitu VEGF (*vascular endothel growth factor*), TGF-β (*transforming growth factor*), CTGF (*connective tissue growth factor*), MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), sitokin inflamasi IL-1 (*interleukin-1*), IL-6 (*interleukin-6*), dan TNF-α (*tumor necrosis factor alpha*). Kesemuanya mengakibatkan akumulasi ECM, penebalan GBM, ekspansi mesangial, apoptosis sel renal, dan glomerulosklerosis sebagai manifestasi klinis nefropati diabetik (Forbes *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003; Bohlender *et al.*, 2004; Kanwar *et al.*, 2008; Satirapoj, 2010; Cao dan Cooper, 2011). Secara keseluruhan, gambaran kerusakan patologis nefropati diabetik dapat dilihat pada tabel 2.1.2.

**Tabel 2.1.2 Morfologi Patologis Penyakit Ginjal Diabetik (Satirapoj, 2010)**

Mikroskop cahaya

- Ekspansi mesangial
- Penebalan GBM difus
- Nodular glomerulosclerosis (nodul Kimmelstiel–Wilson)
- Mesangiolisis and glomerular mikroaneurisma
- *Fibrin cap*



- 
- *Capsular drop*
  - Arteriosklerosis hialin aferen and eferen
  - Fibrosis interstitial dan atrofi tubular
  - Infiltrat sel inflamasi mononuklear interstitial
- 

#### Imunofluoresen

- Pengecatan linear IgG dan albumin pada GBM dan membran basal tubular
  - Pengecatan nonspesifik IgM dan C3 pada nodul sklerotik
  - Pengecatan variabel *kappa* dan *lamda light chains*
- 

#### Mikroskop Elektron

- Ekspansi mesangial oleh matrik dan peningkatan selularitas mesangial
  - Penebalan GBM difus
  - Fibrilosis diabetes
  - Podositopenia
  - *Effacement* prosesus podosit difus
  - Area padat hialinosis pada nodul sklerotik
- 

### 2.1.3 Skrining dan Diagnosis

Menurut *American Diabetes Association/ADA* (2005) oleh Gross *et al.* (2005), skrining dan diagnosis nefropati diabetik adalah sebagai berikut. Pada pasien DM tipe 2, skrining nefropati diabetik harus dimulai sejak pasien didiagnosis karena 7% dari pasien sudah mengalami mikroalbuminuria pada saat terdiagnosis. Untuk pasien dengan DM tipe 1, skrining pertama direkomendasikan setelah 5 tahun terdiagnosis. Namun prevalensi mikroalbuminuria sebelum 5 tahun dalam kelompok ini dapat mencapai 18%, khususnya pada pasien dengan kadar glukosa dan lemak darah tidak terkontrol serta tekanan darah yang tinggi. Oleh karena itu, disarankan skrining sudah dilakukan sejak 1 tahun terdiagnosis. Jika tidak ditemukan albuminuria, skrining harus diulang tiap 2 tahun baik untuk DM tipe 1 maupun tipe 2.

Langkah pertama skrining dan diagnosis adalah mengukur kadar albumin pada sampel urin spot (baik dari urin pertama yang dikeluarkan di pagi hari maupun acak ketika akan dilakukan pemeriksaan). Pengukuran dari sampel urin 24 jam atau waktu tertentu memiliki beberapa kekurangan antara lain sulit diaplikasikan, tidak praktis, dan mudah terjadi kesalahan berhubungan dengan waktu pengumpulan sampel dan pencatatan waktu. Hasil pengukuran albumin pada sampel urin spot dapat dinyatakan dalam konsentrasi albumin urin (mg/l) atau rasio albumin urin-kreatinin (mg/g atau mg/mmol). Meskipun ekspresi hasil pengukuran dalam konsentrasi albumin dapat dipengaruhi oleh pengenceran atau konsentrasi

sampel urin, pengukuran ini masih akurat dan lebih murah dibandingkan dengan rasio albumin-kreatinin. Jika dibandingkan dengan sampel urin 24 jam sebagai standar, nilai *cut-off* 17 mg/l pada sampel urin acak memiliki sensitivitas 100% dan spesivitas 80% untuk mendiagnosis mikroalbuminuria. Semua hasil temuan abnormal harus dikonfirmasi dalam dua dari tiga sampel yang diambil selama periode 3 sampai 6 bulan untuk mengetahui variabilitas UAE (*urinary albumin excretion*).

