

KARYA AKHIR

**ANALISIS KADAR *PODOCIN* URIN SEBAGAI PENANDA
DINI NEFROPATI DIABETIK PADA PENDERITA
DIABETES MELITUS TIPE 2**

***ANALYSIS OF URINARY PODOCIN LEVELS AS AN EARLY
MARKER OF DIABETIC NEFROPATHY IN TYPE 2
DIABETES MELLITUS***

**EKO PUTRI RAHAJENG
C108216201**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP.1)
DEPARTEMEN ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**ANALISIS KADAR PODOCIN URIN SEBAGAI PENANDA
DINI NEFROPATI DIABETIK PADA PENDERITA
DIABETES MELITUS TIPE 2**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi
Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

**EKO PUTRI RAHAJENG
C108216201**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)
DEPARTEMEN ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

KARYA AKHIR

**ANALISIS KADAR PODOCIN URIN SEBAGAI PENANDA DINI
NEFROPATI DIABETIK PADA PENDERITA
DIABETES MELITUS TIPE 2**

Disusun dan diajukan oleh:

EKO PUTRI RAHAJENG
Nomor Pokok: C108216201

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 11 Februari 2021
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat

dr. Fitriani Mangarengi, Sp.PK(K)
Pembimbing Utama

Dr.dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK
Pembimbing Anggota

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran Unhas

dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D
NIP. 19680518 199802 2 001

Wakil Dekan,
Wakil Dekan Bidang Akademik



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 19680518 199802 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : EKO PUTRI RAHAJENG

Nomor Pokok : C108216201

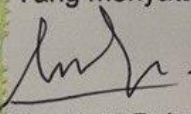
Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini, benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Januari 2021



Yang menyatakan,


Eko Putri Rahajeng

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**ANALISIS KADAR *PODOCIN* URIN SEBAGAI PENANDA DINI NEFROPATI DIABETIK PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2**” sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis menghaturkan terima kasih yang tulus kepada dr. Fitriani Mangarengi, Sp.PK (K) selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK selaku Anggota Penasihat/Sekretaris Pembimbing, Dr. dr. Arifin Seweng, MPH sebagai Anggota Komisi Penasihat/Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, Dr. dr. Hasyim Kasim, SpPD-KGH sebagai Anggota Tim Penilai, dan Dr. dr. Liong Boy Kurniawan, M.Kes, Sp.PK (K) sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah memberi kesediaan waktu, saran dan bimbingan sejak masa penelitian, penyusunan hingga seminar hasil penelitian ini.

Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Guru Besar di Bagian Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK-UNHAS, Alm. Prof. dr. Hardjoeno, Sp.PK (K), yang telah merintis pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FK Unhas.
2. Guru sekaligus orang tua kami, dr. H. Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK (K) dan dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang senantiasa mendukung, mendidik, serta membimbing dengan penuh kesabaran, ketulusan hati dan memberi nasehat selama penulis menjalani pendidikan.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK (K), guru kami yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati dan memberi masukan selama penulis menjalani pendidikan.
4. Manajer PPDS FK-UNHAS dr. Ulang Bahrun, Sp.PK (K), Ph.D, yang juga merupakan dokter pembimbing akademik penulis, guru sekaligus orang tua kami yang bijaksana, senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta memotivasi penulis.
5. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M. Kes, Sp.PK, yang juga merupakan dosen pembimbing karya akhir penulis. Guru kami yang bijaksana, senantiasa memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta

memberikan masukan dan bimbingan dalam penyusunan karya akhir ini.

6. Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK, guru kami yang penuh pengertian dan senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.
7. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr.Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K), guru kami yang bijaksana dan penuh dengan kesabaran yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat serta semangat.
8. Dr. Fitriani Mangarengi, Sp.PK (K), Ketua Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS periode 2015-2017 dan dokter pembimbing karya akhir penulis. Guru kami yang penuh dengan kesabaran, selalu membimbing, mengarahkan, memberi nasehat dan motivasi selama pendidikan serta dengan sangat sabar memberikan masukan dan bimbingan dalam penyusunan karya akhir ini.
9. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
10. Pembimbing metodologi Dr dr. Arifin Seweng, MPH yang telah membimbing penulis dalam bidang Metode Penelitian dan Statistik selama penyusunan tesis ini.

11. Dosen-dosen penguji : Dr. dr. Hasyim Kasim, Sp.PD-KGH dan Dr. dr. Liong Boy Kurniawan, M.Kes, Sp.PK (K) yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kami ilmu dan saran-sarannya dalam penyempurnaan karya akhir ini.
12. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
13. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSPTN UNHAS, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Stella Maris, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Kepala PMI, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.
14. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
15. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
16. Teman-teman sejawat PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik, khususnya kepada teman-teman angkatanku tersayang Troponin: dr. Rira, dr. Ivon, dr. Fika, dr. Oche, dr. Geby, dr. Marini, dr. Anton, dr. Anwar dan dr. Tarau yang telah berjuang bersama dengan berbagi

suka dan duka selama masa pendidikan penulis. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga.

17. Senior-senior terbaikku dr. Chelvi Wijaya, Sp.PK, dr. Fatmawati Idris, Sp.PK, dr. Febrina Rovani Sp.PK, dr. Sherly Sp.PK, dr. Dewi Suharti, Sp.PK, dr. Steven Tiro, Sp.PK, para senior Greyzone, atas semua ilmu dan bantuannya selama proses pendidikan penulis.
18. Teman-teman sejawat PPDS, baik senior maupun junior yang saya sayangi dan banggakan serta analis yang turut membantu dalam proses pengumpulan sampel yang telah berbagi suka dan duka dalam proses pengumpulan sampel penelitian ini.
19. Nurilawati, SKM atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.
20. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda Akhwan, Ibunda Warni, Bapak mertua Solikin, dan Ibu mertua Sukarti atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun materi selama ini. Terima kasih kepada saudara saya tercinta Mohamad Aldi Saputra, yang telah memberikan doa dan semangat, serta seluruh keluarga besar atas kasih sayang dan dukungan serta doa tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan dengan baik.

Khusus kepada suami tercinta, Fendik Atmaja dengan penuh kecintaan penulis sampaikan terima kasih atas segala pengorbanan, pengertian, dukungan, kasih sayang, semangat dan doa tulus selama ini yang telah mengiringi perjalanan panjang penulis dalam menjalani pendidikan. Terima kasih atas kerelaan, keikhlasan dan kesabaran untuk mengizinkan penulis melanjutkan pendidikan sehingga begitu banyak waktu kebersamaan yang terlewatkan.

Terima kasih pula untuk kedua ananda tersayang Razqa Alkhalifi Ardhani dan Raline Aprilia Shanum, dengan penuh kecintaan dan kebanggaan penulis sampaikan terima kasih atas segala pengorbanan, pengertian, dukungan, semangat dan doa tulus selama ini yang telah mengiringi perjalanan panjang penulis dalam mengikuti pendidikan. Kalian berdua merupakan sumber inspirasi dan semangat terbesar bagi Mama.

Terima kasih penulis sampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberi bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Melalui kesempatan ini pula, perkenankan penulis menghaturkan permohonan maaf yang setulus-tulusnya atas segala kekhilafan dan kesalahan yang telah dilakukan baik sengaja maupun tidak sengaja selama masa pendidikan sampai selesainya tesis ini. Penulis berharap tesis ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa mendatang.

