

BAB VI

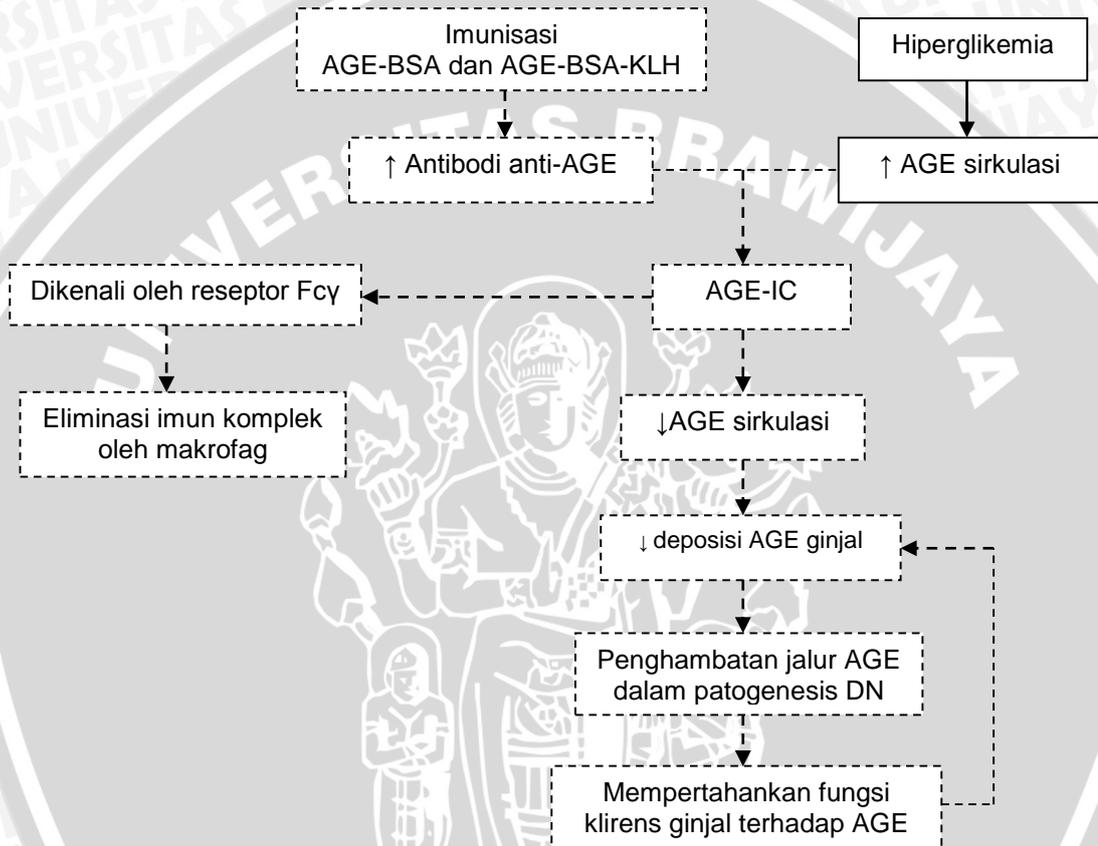
PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Imunisasi *Advanced Glycation End Product* terhadap Penghambatan Patomekanisme Diabetik Nefropati

Kondisi hiperglikemia jangka panjang pada penderita diabetes memicu terjadinya proses glikasi protein yang mengakibatkan peningkatan AGE. Dalam penelitian-penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa 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 (Shibayama *et al.*, 1999; Baydanoff *et al.*, 1996). Hasil penelitian ini memperkuat bukti bahwa kondisi hiperglikemia pada diabetes memicu peningkatan terbentuknya autoantibodi terhadap AGE.