Dalam kondisi tidak tersedianya pengukuran spesifik untuk UAE, pengukuran dipstik semikuantitatif albuminuria maupun pengukuran dipstik kualitatif proteinuria dan pengukuran kuantitatif kadar protein dalam sampel urin acak dapat digunakan. Hasil pemeriksaan dipstik positif atau konsentrasi protein urin >430mg/l memiliki sensitivitas 100% untuk kedua tes dan spesivitas 82% dan 93% untuk mendiagnosis proteinuria. Hasil abnormal dapat dikonfirmasi dengan pengukuran kadar protein total dalam sampel urin 24 jam. Hasil >500mg/24 jam mengkonfirmasi diagnosis proteinuria.

Meskipun pengukuran UAE menjadi landasan utama untuk mendiagnosis nefropati, namun ada beberapa pasien dengan UAE normal mengalami penurunan GFR (*glomerular filtration rate*). Pada pasien dengan DM tipe 1, fenomena ini lebih sering ditemukan pada perempuan dengan diabetes lama, hipertensi dan atau retinopati. Pada pasien dengan DM tipe 2 tanpa mengalami mikro/makroalbuminuria dan retinopati, penurunan GFR (<60mL/min) ditemukan pada 30% penderita. Hal ini mengindikasikan bahwa normoalbuminuria belum tentu melindungi dari penurunan GFR. Oleh karena itu pengukuran rutin GFR dan UAE perlu dilakukan untuk skrining nefropati yang tepat.

## **2.2 Advanced Glycation End-Product (AGE)**

### **2.2.1 Sifat Biokimia dari AGE**

AGE terbentuk melalui reaksi Maillard yang diawali dengan reaksi nonenzimatik antara gugus karbonil gula tereduksi dengan gugus amino pada protein (Goldin *et al.*, 2006). Pengikatan kovalen gugus karbonil gula tereduksi dengan gugus amino protein membentuk *Schiff's base* labil yang kemudian mengalami pengusungan ulang spontan menjadi ketoamin



yang lebih stabil yang disebut *Amadori's product*. *Amadori's product* ini yang kemudian berkembang menjadi AGE yang ireversibel (Wautier & Guillausseau, 2001; Basta *et al.*, 2004). Reaksi ini menghasilkan denaturasi, perubahan warna coklat, dan *cross-link* pada protein target (Goldin *et al.*, 2006). AGE memiliki beragam struktur kimia, beberapa di antaranya yaitu 2-(2-furoyl)-4(5)-furanyl-1H-imidazole (FFI), 1-alkyl-2-formyl-3,4-diglycosyl pyrroles (AFGPs), N- $\epsilon$ -carboxy-methyl-lysine (CML), N( $\epsilon$ )-(carboxyethyl)lysine (CEL), glyoxal-lysine dimer (GOLD), methyl-glyoxal-lysine dimer (MOLD), pyrrole, dan pentosidine (Basta *et al.*, 2004). Sebenarnya pembentukan dan akumulasi AGE ditemukan pada proses penuaan normal namun pembentukannya dapat dipercepat pada kondisi hiperglikemia dan stress oksidatif (Yamagishi, 2011).