Makassar, Januari 2021

Eko Putri Rahajeng

ABSTRAK

EKO PUTRI RAHAJENG. *Analisis Kadar Podocin Urin Sebagai Penanda Dini Nefropati Diabetik Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2* (Dibimbing oleh Fitriani Mangarengi dan Yuyun Widaningsih)

Nefropati diabetik (ND) merupakan salah satu komplikasi mikrovaskular dari diabetes melitus (DM). Podosit adalah salah satu struktur dalam glomerulus yang membentuk *glomerular filtration barrier*. Podosit merupakan sel pertama yang mengalami dampak akibat DM. Salah satu ciri terjadinya cedera podosit (podositopati) adalah podosituria. Saat ini, penanda baru dan lebih spesifik untuk deteksi awal dan prediksi ND yang muncul di urin sebelum adanya mikroalbuminuria dievaluasi, dan studi umumnya difokuskan pada produk protein spesifik podosit karena sulit untuk mendeteksi podosit di urin secara langsung. *Podocin* adalah protein spesifik podosit, merupakan protein membran yang terletak dalam *foot processes*, serta ikut membentuk *slit diaphragm*. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis kadar *podocin* urin sebagai penanda dini terjadinya ND pada pasien DM tipe 2.

Penelitian dengan desain *cross sectional* ini menggunakan sampel penderita DM tipe 2. Jumlah sampel dalam penelitian sebanyak 71 sampel yang terdiri dari 34 sampel non ND dan 37 sampel ND. *Podocin* diperiksa menggunakan metode ELISA. Data dianalisis secara statistik dengan uji *T*, *Anova* dan *Spearman*.

Hasil penelitian diperoleh bahwa terdapat kecenderungan peningkatan kadar *podocin* urin pada normoalbuminuria, mikroalbuminuria dan makroalbuminuria, meskipun secara statistik tidak bermakna ($p=0,150$). Kadar *podocin* urin tidak berkorelasi dengan kadar albumin urin ($p=0,115$).

Kata kunci: DM tipe 2, Nefropati Diabetik, *Podocin* Urin, Albuminuria

ABSTRACT

EKO PUTRI RAHAJENG. *Analysis of Urine Podocin Level as Early Markers of Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus Patients* (Supervised by Fitriani Mangarengi dan Yuyun Widaningsih)

Diabetic nephropathy (DN) is one of the microvascular complications of diabetes mellitus (DM). Podocytes are one of the structures in the glomerulus that form the glomerular filtration barrier. Podocytes are the first cells affected in DM. One of the characteristics of podocyte injury (podocytopathy) is podocyturia. The diagnosis of podocytopathy can be made by detecting specific protein podocytes in the urine. Podocin is a podocyte-specific protein, a membrane protein located in the foot processes, and also contributes to forming the slit diaphragm. The aim of this study was to analyze urine podocin levels as an early marker of DN in type 2 DM patients.

This cross sectional study used a sample of type 2 diabetes mellitus patients. The number of samples in the study were 71 samples consisting of 34 non-DN samples and 37 DN samples. Podocin was examined using the ELISA method. Data were analyzed statistically with the T, Anova and Spearman tests.

The results showed that there was a tendency to increase urine podocin levels in normoalbuminuria, microalbuminuria and macroalbuminuria, although it was not statistically significant ($p = 0.150$). Urine podocin level did not correlate with urine albumin level ($p = 0.115$).

Key words: type 2 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, urine podocin, albuminuria

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	i
ABSTRAK	vii
ABSTRAC	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Hipotesis Penelitian	6
E. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Nefropati Diabetik	
1. Definisi	8
2. Epidemiologi	9
3. Faktor Risiko	10
4. Patogenesis	14
5. Klasifikasi Nefropati Diabetik	25
6. Diagnosis	27

B. Podosit	34
C. Cedera Podosit Pada Nefropati Diabetik	38
D. <i>Podocin</i>	45
III. KERANGKA PENELITIAN	
A. Kerangka Teori	48
B. Kerangka Konsep	49
IV. METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	50
B. Tempat dan Waktu Penelitian	50
C. Populasi Penelitian	50
D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	51
E. Perkiraan Besar Sampel	51
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	52
G. Izin Subjek Penelitian dan Kelayakan Etik	52
H. Cara Kerja	53
I. Skema Alur Penelitian	63
J. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	63
K. Metode Analisis	65
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	66
A. Hasil Penelitian	66
B. Pembahasan	72
C. Keterbatasan Penelitian	79
D. Ringkasan Hasil Penelitian	79

VI. PENUTUP	80
A. Kesimpulan	80
B. Saran	80
DAFTAR PUSTAKA	81
Lampiran 1. Persetujuan Etik	87
Lampiran 2. Naskah Penjelasan untuk Mendapat Persetujuan dari Subyek Penelitian	88
Lampiran 3. Formulir <i>Informed Consent</i>	90
Lampiran 4. Data Penelitian	91
Lampiran 5. <i>Curriculum Vitae</i>	93

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Stadium CKD berdasarkan katagori GFR	32
2. Pengenceran larutan standar	60
3. Karakteristik subyek penelitian (n=71) (Data primer)	66
4. Gambaran faktor risiko ND pada subyek penelitian (Data primer dan sekunder)	67
5. Perbandingan kadar <i>podocin</i> urin berdasarkan kategori albumin urin (Data primer)	69
6. Perbandingan kadar <i>podocin</i> urin antara non ND dengan ND (Data primer)	70
7. Korelasi albumin urin dengan kadar <i>podocin</i> urin	71

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Mekanisme merokok dalam mempercepat cedera ginjal	14
2. Patogenesis Nefropati Diabetik	15
3. Mekanisme aktivasi jalur metabolik pada DM	16
4. Mekanisme perubahan hemodinamik ginjal pada DM	24
5. Lesi patologis pada ND	33
6. Struktur Glomerulus	34
7. Komponen penyusun glomerulus	35
8. Struktur glomerulus pada ND	39
9. Mekanisme peningkatan stres oksidatif dan cedera podosit akibat hiperglikemia	41
10. Struktur molekul podosit dan <i>slit diaphragm</i>	46
11. Pengenceran larutan standar	60
12. Perbandingan kadar <i>podocin</i> urin berdasarkan kategori kadar albumin urin	69
13. Perbandingan kadar <i>podocin</i> urin antara non ND dengan ND	70
14. Korelasi kadar albumin urin dengan kadar <i>podocin</i> urin	71