Selanjutnya dalam penelitian ini dikaji lebih lanjut efek pemberian imunisasi AGE-BSA terhadap patogenesis nefropati diabetik. Proteinuria dan kadar glukosa darah yang termasuk sebagai salah satu manifestasi dari nefropati diabetik dikaji dalam penelitian ini untuk mengetahui keberhasilan induksi nefropati diabetik sekaligus mengkaji perbedaan tingkat nefropati yang terjadi antar kelompok. Pada hasil pengukuran proteinuria menunjukkan proteinuria yang signifikan lebih tinggi pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok diabetes yang mendapatkan preimunisasi AGE-BSA menunjukkan proteinuria yang tidak berbeda signifikan kelompok normal. Begitu juga pada hasil pengukuran kadar glukosa darah yang menunjukkan hiperglikemia yang signifikan lebih tinggi pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok diabetes yang mendapatkan

preimunisasi AGE-BSA menunjukkan kadar glukosa darah yang tidak berbeda signifikan kelompok normal. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa preimunisasi AGE-BSA pada kelompok diabetes memberikan perbaikan pada fungsi renal dan gambaran histologis ginjal.



Gambar 6.1 Dugaan Mekanisme Penghambatan Jalur AGE dalam Patogenesis Nefropati diabetik oleh Imunisasi AGE-BSA

Keterangan: garis putus-putus menunjukkan dugaan mekanisme penghambatan jalur AGE dalam nefropati diabetik oleh imunisasi AGE-BSA berdasarkan analisis hasil penelitian

Interaksi autoantibodi anti-AGE dengan AGE akan membentuk AGE-imun kompleks (AGE-IC). Terdapat korelasi penurunan kadar AGE serum saat kadar AGE-IC serum meningkat pada pasien diabetes (Turk *et al.*, 2001). Penelitian Al-Farabi *et al.* (2013) membuktikan bahwa mencit diabetes yang mendapatkan AGE-BSA menunjukkan peningkatan kadar AGE-IC secara signifikan dan berkorelasi

terbalik terhadap kadar AGE serum. Mera *et al.* (2011) membuktikan bahwa autoantibodi anti-N^ε-[carboxyethyl]-lysine (anti-CEL) berperan dalam *uptake* CEL-modified protein yang merupakan salah satu jenis AGE oleh makrofag hepar (sel Kupffer) untuk eliminasi soluble AGE-IC di hepar yang dimediasi oleh beberapa famili scavenger receptor (SR-A, SR-BI, LOX-1). Dengan demikian terdapat kemungkinan bahwa antibodi anti-AGE menurunkan kadar AGE sirkulasi melalui pembentukan AGE-IC. Padahal kompleks antibodi-antigen antara IgG dengan antigen akan dikenali oleh Fcγ reseptor pada makrofag yang meningkatkan kemampuan fagositosisnya sehingga mempercepat eliminasi dan degradasi AGE sirkulasi. Dengan menurunnya AGE di sirkulasi maka deposisi AGE di ginjal yang berasal dari penangkapan AGE sirkulasi juga akan menurun. Menurunnya deposisi AGE di jaringan akan menghambat jalur patogenesis nefropati diabetik oleh AGE yang selanjutnya juga akan menghambat proses ekspansi mesangial. Telah diketahui sebelumnya bahwa ekspansi mesangial yang terjadi dapat menurunkan proses filtrasi fungsional ginjal, yang mana berimbas pada kerja membran filtrasi yang juga menurun yang ditunjukkan pada pengukuran area membrane filtrasi pada penelitian ini. Dugaan mekanisme penghambatan jalur AGE dalam patogenesis nefropati diabetik oleh imunisasi AGE-BSA dijelaskan dalam Gambar 6.1 di atas.

Sehingga pada penelitian ini diukur area membran filtrasi untuk mengetahui fungsional ginjal. Hasil pengukuran area membran filtrasi menunjukkan bahwa terjadi penghambatan penurunan area membran filtrasi meskipun tidak berbeda signifikan secara statistik. Hal ini menegaskan bahwa dengan pemberian imunisasi AGE-BSA dapat sedikit menghambat penurunan luas area membran filtrasi pada glomerulus model mencit diabetes yang berarti dapat memperbaiki fungsional ginjal dalam hal filtrasi glomerulus.