### 2.2.2 Autoantibodi terhadap *Advanced Glycation End-Product* (AGE)

AGE yang terbentuk dari berbagai protein yang terglykasi pada dasarnya memiliki sifat antigenik (Baydanoff *et al.*, 1996). Keberadaan AGE *in vivo* mampu berperan sebagai imunogen yang dapat memicu terbentuknya autoantibodi (Reddy *et al.*, 1995) dan telah dibuktikan antibodi anti-AGE ditemukan pada serum pasien diabetes (Baydanoff *et al.*, 1996; Shibayama *et al.*, 1999). Level antibodi anti-AGE pada manusia berkorelasi positif dengan durasi diabetes dan mikroalbuminuria (Nicoloff *et al.*, 2002). Pada pasien gagal ginjal baik disebabkan oleh diabetes maupun tidak menunjukkan aktivitas autoantibodi terhadap AGE yang lebih tinggi dibandingkan orang normal dan pasien diabetes tanpa gagal ginjal (Shibayama *et al.*, 1999). Namun peran antibodi anti-AGE tersebut dalam diabetes khususnya dalam nefropati diabetik belum jelas diketahui, bersifat protektif atau justru memperparah.

Salah satu bukti respon imun humoral protektif terhadap antigen produk hasil metabolit ditunjukkan oleh antibodi anti-oxLDL (Vlassara dan Palace, 2002). Antibodi anti-AGE memiliki beberapa kesamaan karakteristik dengan antibodi anti-oxLDL. Keduanya merupakan antibodi yang dihasilkan terhadap produk hasil metabolit (Salonen *et al.*, 1992; Vlassara dan Palace, 2002). Antibodi anti-AGE ditemukan baik pada orang sehat maupun penderita diabetes begitupun dengan antibodi anti-oxLDL yang ditemukan baik pada orang sehat maupun orang



dengan aterosklerosis (Virella *et al.*, 1993; Vay *et al.*, 2000). Modifikasi oksidatif LDL (oxLDL) bersifat imunogenik dan memicu terbentuknya antibodi protektif melalui respon sel T dependen terhadap oxLDL (Salonen *et al.*, 1992; Zhou *et al.*, 2001). Antibodi anti-oxLDL melindungi dan menetralkan imunogenitas oxLDL pada kelinci dan mencit yang diimunisasi dengan oxLDL (Palinski *et al.*, 1995; George *et al.*, 1998). Peningkatan titer IgG terhadap anti-oxLDL berkorelasi dengan penurunan pembentukan lesi aterosklerotik dan level kolesterol serum (Zhou *et al.*, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa anti-oxLDL sebagai antibodi memiliki efek protektif. Namun peran anti-AGE sendiri masih perlu dikaji.

Penelitian Turk *et al.* (2001) membuktikan bahwa autoantibodi anti-AGE akan berinteraksi dengan AGE membentuk kompleks imun AGE (AGE-IC). Terdapat korelasi terbalik antara level AGE serum dan AGE-IC ( $r=-0.8$ ,  $p<0.000$ ) yang mengindikasikan bahwa level AGE serum menurun dengan meningkatkan AGE-IC. Antibodi spesifik terhadap AGE dapat dihasilkan melalui imunisasi berbagai preparasi protein yang terglikasi oleh AGE. Meskipun tidak dapat menunjukkan secara tepat bagian mana dari struktur heterogen tersebut yang menjadi epitop utama, namun imunohistokimia kualitatif menunjukkan bahwa antibodi spesifik yang dibentuk dari satu protein yang terglikasi oleh AGE dapat bereaksi secara baik dengan protein terglikasi AGE lain yang berbeda (Turk *et al.*, 2001).

### 2.2.3 Jalur Eliminasi AGE pada Tubuh

Level AGE sirkulasi pada kondisi normal menunjukkan keseimbangan antara pembentukannya secara endogen dan katabolismenya dengan degradasinya oleh jaringan dan eliminasinya melalui ginjal, begitu juga dengan masukan AGE eksogen dari asupan oral (Peppas dan Vlassara, 2005).