DAFTAR SINGKATAN

ACEI	: <i>Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor</i>
ADA	: <i>American Diabetes Association</i>
AGE	: <i>Advanced Glycosylation End products</i>
ARB	: <i>Angiotensin Receptor Antagonist</i>
AS	: <i>Amerika Serikat</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
C	: <i>Celcius</i>
CD2AP	: <i>CD-2-Associated Protein</i>
CHF	: <i>Congestive Heart Failure</i>
CKD	: <i>Chronic Kidney Disease</i>
CKD-EPI	: <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
CTGF	: <i>Connective Tissue Growth Factor</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
DCCT	: <i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
EDIC	: <i>Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications</i>
DGs	: <i>Dystroglycans</i>
DHAP	: <i>Dihydroxyacetone Phosphate</i>
dL	: <i>Deciliter</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
ECM	: <i>extracellular matrix</i>
eGFR	: <i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EMT	: <i>Epithelial-Mesenchymal Transition</i>

eNOS	: <i>Endothelial NO Synthase</i>
ESRD	: <i>End-Stage-Renal Disease</i>
ET-1	: <i>Endotelin-1</i>
FKUH	: <i>Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin</i>
g	: <i>Gram</i>
GADPH	: <i>Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase</i>
GBM	: <i>Glomerular Basement Membrane</i>
GF	: <i>Growth factor</i>
GFAT	: <i>Fructose-6-Phosphate Amidotransferase</i>
GFB	: <i>Glomerular Filtration Barrier</i>
GLUT-1	: <i>Glucose Transporter-1</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HRP	: <i>Horseradish Peroxidase</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IMT	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
ISK	: <i>Infeksi Saluran Kemih</i>
KEPK	: <i>Komisi Etik Penelitian Kesehatan</i>
kg	: <i>Kilogram</i>
L	: <i>Liter</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
m ²	: <i>Meter Persegi</i>

mg	: Miligram
ml	: Mililiter
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NAD ⁺	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
ND	: Nefropati Diabetik
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NGSP	: <i>National Glycohaemoglobin Standarization Program</i>
ng	: Nanogram
nm	: Nanometer
NO	: <i>Nitric oxide</i>
NOX	: <i>NADPH Oxidase</i>
PAI -1	: <i>Plasminogen Activator Inhibitor -1</i>
PDGF-B	: <i>Platelet-Derived Growth Factor Subunit B</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
RAAS	: <i>Renin-Angiotensin-Aldosterone System</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPM	: <i>Revolutions Per Minute</i>
RSPTN	: Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri
SD	: <i>Slit Diaphragm,</i>
TG	: <i>Triglyceride</i>
TGF-β1	: <i>Transforming Growth Factor- β1</i>
TTGO	: Tes Toleransi Glukosa Oral
UACR	: <i>Urinary Albumin-To Creatinine Ratio</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
μg	: Mikrogram

μL : Mikroliter

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Nefropati diabetik (ND) merupakan salah satu komplikasi mikrovaskular utama dari diabetes melitus (DM) yang berperan dalam peningkatan morbiditas dan mortalitas (Lee & Choi, 2015). Nefropati diabetik adalah penyebab utama *chronic kidney disease* (CKD) dan *end-stage-renal disease* (ESRD) di seluruh dunia (Reidy *et al.*, 2014). Perkembangan penyakit ini terjadi dalam serangkaian tahapan serta terkait dengan kontrol glikemik dan tekanan darah (Sulaiman, 2019). Peningkatan prevalensi DM juga menyebabkan peningkatan jumlah komplikasi makro dan mikrovaskular (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

Tahun 2015, 415 juta orang di seluruh dunia diperkirakan menderita DM & prevalensi diproyeksikan meningkat menjadi 642 juta pada tahun 2040 (Alicic *et al.*, 2017). Nefropati diabetik menyumbang lebih dari 40% sebagai penyebab ESRD (Keri *et al.*, 2018). Di Amerika Serikat sekitar 200.000 pasien menjalani perawatan ESRD karena ND, dengan 50.000 pasien baru memulai dialisis setiap tahun (Reidy *et al.*, 2014).

Nefropati diabetik adalah penyebab utama ESRD yang membutuhkan terapi penggantian ginjal yaitu dialisis atau transplantasi. Terapi ini memiliki dampak ekonomi yang besar bagi penderita dan

keluarga. Deteksi dini keterlibatan ginjal pada pasien DM tipe 2 penting untuk pengobatan yang tepat waktu dan memperlambat perkembangan penyakit menjadi ESRD (Kostovska *et al.*, 2019).

Sejauh ini mikroalbuminuria dianggap sebagai *gold standart* dalam deteksi dini ND meskipun merupakan penanda non-spesifik yang secara bersamaan dapat hadir dalam kondisi patologis lain seperti infeksi saluran kemih, penyakit kardiovaskular, pada pasien non-diabetes dan lain-lain (Kostovska *et al.*, 2019). Beberapa pasien DM tanpa mikroalbuminuria menunjukkan perubahan patologis ginjal tingkat lanjut, sehingga menunjukkan bahwa mikroalbuminuria mungkin bukan penanda yang optimal untuk deteksi dini ND (Lee & Choi, 2016). Berdasarkan hal tersebut, perlu untuk menemukan biomarker baru yang lebih baik agar efektif dalam mendeteksi dan mengintervensi ND awal guna pencegahan perkembangan CKD yang lebih baik (Ngan *et al.*, 2019).

Struktur dalam glomerulus ginjal terdiri dari 3 lapis yaitu podosit, sel endotel vaskuler dan *glomerular basement membrane* (GBM), yang membentuk *glomerular filtration barrier* (GFB) (Podgórski *et al.*, 2019). Podosit sangat penting dalam menjaga fungsi GFB, sehingga cedera podosit (podositopati) dikaitkan dengan peningkatan permeabilitas glomerulus, yang bermanifestasi secara klinis sebagai albuminuria (Burger *et al.*, 2014).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa podosit merupakan sel pertama yang mengalami dampak akibat DM. Hilangnya podosit diyakini

sebagai salah satu prediktor terkuat dari perkembangan ND (Denhez & Geraldes, 2017). Pentingnya podosit dalam menjaga fungsi ginjal dilihat dari pemeriksaan biopsi ginjal, yang menunjukkan adanya penurunan signifikan jumlah podosit pada pasien yang menderita DM dalam waktu yang singkat, sebelum munculnya mikroalbuminuria atau penanda lain dari penyakit ini (Denhez & Geraldes, 2017). Penelitian pada hewan dan manusia menggambarkan bahwa pada awal DM terjadi perubahan morfologi podosit diikuti oleh hilangnya podosit progresif yang secara langsung berkontribusi pada albuminuria (Burger *et al.*, 2014).

Podosit memiliki morfologi seluler unik yang kompleks, terdiri dari badan sel, *major processes* dan *foot processes* (Jefferson *et al.*, 2011; Bose *et al.*, 2017; Podgórski *et al.*, 2019). *Slit diaphragm* (SD) adalah sambungan interseluler khusus yang dibentuk oleh *foot processes* yang saling berinteraksi dengan *foot processes* lainnya yang berdekatan membentuk celah yang sempit (Bose *et al.*, 2017; Jochen & Altintas, 2016). *Slit diaphragm* dapat digambarkan sebagai kompleks multiprotein yang mengatur homeostasis dan fungsi podosit (Denhez & Geraldes, 2017). Protein yang terdapat pada SD yaitu *nephrin*, *podocin*, *P-cadherin*, mFAT 1, *the nephrin homologue neph 1*, dan protein intraseluler terkait seperti CD2AP (*CD-2-associated protein*). Integritas struktural dan fungsional dari GFB tergantung pada interaksi antara protein-protein tersebut (Bandiara, 2013).

Salah satu ciri terjadinya cedera podosit (podositopati) adalah podosituria (Bobkova *et al.*, 2018). Saat ini, penanda baru yang lebih spesifik untuk deteksi awal dan prediksi ND yang muncul di urin sebelum adanya mikroalbuminuria dievaluasi, dan studi umumnya difokuskan pada produk protein spesifik podosit karena sulit untuk mendeteksi podosit di urin secara langsung (Kostovska, 2019).