Dari keseluruhan hasil penelitian mengindikasikan bahwa pemberian imunisasi AGE-BSA memperbaiki gejala hiperglikemia, proteinuria, dan menghambat penurunan luas area membran filtrasi. Dengan meningkatnya kadar anti-AGE akibat induksi imunisasi AGE-BSA kemungkinan akan menurunkan kadar AGE di sirkulasi yang selanjutnya akan menghambat ekspansi mesangial dan hipertrofi glomerular sehingga akan memperbaiki fungsional filtrasi ginjal yang ditunjukkan pada peningkatan luas area membran filtrasi. Hal ini didukung oleh penelitian serupa sebelumnya yang membuktikan bahwa preimunisasi AGE-BSA dan AGE-BSA-KLH mampu menurunkan kadar AGE serum pada mencit yang diinduksi diabetes (Al-Farabi *et al.*, 2013).

Dalam penelitian ini terdapat kelompok normal yang mendapatkan imunisasi AGE-BSA (Kelompok B). Tujuan dari kelompok ini adalah untuk mengkaji efek pemberian imunisasi pada kondisi normal. Kelompok B tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif dari semua variabel yang diukur dalam penelitian ini baik proteinuria, kadar glukosa darah, dan area membran filtrasi glomerulus. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian imunisasi AGE-BSA pada kondisi normal tidak memberikan efek toksik atau efek negatif terhadap fungsi dan histologi ginjal dilihat dari indikator yang diukur dalam penelitian ini. Dapat disimpulkan bahwa imunisasi AGE-BSA aman diberikan pada kondisi normal.

Namun di sisi lain, dimungkinkan antibodi anti-AGE dapat membentuk imun kompleks *insoluble* jika berikatan dengan AGE di jaringan yang diduga justru dapat merusak integritas membran basal glomerular dan berkontribusi dalam progresivitas kelainan mikrovaskular jika terakumulasi di glomerulus (Turk *et al.*, 2001). Memang dalam penelitian ini tidak secara langsung menilai ada atau tidaknya deposisi imun kompleks *insoluble* pada jaringan ginjal dari efek imunisasi namun hasil penelitian ini dapat memperlemah dugaan tersebut karena dilihat dari

keseluruhan variabel yang diukur dalam penelitian ini, imunisasi menunjukkan efek renoprotektif. Dengan menurunnya deposisi AGE di jaringan ginjal dan peningkatan eliminasi AGE sirkulasi karena imunisasi, maka kesempatan anti-AGE untuk membentuk imun kompleks *insoluble* di jaringan ginjal juga akan menurun.

Terbentuknya AGE-IC baik AGE-IC *soluble* maupun *insoluble*, selain dapat mempercepat eliminasi AGE oleh fagositosis makrofag melalui mekanisme opsonisasi, juga kemungkinan dapat mengaktivasi sistem komplemen. Di satu sisi, aktivasi komplemen juga akan meningkatkan opsonisasi dan fagositosis, namun aktivasi komplemen juga dapat meningkatkan respon inflamasi yang dapat memperburuk diabetes nefropati. Hal ini membutuhkan penelitian lebih lanjut apakah AGE-IC akan memicu aktivasi sistem komplemen yang berikutnya memperburuk inflamasi pada diabetes nefropati.

Secara keseluruhan, penelitian ini memberikan bukti bahwa antibodi anti-AGE memiliki peran renoprotektif dalam patogenesis nefropati diabetik. Pemberian preimunisasi AGE-BSA dapat menghambat progresi nefropati diabetik. Penelitian ini memberikan dasar pengembangan terapi nefropati diabetik berbasis imunoterapi dengan imunisasi AGE sebagai kandidat potensial. Penelitian lebih lanjut secara *in vitro* terkait pembuktian reaktivitas antibodi anti-AGE hasil imunisasi dibandingkan dengan antibodi-AGE yang terbentuk normal dalam tubuh dalam kemampuannya mengikat protein terglikasi serta mekanisme penghambatan signaling selular AGE oleh anti-AGE perlu dilakukan.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu produksi imunisasi AGE-BSA, 4 ekor mencit yang mati ditengah penelitian, serta terdapat *bias* karena tidak rutinnya pemberian pakan mencit pada minggu ke-4 penelitian. Untuk

imunisasi AGE dengan variable luas area membran filtrasi, penelitian tidak menunjukkan perubahan bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