Penelitian Turk *et al.*, (2001) menunjukkan antibodi anti-AGE mampu berikatan dengan antigen yang termodifikasi oleh AGE untuk membentuk imun kompleks yang *soluble* dalam tubuh. Disebutkan bahwa terdapat korelasi berkebalikan yang sangat erat antara kadar AGE dalam serum dengan kadar AGE-IC pada sampel darah penderita DM ( $r=-0.8$ ). Padahal kompleks antibodi-antigen antara IgG dengan antigen akan dikenali oleh reseptor

Fcy pada makrofag sehingga akan meningkatkan kemampuan fagositosisnya (Skogh *et al.*, 1985). Dengan demikian terdapat kemungkinan bahwa peran antibodi anti-AGE yaitu menurunkan kadar AGE dalam sirkulasi sehingga juga menurunkan terjadinya aktivasi signaling ligan pada reseptornya yang pada akhirnya mencegah terjadinya ekspresi faktor yang mengakibatkan nefropati pada diabetes melitus.

### **2.3 Peran *Advanced Glycation End-Product* (AGE) dalam Nefropati diabetik**

Ginjal merupakan organ target sekaligus organ yang terlibat dalam peningkatan AGE (Yamagishi dan Matsui, 2010; Bohlender *et al.*, 2005). AGE jaringan pada pasien diabetes dengan ESRD dua kali lipat lebih banyak dibandingkan dengan pasien diabetes tanpa penyakit ginjal (Makita *et al.*, 1991). Penurunan fungsi ginjal menyebabkan penurunan klirens AGE yang selanjutnya meningkatkan konsentrasi AGE dalam sirkulasi. Sejak AGE dengan berat molekul kecil difiltrasi oleh ginjal dan direabsorpsi oleh sel tubulus proksimal, penurunan GFR dan kerusakan sel tubulointerstitial berkontribusi terhadap akumulasi AGE pada pasien dengan nefropati diabetik (Miyata *et al.*, 1998). Di sisi lain, AGE menjadi penyebab dalam perubahan struktur ginjal pada nefropati progresif yaitu penebalan membran basal glomerulus dan tubulus, ekspansi ECM mesangial, kerusakan mikrovaskular, dan fibrosis interstitial (Bohlender *et al.*, 2005; Yamagishi dan Matsui, 2010). Hampir semua struktur ginjal merupakan target akumulasi AGE termasuk membran basal, sel mesangial, endotel, podosit, dan tubulus (Gugliucci dan Bendayan, 1995).

Akumulasi AGE pada ginjal dikarenakan penangkapan AGE dari sirkulasi, pembentukan lokal AGE baru pada protein yang sudah ada sebelumnya, atau penurunan degradasi dan klirens AGE (Bohlender *et al.*, 2005). Akumulasi AGE dapat mengganggu fungsi ekstraselular (diperankankan oleh AGE ekstraselular) maupun intraselular (diperankan oleh AGE ekstra maupun intraselular). AGE ekstraselular berkontribusi terhadap komplikasi diabetes melalui dua cara yaitu pembentukan *cross-link* dengan molekul kunci penyusun ECM pada membran basal dan interaksi AGE dengan RAGE (*receptor for advanced glycation end product*) pada permukaan sel (Goldin *et al.*, 2006). Sedangkan AGE intraselular dibentuk dari



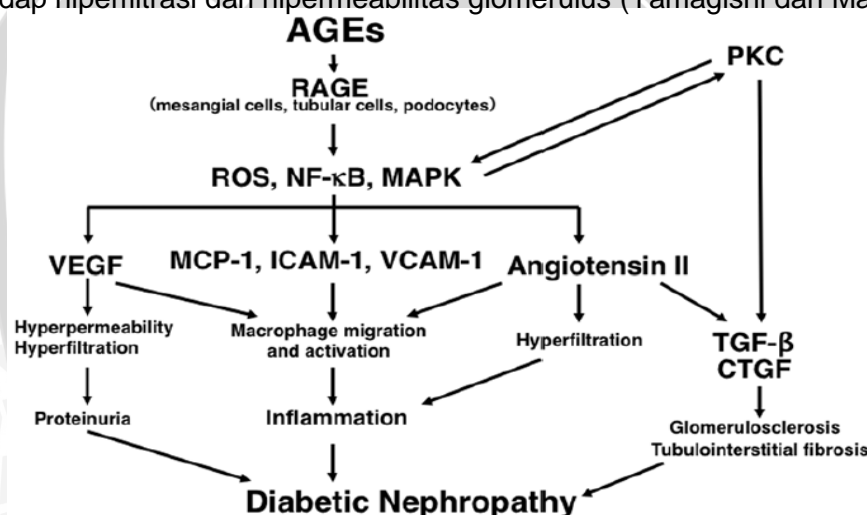
jalur poliol dan membentuk *cross-link* dengan protein intrasel yang selanjutnya menyebabkan stress oksidatif di sitosol dan menurunkan aktivitas pembelahan sel (Bohlender *et al.*, 2005).