Podocin merupakan protein membran dengan berat molekul 42kD yang terletak dalam *foot processes* podosit, serta ikut membentuk SD dengan protein *nephrin* (Zang & Huang, 2012). *Podocin* berperan penting dalam menjaga struktur dan fungsi SD sebagai protein pendukung (Zang & Huang, 2012). Ekskresi protein spesifik podosit urin seperti seperti *nephrin*, *synaptopodin*, *podocalyxin*, dan *podocin*, meningkat pada pasien DM dibandingkan dengan kontrol. Namun, hanya ekskresi *nephrin* urin dan *synaptopodin* yang terbukti memiliki korelasi positif dengan albuminuria dan penurunan fungsi ginjal (Wang *et al.*, 2007). Berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh ElShaarawy *et al.*, (2019), menunjukkan terdapat korelasi positif yang signifikan antara *podocin* urin dengan *urinary albumin-to creatinine ratio* (UACR).

Berdasarkan latar belakang ini peneliti tertarik untuk melakukan penelitian analisis kadar *podocin* urin sebagai penanda dini ND pada DM tipe 2.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

Apakah kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2 dapat dipertimbangkan sebagai penanda dini ND?

C. TUJUAN PENELITIAN

1. Tujuan Umum

Menganalisis kadar *podocin* urin sebagai penanda dini terjadinya nefropati diabetik pada penderita DM tipe 2.

2. Tujuan Khusus

- a. Diketuainya kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2 dengan kadar albuminuria normal.
- b. Diketuainya kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria
- c. Diketuainya kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2 dengan makroalbuminuria.
- d. Diketuainya perbedaan kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2 yang memiliki kadar albuminuria normal, mikroalbuminuria dan makroalbuminuria.

- e. Diketahui perbedaan kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2 dengan ND dan non-ND.
- f. Melihat apakah ada korelasi antara kadar albumin urin dengan kadar *podocin* urin pada penderita DM tipe 2.

D. HIPOTESIS PENELITIAN

1. Kadar *podocin* urin lebih tinggi pada penderita DM tipe 2 ND dibandingkan non ND.
2. Kadar *podocin* urin lebih tinggi pada penderita DM tipe 2 dengan makroalbuminuria dibandingkan mikroalbuminuria.
3. Kadar *podocin* urin lebih tinggi pada penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria dibandingkan normoalbuminuria.
4. Makin tinggi kadar albumin urin makin tinggi pula kadar *podocin* urin pada pasien DM tipe 2
5. Ditemukannya *podocin* urin pada keadaan normoalbuminuria (DM tipe 2 non ND).

E. MANFAAT PENELITIAN

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan tentang *podocin* sebagai penanda dini ND pada DM tipe 2.
- 2.

2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu klinisi dalam deteksi dini adanya komplikasi ND pada DM tipe 2 dan menentukan penatalaksanaan yang tepat guna mencegah perkembangan kearah ESRD.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Nefropati Diabetik

1. Definisi

Nefropati diabetik diidentifikasi secara klinis sebagai diabetes dengan *albumin-to creatinine ratio* (ACR) urin yang persisten ≥ 30 mg/g kreatinin dan atau penurunan progresif *estimated glomerular filtration rate* (eGFR) <60 ml/menit/1,73 m² (Toth-Manikowski & Athyros, 2015; Alicic *et al.*, 2017; ADA, 2020). Dua dari tiga spesimen UACR yang dikumpulkan dalam periode 3-6 bulan harus abnormal sebelum mempertimbangkan pasien memiliki albuminuria (ADA, 2020).

Jika ditemukan adanya gambaran atipikal ND, maka harus dipertimbangkan adanya penyakit ginjal lain. Karakteristik atipikal termasuk onset penurunan eGFR secara tiba-tiba atau penurunan eGFR secara cepat, peningkatan albuminuria atau perkembangan sindrom nefrotik atau nefritik terjadi secara tiba-tiba, hipertensi refrakter, tanda-tanda atau gejala penyakit sistemik lain, dan penurunan eGFR 30% dalam waktu 2-3 bulan sejak diberikan *renin-angiotensin system inhibitor* (Alicic *et al.*, 2017).

Pemeriksaan skrining ND harus dilakukan setiap tahun pada penderita DM tipe 1, dimulai 5 tahun setelah diagnosis DM ditegakkan dan

setiap tahun untuk semua penderita DM tipe 2 yang dimulai setelah diagnosis ditegakkan. Pasien dengan albuminuria, adanya retinopati diabetik sangat menunjukkan kearah ND (Alicic *et al.*, 2017).

2. Epidemiologi

Di seluruh dunia pada tahun 2015, 415 juta orang diperkirakan menderita DM dan prevalensi diproyeksikan meningkat menjadi 642 juta orang pada tahun 2040. Sekitar 30% penderita DM tipe 1 dan sekitar 40% DM tipe 2 akan mengalami ND (Alici *et al.*, 2017). Epidemio DM menyebabkan ND menjadi penyebab paling sering *end stage renal disease* (ESRD) dikebanyakan negara (Lim, 2014). Nefropati diabetik menyumbang > 40% sebagai penyebab ESRD (Keri *et al.*, 2018).

Negara-negara dengan insiden ESRD 40% - 50% yaitu termasuk Israel, Korea, Hong Kong, Taiwan, Filipina, Jepang, Amerika Serikat (AS), dan Selandia Baru. Tahun 2009-2011, DM adalah penyebab utama ESRD pada sekitar 60% pasien di Malaysia, Meksiko, dan Singapura. Tahun 2011, tingkat kejadian ESRD akibat DM di AS adalah 44, 266, dan 584 per juta untuk kelompok usia masing-masing 20-44, 45-64 dan 65-74 tahun. Temuan serupa dicatat dalam penelitian AusDiab terhadap 11.247 orang Australia penderita DM. (Lim, 2014).

3. Faktor Risiko

Nefropati diabetik adalah kondisi kronis yang berkembang selama bertahun-tahun (Marshall & Flyvbjerg, 2017). Tidak semua penderita DM mengalami ND (Lim, 2014). Beberapa faktor risiko yang berkontribusi dalam perkembangan ND adalah sebagai berikut:

a. Durasi DM dan Kontrol Glikemia

Durasi DM, kontrol glikemik dan tekanan darah adalah salah satu faktor risiko utama ND (Marshall & Flyvbjerg, 2017). Paparan jaringan terhadap hiperglikemia kronis adalah faktor risiko utama ND (Parchwani & Upadhyah, 2012). Pasien dengan durasi DM yang lebih lama memiliki risiko lebih tinggi untuk berkembang ke arah nefropati (Tziomalos & Athyros, 2015).

Kontrol glikemik yang buruk adalah faktor risiko penting terhadap pengembangan dan perkembangan ND. Kadar HbA1c yang tinggi pada penderita DM tipe 1 dan tipe 2 dikaitkan dengan peningkatan risiko nefropati. Studi pengamatan melaporkan penurunan kejadian ND pada pasien DM tipe 1 dan DM tipe 2 dengan kontrol glikemik yang baik. Dalam studi *Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (DCCT/EDIC) kontrol glikemik yang baik mengurangi risiko perkembangan dari albuminuria sedang ke albuminuria berat atau ESRD (Tziomalos & Athyros, 2015).

b. Hipertensi

Hipertensi adalah faktor risiko independen ND (Tziomalos & Athyros, 2015). Hipertensi dapat mempercepat komplikasi DM, khususnya penyakit kardiovaskular dan nefropati (Powers, 2017). Hipertensi sistemik yang berkepanjangan merupakan kontributor penting terjadinya cedera endotel pada ginjal (Nazar, 2014). Keadaan hipertensi dan DM menginduksi stres oksidatif dan inflamasi, yang berkontribusi pada ND dan retinopati diabetik (de Faria *et al.*, 2011). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa menurunkan tekanan darah dengan menggunakan salah satu agen farmakologis pada pasien DM tipe 2 merupakan intervensi kuat dalam pencegahan komplikasi ini (Tziomalos & Athyros, 2015).