Akumulasi AGE di ginjal merusak ECM baik struktur dan fungsinya melalui berbagai mekanisme termasuk pembentukan inter dan intramolekul *cross-linking*-nya dengan matriks protein dan aktivasi *downstream* signalingnya (Forbes *et al.*, 2003; Yamagishi dan Matsui, 2010). Pembentukan AGE pada ECM mengganggu interaksi antar matrik dan antar matrik dengan sel yang terlibat dalam perkembangan glomerulosklerosis diabetik (Yamagishi dan Matsui, 2010). Interaksi matrik dengan sel dirusak oleh matrik glikasi dengan mengubah adesi seluler, merusak pertumbuhan sel, dan menghilangkan fenotip epitel (Forbes *et al.*, 2003).

Glikasi non-enzimatik kolagen tipe 4 dengan laminin dan fibronektin mengurangi kemampuan mereka untuk berinteraksi dengan muatan negatif proteoglikan, meningkatkan permeabilitas kapiler terhadap albumin (Yamagishi dan Matsui, 2010). Ekspresi ekstraseluler protein seperti fibronektin, kolagen tipe 1 dan 4 meningkat dengan meningkatnya dosis dan lama terpaparnya oleh AGE dengan atau tanpa adanya hiperglikemia (Forbes *et al.*, 2003). Pembentukan AGE pada berbagai protein matriks mengganggu degradasinya oleh *matrix metalloproteinase* (MMP), menyebabkan penebalan GBM dan ekspansi mesangial yang menandai nefropati diabetik. AGE dalam komponen matriks dapat menangkap dan *cross-link* secara kovalen dengan protein plasma yang terekstrasvasasi seperti lipoprotein sehingga memperburuk glomerulosklerosis (Yamagishi dan Matsui, 2010).

AGE dalam sirkulasi dapat berinteraksi dengan RAGE (*receptor for advanced glycation end product*) (Yamagishi dan Matsui, 2010). Penelitian Tanji *et al.* (2000) membuktikan bahwa akumulasi AGE mengupregulasi ekspresi RAGE pada podosit. Over-ekspresi RAGE pada tikus diabetes menunjukkan peningkatan albuminuria, serum kreatinin, hipertrofi renal, dan glomerulosklerosis dibandingkan tikus non-diabetik (Peppas dan Vlassara, 2005). Ikatan AGE dengan RAGE menginisiasi berbagai signal intraselular yaitu NADPH oksidase, p21<sup>ras</sup>, MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), signal ekstraselular kinase ½ (ERK ½) dan p38, serta GTPase Cdc42 dan Rac yang menghasilkan aktivasi dan translokasi faktor transkripsi seperti NFκB. Peningkatan aktivasi NFκB menstimulasi transkripsi target

gennya yaitu faktor pertumbuhan (CTGF, PDGF, TGF- $\beta$ , dan VEGF), Angiotensin II, molekul adesi (ICAM-1, VCAM-1, dan MCP-1), sitokin proinflamatori (IL-1 $\alpha$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$ ), dan RAGE sendiri (Goldin *et al.*, 2006; Goh & Cooper, 2008). AGE menginduksi apoptosis sel dan ekspresi VEGF pada kultur sel mesangial sehingga berkontribusi terhadap hiperfiltrasi glomerular dan albuminuria. AGE menstimulasi ekspresi MCP-1 yang berhubungan dengan infiltrasi monosit pada mesangium. Peningkatan ekspresi CTGF, PDGF, dan TGF- $\beta$  pada sel mesangial memediasi produksi kolagen tipe 4, fibronektin, dan laminin yang berkontribusi dalam glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstisial. Peningkatan Angiotensin II menurunkan produksi *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) pada sel endotel yang menyebabkan peningkatan tekanan sistemik dan intraglomerular sehingga berkontribusi terhadap hiperfiltrasi dan hipermeabilitas glomerulus (Yamagishi dan Matsui, 2010).



**Gambar 2.3 Peran Patofisiologis AGE-RAGE dalam Nefropati diabetik (Yamagishi dan Matsui, 2010)**

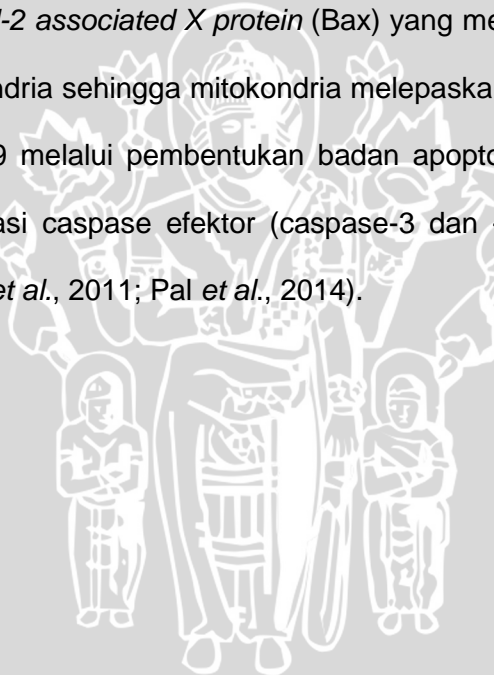
AGE juga menyebabkan injuri langsung pada podosit yang merupakan pemegang peran kunci dalam mempertahankan struktur dan fungsi barier filtrasi glomerulus serta perkembangan proteinuria melalui pengikatannya dengan RAGE podosit (Cavanagh, 2008). AGE menghambat ekspresi nefrin yang merupakan komponen kunci *slit diaphragm* pada podosit sehingga menyebabkan lepasnya podosit dari GBM dan *effacement* prosesus podosit (Doublier *et al.*, 2003). Paparan AGE pada podosit menginduksi aktivasi protein regulator siklus sel p27 yang menyebabkan apoptosis (Ruster *et al.*, 2009).