Hipertensi sistemik dan obesitas juga berkontribusi terhadap hiperfiltrasi glomerulus. Hiperfiltrasi glomerulus terjadi pada awal DM, ditemukan pada 10% - 40% atau hingga 75% pasien dengan DM tipe 1 dan hingga 40% pada DM tipe 2 (Alicic *et al.*, 2017). Berdasarkan PERKENI (2019), salah satu penatalaksanaan ND adalah optimalisasi kontrol hipertensi untuk mengurangi risiko ataupun menurunkan progresifitas nefropati.

c. Obesitas

Obesitas juga dikaitkan dengan peningkatan risiko ND. *Body Mass Index* (BMI) $> 30 \text{ kg/m}^2$ didefinisikan sebagai obesitas (Marshall & Flyvbjerg, 2017). Pada DCCT, obesitas abdominal dievaluasi

menggunakan ukuran lingkaran pinggang. Studi tersebut menyatakan adanya obesitas abdominal terkait dengan insiden albuminuria yang lebih tinggi tetapi tidak memprediksi penurunan eGFR, sedangkan penurunan berat badan mengurangi ekskresi albumin urin dan mencegah penurunan eGFR (Tziomalos & Athyros, 2015).

d. Dislipidemia

Dislipidemia berkontribusi pada perkembangan ND, menyebabkan arteriosklerosis pada ginjal atau toksisitas langsung ke sel-sel ginjal. Bukti menunjukkan bahwa menurunkan kadar lipid dapat mengurangi kadar proteinuria, mempertahankan eGFR dan memperlambat perkembangan gangguan ginjal (Ahmed, 2019).

Dalam studi DCCT/EDIC, kadar *low-density lipoprotein* (LDL) dan *triglyceride* (TG) yang lebih rendah dikaitkan dengan penurunan risiko perkembangan dari albuminuria sedang menjadi albuminuria berat atau ESRD. Peningkatan kadar kolesterol total pada pasien DM tipe 2 juga dikaitkan dengan peningkatan risiko perkembangan ekskresi albuminuria. Studi intervensi menggunakan statin juga memberikan bukti peran dislipidemia sebagai faktor risiko ND, yaitu menunjukkan bahwa menurunkan kadar LDL dikaitkan dengan keterlambatan perkembangan penyakit (Tziomalos & Athyros, 2015)

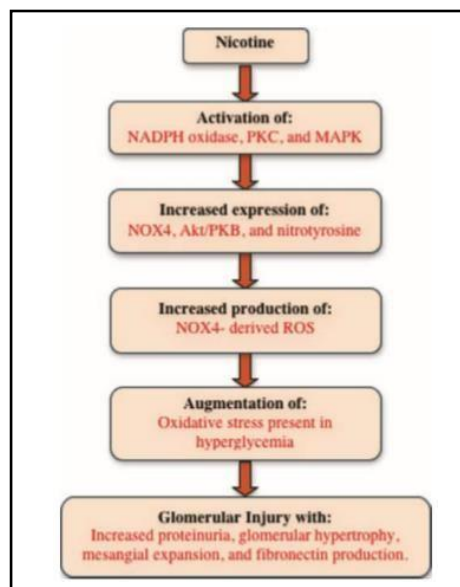
e. Genetik

Latar belakang genetik merupakan faktor penting dalam menentukan kerentanan terhadap ND (Parchwani & Upadhyah, 2012).

Gen bawaan tertentu dapat membuat orang tersebut rentan terhadap penyakit, selain itu ada juga gen yang bersifat renoprotektif (Nazar, 2014). Semakin banyak bukti yang menjelaskan peran faktor genetik dalam pengembangan ND (Satirapoj, 2010). Seseorang yang memiliki saudara kandung dengan penyakit DM dan mengalami nefropati mempunyai risiko empat hingga delapan kali lebih besar mengalami ND dibandingkan memiliki saudara kandung DM tanpa nefropati (Marshall & Flyvbjerg, 2017; Umanath & Lewis, 2018).

f. Merokok

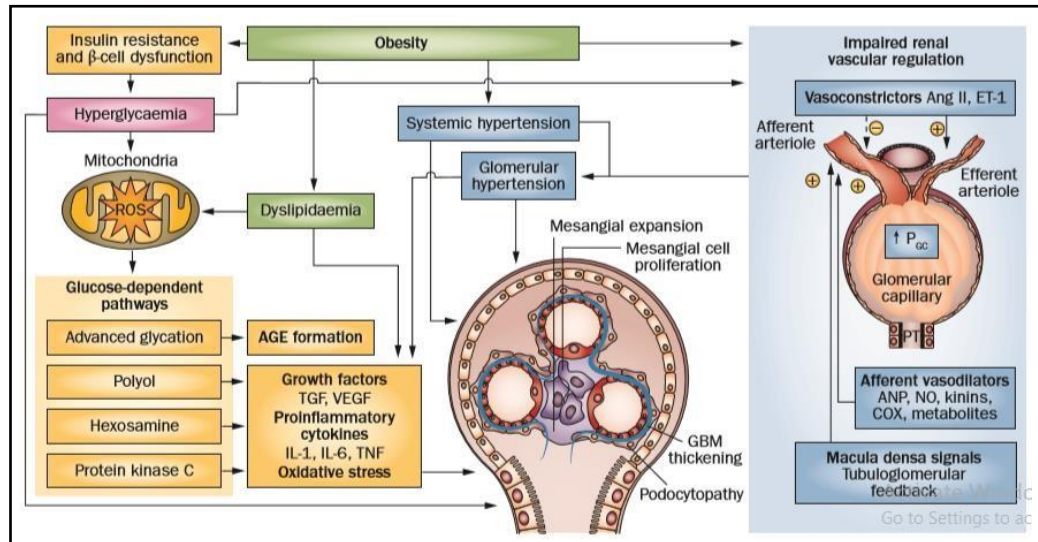
Merokok dapat mempercepat penurunan fungsi ginjal (Powers, 2017). Studi klinis menunjukkan merokok sebagai faktor utama yang memperburuk perkembangan ND pada penderita DM tipe 1. Merokok dapat meningkatkan proses oksidatif yang terjadi pada hiperglikemia. Mekanisme tersebut melalui peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) melalui aktivasi *NADPH oxidase* (NOX), *protein kinase C* (PKC), dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) (Gambar 1) (Gaballa & Farag, 2013)



Gambar 1. Mekanisme merokok dalam mempercepat cedera ginjal (Gaballa & Farag, 2013)

4. Patogenesis

Hiperglikemia menyebabkan perubahan struktural dan fungsional pada ginjal, seperti hiperfiltrasi glomerulus, hipertrofi epitel glomerulus dan tubular, mikroalbuminuria, diikuti dengan perkembangan penebalan dari GBM, akumulasi matriks mesangial dan proteinuria, hingga pada akhirnya terjadi glomerulosklerosis dan ESRD (Vinod, 2012). Patogenesis ND merupakan proses kompleks dan multi faktorial, cenderung terjadi sebagai akibat interaksi antara jalur metabolik dan hemodinamik yang sering terganggu pada DM (Gambar 2) (Kinaan *et al.*, 2017; Cao & Cooper, 2011).