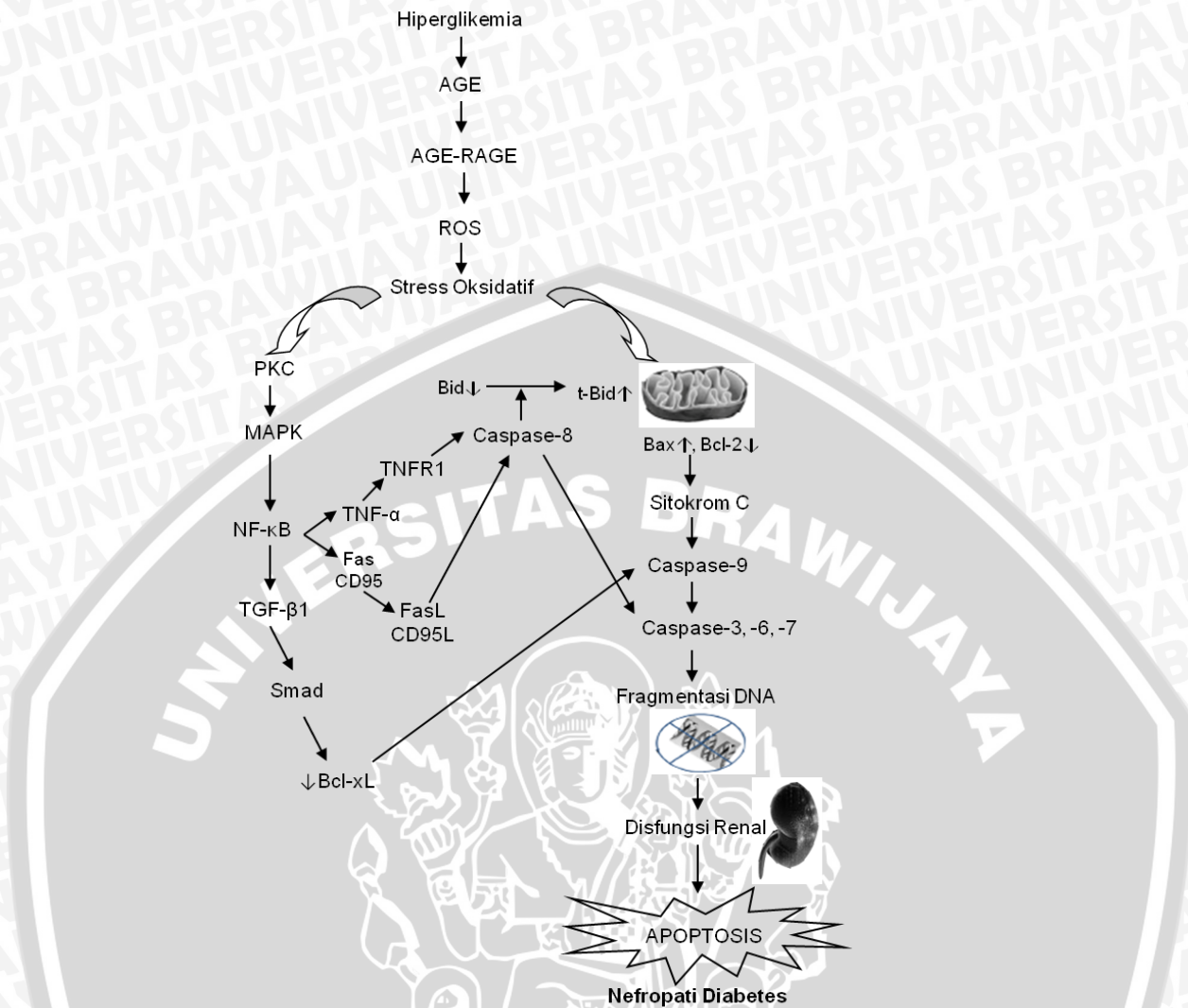


#### 2.4 Peran AGE dalam Apoptosis Sel Renal pada Nefropati diabetik

Apoptosis sel renal terlibat dalam progresi nefropati diabetik. Sel glomerulus (termasuk sel mesangial dan podosit) serta sel tubulus menunjukkan peningkatan apoptosis pada nefropati diabetik baik manusia maupun hewan coba (Kitada *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013). AGE dapat menginduksi apoptosis sel renal melalui jalur intrinsik maupun ekstrinsik (Gambar 2.4) (Pal *et al.*, 2014).

AGE mengaktifkan jalur intrinsik apoptosis melalui induksi peningkatan ROS intraseluler. Interaksi AGE dengan RAGE akan mengaktifkan peningkatan ROS yang menyebabkan stres oksidatif yang selanjutnya mengaktifkan PKC, MAPK, dan NF- $\kappa$ B. Stres oksidatif juga akan memicu netralisasi protein anti-apoptotik *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) dan aktivasi protein proapoptotik *Bcl-2 associated X protein* (Bax) yang menyebabkan gangguan integritas membran dari mitokondria sehingga mitokondria melepaskan sitokrom c. Sitokrom c akan mengaktifkan caspase-9 melalui pembentukan badan apoptotik (apoptosom) yang berikutnya menyebabkan aktivasi caspase efektor (caspase-3 dan -7) sebagai eksekutor apoptosis (Gambar 2.4) (Vucic *et al.*, 2011; Pal *et al.*, 2014).