Gambar 2. Patogenesis nefropati diabetik (Muskić *et al.*, 2014)

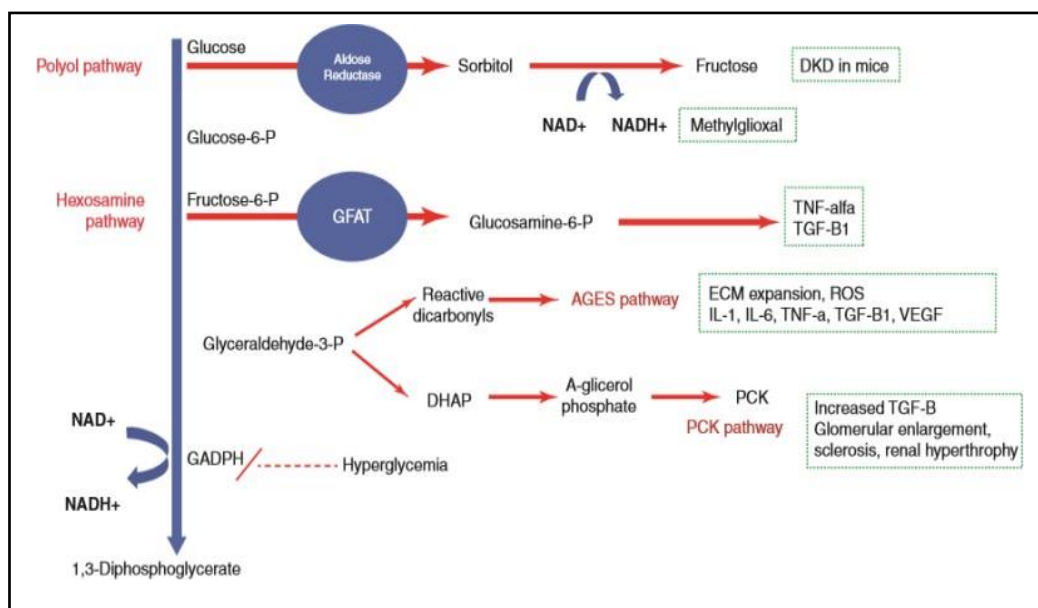
a. Jalur Metabolik.

Glikolisis adalah pemecahan glukosa oleh sel untuk menghasilkan energi. Glukosa intraseluler pertama-tama dipecah menjadi glukosa-6-fosfat dan kemudian fruktosa-6-fosfat. Kemudian *glyceraldehyde-3-phosphate* menjadi *1,3-diphosphoglycerate* dengan bantuan enzim *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GADPH).

Hiperglikemia menyebabkan kelebihan ROS yang diproduksi oleh rantai transpor elektron. *Reactive oxygen species* menyebabkan penghambatan enzim GADPH sehingga mencegah glikolisis terjadi dan menyebabkan upregulasi komponen glikolisis, khususnya glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa-6-fosfat (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

Glucose transporter-1 (GLUT-1) mengatur masuknya glukosa ke dalam sel-sel ginjal (Satirapoj, 2010). Hiperglikemia menyebabkan

teraktivasi 4 jalur yang berbeda yaitu jalur polioliol, jalur heksosamin, *protein kinase C* (PKC), dan penumpukan zat yang disebut sebagai *advanced glycosylation end products* (AGEs) (Toth-Manikowski & Atta, 2015). Jalur tersebut menjelaskan bagaimana hiperglikemia menyebabkan kerusakan jaringan (Gambar 3) (Satirapoj, 2010).



Gambar 3. Mekanisme aktivasi jalur metabolik pada DM (Carlos *et al.*, 2019)

1) Jalur polioliol

Selama hiperglikemia, kadar glukosa meningkat dengan cepat di jaringan, seperti pada ginjal yang merupakan *insulin independent* untuk pengambilan glukosa (Parchwani & Upadhyah, 2012). Ketika kadar glukosa intraseluler meningkat, jalur polioliol dari metabolisme glukosa menjadi aktif (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

Glukosa pertama-tama dikonversi menjadi sorbitol oleh enzim *aldose reductase* menggunakan *nicotinamide adenine dinucleotide*

phosphate (NADPH) sebagai kofaktor (Toth-Manikowski & Atta, 2015; Luis-Rodríguez *et al.*, 2012). Sorbitol kemudian dimetabolisme menjadi fruktosa oleh *sorbitol dehidrogenase* yang menggunakan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD⁺) sebagai kofaktor. Afinitas *aldose reductase* terhadap glukosa meningkat dalam keadaan hiperglikemia, menyebabkan sorbitol menumpuk dan menggunakan lebih banyak NADPH (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

Aktivasi jalur poliol yang berlebihan meningkatkan kadar sorbitol dan fruktosa. Sorbitol adalah alkohol yang sangat hidrofilik, tidak mudah berdifusi melalui membran sel dan terakumulasi intraseluler dengan potensial osmotik yang berbahaya. Fruktosa adalah molekul yang dapat difosforilasi menjadi *fructose-3-phosphate*, yang dipecah menjadi *3-deoxyglucosone*, kedua senyawa tersebut adalah agen glikosilasi kuat yang berpartisipasi dalam pembentukan AGEs (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

Penggunaan NADPH yang berlebihan oleh *aldosa reduktase* yang terlalu aktif dapat menyebabkan berkurangnya kofaktor yang tersedia untuk proses metabolisme dan enzim seluler lainnya, misalnya *glutathione reductase*, yang sangat penting untuk menjaga berkurangnya *glutathione* intraseluler (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012). Penurunan kadar *glutathione* diduga berkontribusi terhadap peningkatan stres oksidatif intraseluler yang pada akhirnya

menyebabkan peningkatan stres sel dan apoptosis (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

Selain itu penggunaan NAD⁺ oleh *sorbitol dehydrogenase* untuk metabolisme sorbitol menjadi fruktosa menyebabkan peningkatan rasio NADH/NAD⁺, dikaitkan dengan banyak perubahan metabolisme dan pensinyalan yang diketahui mengubah fungsi sel (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012). Fruktosa yang merupakan produk akhir dari jalur poliol, juga diduga sebagai nefrotoksin yang potensial (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

2) Jalur heksosamin

Fruktosa-6-fosfat akan dikonversi menjadi glukosamin-6-fosfat oleh enzim glutamin yaitu *glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT). Glukosamine-6-fosfat kemudian digunakan sebagai substrat untuk meningkatkan transkripsi sitokin inflamasi seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- α dan TGF- β 1. *Transforming growth factor*- β (TGF- β) adalah *growth factor* (GF) profibrotik yang menyebabkan ekspansi matriks mesangial dan hipertrofi ginjal pada ND dengan menifestasi fibrotik atau sklerotik (glomerulosklerosis dan fibrosis interstitial) (Vinod, 2012; Satirapoj, 2010; Luis-Rodríguez *et al.*, 2012). *Tumor necrosis factor*- α memiliki berbagai bioaktivitas yang dapat menyebabkan cedera ginjal, termasuk disregulasi aliran darah intraglomerular dan kelainan fungsi barier glomerulus karena rangsangan ROS (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

3) Jalur Pembentukan AGEs

Advanced glycation end products adalah hasil glikasi ireversibel dari protein yang terjadi karena adanya hiperglikemia intraseluler (Toth-Manikowski & Atta, 2015). Pada hiperglikemia kronis, beberapa kelebihan glukosa akan bergabung dengan asam amino bebas pada protein yang beredar atau protein jaringan. Proses non enzimatis ini awalnya membentuk produk glikosilasi awal yang reversibel dan selanjutnya AGEs yang ireversibel (Satirapoj, 2010). *Advanced glycosylation end products* meningkatkan akumulasi protein matriks dalam sel-sel epitel glomerulus, seiring dengan penurunan aktivitas kolagenase dan gangguan fungsional (sifat selektif dari sel-sel epitel *tight junctions* glomerulus), yang dapat berkontribusi pada ND (Satirapoj, 2010; Vinod, 2012).

Advanced glycation end products merusak sel dengan memodifikasi atau merusak fungsi protein intraseluler dan ekstraseluler. *Advanced glycation end products* juga dapat mengikat berbagai reseptor proinflamasi yang kemudian mengaktifkan produksi sitokin seperti *interleukin* (IL)-1, IL-6, dan TNF- α , GF seperti TGF- β 1, *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet-derived growth factor subunit B* (PDGF-B), *connective tissue growth factor* (CTGF), dan peningkatan ROS (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

Interleukin-1 (IL)-1 mengubah ekspresi faktor kemotaktik dan molekul adhesi, mengubah hemodinamik intraglomerular, serta

meningkatkan permeabilitas sel endotel vaskular. *Interleukin-6* (IL-6) merangsang proliferasi sel mesangial, meningkatkan ekspresi fibronektin, mempengaruhi dinamika matriks ekstraseluler, dan meningkatkan permeabilitas endotel (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

Growth factors adalah molekul yang berperan dalam pembentukan *extracellular matrix* (ECM). *Extracellular matrix* terdiri dari jaringan molekul yang tidak larut (glikoprotein, elastin, kolagen) yang memberikan dukungan mekanis untuk sel-sel ginjal dan berpartisipasi dalam interaksi antara sel dan elemen lain. Abnormalitas ECM dan fibrosis adalah gambaran kelainan struktural pada ND, ditandai dengan adanya akumulasi ECM dan angiogenesis. Proses patofisiologis tersebut berhubungan langsung dengan perubahan fungsi ginjal dan perkembangan penyakit ginjal (Luis-Rodríguez., 2012).

Transforming growth factor-β dan CTGF dianggap sebagai faktor penting yang berperan sebagai efek profibrotik yang muncul akibat berbagai rangsangan patologis, seperti pada kondisi hiperglikemia dan rangsangan angiotensin II, sehingga menyebabkan akumulasi ECM berlebih pada ginjal penderita DM (Cao & Cooper, 2011; Lim, 2014). Peningkatan ekspresi PDGF pada ND dapat memodulasi kemotaksis, tonus pembuluh darah, dan agregasi platelet (Lim, 2014).

Vascular endothelial growth factor dapat menyebabkan proliferasi sel endotel yang berlebihan, infiltrasi makrofag yang patologis, dan aktivitas berlebih sel otot polos pembuluh darah sehingga menyebabkan cedera pembuluh darah (Dellamea *et al.*, 2014). *Vascular endothelial growth factor* dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, mempengaruhi aliran darah, dan aktivasi *matrix-degrading protease* yang berperan pada ND. (Satirapoj, 2010; Luis-Rodríguez *et al.*, 2012). Ekspresi berlebih VEGF juga menyebabkan peningkatan produksi kolagen yang berkontribusi pada peningkatan penebalan GBM pada ND (Vinod, 2012).

4) Jalur Protein Kinase C

Hiperglikemia menyebabkan konversi *glyceraldehyde-3phosphate* menjadi *dihydroxyacetone phosphate* (DHAP) dan pada akhirnya pembentukan *diacylglycerol* (DAG) yang merupakan faktor utama untuk aktivasi PKC. *Protein kinase C* dianggap berkontribusi pada ND dengan berbagai cara (Toth-Manikowski & Atta, 2015). Protein kinase C adalah enzim dengan isoform berbeda yang memfosforilasi berbagai protein target yang bertanggung jawab sebagai transduksi sinyal intraseluler yang terlibat dalam pengaturan fungsi dan kontraktilitas vaskuler, aliran, proliferasi sel, dan permeabilitas vaskuler. Aktivasi PKC menghasilkan banyak efek potensial berbahaya yang berkaitan dengan komplikasi diabetes (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

Hiperglikemi menginduksi peningkatan aktivitas PKC dalam sel endotel ginjal untuk menghasilkan prostaglandin E2, *Nitric oxide* (NO) dan tromboksan A2 (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012; Toth-Manikowski & Atta, 2015). Meningkatnya kadar prostaglandin E2 dan NO menyebabkan vasodilatasi arteriol aferen dan reaksi angiotensin II pada arteriol eferen, yang berkontribusi pada hiperfiltrasi glomerulus. (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

Aktivasi PKC juga meningkatkan kadar CTGF and TGF- β serta produksi fibronektin dan kolagen tipe IV yang berkontribusi terhadap penebalan GBM dan akumulasi ECM pada ND (Toth-Manikowski & Atta, 2015). Aktivasi PKC yang diinduksi hiperglikemia juga terlibat dalam ekspresi berlebih dari inhibitor fibrinolitik (*plasminogen activator inhibitor* (PAI) -1) dan aktivasi faktor transkripsi *nuclear factor kappa B* (NF-kB) dalam endotelial yang dikultur dan sel otot vaskular (Luis-Rodríguez *et al.*, 2012).

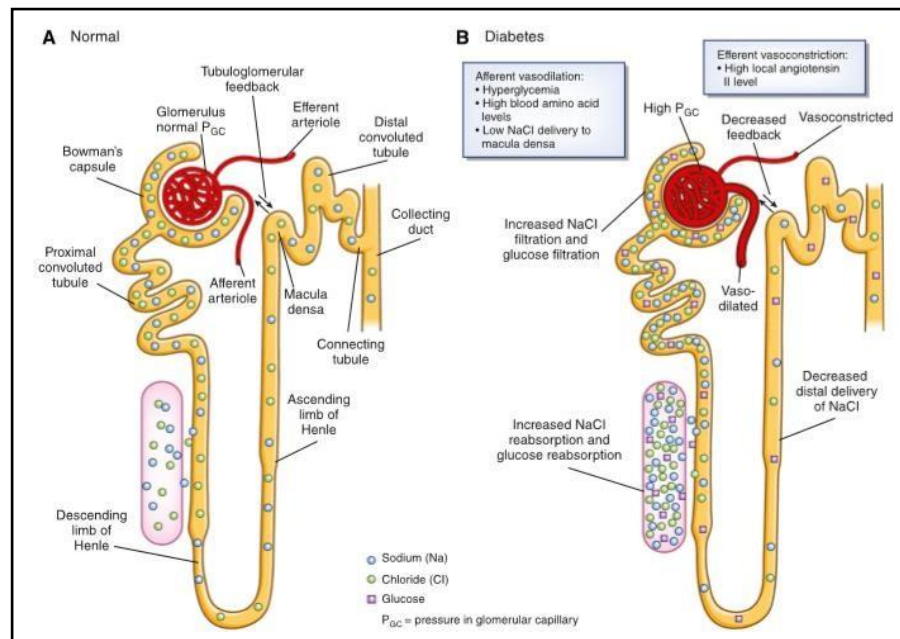
b. Jalur Hemodinamik

Perubahan hemodinamik glomerulus terjadi pada ND, yang meliputi hiperfiltrasi dan hiperperfusi, kemudian diperburuk oleh kebocoran albumin dari kapiler glomerulus, kelebihan produksi matriks sel mesangial, cedera podosit dan hilangnya nefron (Vinod, 2012; Satirapoj, 2010). Peningkatan tekanan intraglomerular, peningkatan

produksi sel matriks mesangial dan penebalan GBM dapat menyebabkan terjadinya glomerulosklerosis (Vinod, 2012).