**Gambar 2.4 Peran AGE dalam Apoptosis Sel Renal pada Nefropati diabetik (Pal et al., 2014)**

Peningkatan aktivasi NF-κB dapat secara langsung menginduksi apoptosis sel renal maupun melalui fungsinya dalam meningkatkan transkripsi faktor pertumbuhan dan sitokin proapoptosis (TGF-β dan TNF-α). Peningkatan Peningkatan TGF-β akan menginduksi apoptosis melalui jalur Smad yang berikutnya menurunkan aktivasi protein anti-apoptotik Bcl-xL dan mengaktifasi jalur intrinsik apoptosis. Aktivasi NF-κB menyebabkan peningkatan transkripsi gen protein pro-apoptotik seperti Fas dan *death receptor* (DR/CD95). Peningkatan Fas dan CD95 akan meningkatkan pengikatannya dengan ligannya yaitu FasL dan CD95L. TNF-α akan berikatan dengan reseptor kematian TNFR1. Ikatan ligan FasL menyebabkan reorganisasi kompleks Fas yang tidak aktif dan menstimulasi pengikatan protein adaptor *Fas-associated death domain* (FADD). Sedangkan ikatan ligan dengan reseptor TNFR1



menstimulasi pengikatan reseptor dengan protein adaptor *TNFR1-associated death domain protein* (TRADD). yang menstimulasi pengikatan reseptor dengan protein adaptor *TNFR1-associated death domain protein* (TRADD). Pengaktifan FADD dan TRADD akan mengaktifkan jalur ekstrinsik apoptosis melalui pengaktifan procaspase-8. Caspase-8 aktif kemudian menginisiasi jalur apoptosis langsung melalui pemotongan caspase efektor (caspase-3 dan -7) atau mengamplifikasi sinyal kematian sel dengan mengaktifkan jalur intrinsik apoptosis dengan memotong *BH3-interacting domain death agonist* (BID) menghasilkan bentuk aktifnya yaitu *truncated Bid* (tBID). tBID berikutnya mengalami translokasi menuju mitokondria untuk menstimulasi pelepasan sitokrom c (Gambar 2.4) (McIlwain *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2014).

## 2.5 Membran Filtrasi

Tahap pertama dari proses filtrasi pada ginjal adalah melibatkan filtrasi pada plasma di dalam glomerulus. Filtrasi glomerulus adalah suatu proses dari pembendungan aliran yang mana air dan substansi molekul-molekul kecil berpindah dari lumen kapiler, melewati membran filtrasi, dan masuk ke dalam kapsula bowman.

Membran filtrasi terdiri atas 3 lapisan yang membentuknya, yaitu: Sel Endotelial yang melapisi kapiler glomerulus, *Glomerular Basement Membrane*(GBM), dan Podosit.

### 2.5.1 Sel Endotelial

Sel endotelial adalah sejenis sel yang membentuk suatu jaringan yang disebut endotelium, yang memisahkan pembuluh darah dan sistem limfatik pada seluruh tubuh. Dalam kaitannya dengan kapiler membran filtrasi dalam glomerulus, sel endotelial yang membentuk jaringan endotelium berperan sebagai barier pertama yang membatasi antara intravaskular dengan ekstrasvaskular

### 2.5.2 GBM

*Glomerular Basement Membrane* adalah lapisan membran dasar pada glomerulus tempat terjadinya filtrasi senyawa-senyawa yang melewati celah di antara podosit. GBM merupakan fusi dari lapisan endotelium dan lapisan lamina basal podosit.

### 2.5.3 Podosit

Podosit adalah sel renal di dalam kapsula bowman yang berderet mengelilingi pembuluh darah kapiler glomerulus. Celah yang terbentuk di antara deret podosit yang berada di atas GBM berfungsi sebagai filtrasi awal. Sebuah lapisan diafragma yang terdiri dari protein seperti nefrin, podosaliksin dan kaderin berperan agar makromolekul seperti albumin dan globulin- $\gamma$  tetap berada pada sirkulasi darah, dan melewatkan molekul kecil seperti air, glukosa dan ion garam.

Podosit juga berperan dalam regulasi GFR. Ketika terjadi kontraksi pada podosit, celah di antara podosit menjadi menutup, hal ini menurunkan GFR sebab berkurangnya area filtrasi.