Hiperfiltrasi glomerulus adalah suatu keadaan yang terjadi pada awal DM. Mekanisme yang mendasari hiperfiltrasi glomerulus adalah akibat peningkatan reabsorpsi glukosa pada tubulus proksimal melalui *sodium–glucose cotransporter 2*, sehingga mengurangi pengiriman zat terlarut ke bagian distal, terutama pengiriman natrium klorida ke makula densa. Hal ini memberikan efek *feedback* tubuloglomerular sehingga menyebabkan vasodilatasi arteriol aferen guna meningkatkan perfusi glomerulus, sementara pada saat yang sama, produksi angiotensin II yang tinggi pada arteriol eferen menghasilkan vasokonstriksi (Alici *et al.*, 2017; Muskiet *et al.*, 2014). Ketidakseimbangan antara resistensi arteriol aferen dan eferen yang terjadi mengakibatkan peningkatan tekanan hidrostatis glomerulus yang mengarah pada hiperperfusi glomerulus dan hiperfiltrasi (Gambar 4) (Lim, 2014; Muskiet *et al.*, 2014).

Hiperglikemia menstimulasi sintesis angiotensin II melalui aktivasi *renin-angiotensin-aldosterone system* (RAAS), yang memberikan efek hemodinamik, inflamasi, dan profibrinogenik pada sel ginjal (Vinod, 2012). Aktivasi RAAS juga meningkatkan produksi molekul proinflamasi dan profibrotik melalui berbagai mekanisme (Lim, 2014).



Gambar 4. Mekanisme perubahan hemodinamik ginjal pada DM (Alicic *et al.*, (2017))

Tekanan hemodinamik menyebabkan perubahan struktural pada ND melalui aktivasi sitokin dan GF (Vinod, 2012). Sekresi sitokin profibrotik seperti TGF- β meningkat sehingga terjadi perubahan hemodinamik lebih lanjut (Satirapoj, 2010). Selain angiotensin II faktor-faktor lain seperti prostanoid, NO, *atrial natriuretic factor*, GF, glukagon, insulin juga menyebabkan hiperperfusi dan hiperfiltrasi. Mekanisme TGF- β menyebabkan kerusakan vaskuler pada DM yaitu dengan meningkatkan produksi NO melalui peningkatan ekspresi *endothelial NO synthase* (eNOS) messenger RNA (mRNA) dan melalui peningkatan resintesis arginin (Vinod, 2012).

Endothelin-1 (ET-1) memiliki berbagai fungsi fisiologis seperti fungsi RAAS di ginjal, termasuk vasokonstriktor sehingga berperan

dalam hipertensi, disfungsi endotel, inflamasi, dan fibrosis. Selain itu, peningkatan ekspresi ET-1 mengaktifkan kaskade pensinyalan yang mengarah pada hipertrofi dan proliferasi sel mesangial serta produksi ECM. Endotelin-1 juga mengaktifkan reseptor yang secara langsung meningkatkan permeabilitas glomerulus, sehingga menyebabkan memburuknya albuminuria dan perkembangan ND (Toth-Manikowski & Atta, 2015).

5. Klasifikasi Nefropati Diabetik

Ada lima stadium klinis dalam pengembangan ND. Stadium klinis diklasifikasikan berdasarkan nilai eGFR, ekskresi albuminuria, dan tekanan darah arteri sistemik. Klasifikasi ini lebih menggambarkan perkembangan nefropati pada pasien dengan DM tipe 1 karena timbulnya penyakit yang jelas dan pasien umumnya lebih muda dan tidak memiliki komorbiditas lain, seperti hipertensi esensial (Khoury *et al.*, 2020). Perkembangan nefropati pada DM tipe 1 secara klasik telah digambarkan sebagai serangkaian tahap yang terus menerus memburuk dari fungsi ginjal normal menjadi ESRD yang ditandai dengan meningkatnya jumlah albuminuria (Parchwani & Upadhyah, 2012). Nefropati diabetik pada DM tipe 1, stadium klinisnya secara umum berhubungan dengan beratnya gambaran patologi ginjal. (Khoury *et al.*, 2020).

Tahapan perkembangan nefropati diabetik pada DM tipe 2 sama seperti DM tipe 1, namun stadium mikroalbuminuria dapat ditemukan pada

saat diagnosis, yang menggambarkan bahwa kebanyakan penderita DM tipe 2 memiliki hiperglikemia selama beberapa tahun sebelum terdiagnosis (Parchwani & Upadhyah, 2012).

a. Stadium I (Hiperfiltrasi)

Stadium I dimulai saat diagnosis ND ditegakkan (Carlos *et al.*, 2019). Pada tahap ini, eGFR normal atau meningkat. Ukuran ginjal meningkat sekitar 20% dan aliran plasma ginjal meningkat, tanpa hipertensi dan albuminuria (Sulaiman, 2019; Carlos *et al.*, 2019). Hal ini disebabkan karena hipertrofi glomerulus sehingga menyebabkan peningkatan luas permukaan filtrasi (Khoury *et al.*, 2020).

b. Stadium II (*Silent stage*)

Stadium ini dimulai sekitar 2 tahun setelah timbulnya penyakit (Sulaiman, 2019). Pada stadium ini masih belum didapatkan tanda-tanda klinis disfungsi ginjal (tidak ada albuminuria dan hipertensi). Pasien biasanya memiliki eGFR normal tanpa ada bukti albuminuria, namun fase ini dikaitkan dengan perubahan struktural yang signifikan termasuk penebalan GBM dan ekspansi mesangial, glomerulosklerosis, inflamasi interstitial, dan fibrosis (Brownlee *et al.*, 2016; Carlos *et al.*, 2019).

c. Stadium III (*Incipient stage*)

Biasanya terjadi 10-15 tahun setelah timbulnya penyakit dengan atau tanpa hipertensi, dengan kerusakan glomerulus dan

mikroalbuminuria (30-300 mg/hari) (Sulaiman, 2019; Carlos *et al.*, 2019).

d. Stadium IV (*Overt stage*)

Stadium ini biasanya terjadi setelah 15-20 tahun setelah timbulnya DM (Carlos *et al.*, 2019). Pada stadium ini *severe* albuminuria (≥ 300 mg/hari), GFR < 60 mL/menit/1,73 m², dan didapatkan hipertensi (Carlos *et al.*, 2019; ADA, 2020; Sulaiman, 2019).

e. Stadium V (*End stage renal disease*).

Stadium ini terjadi setelah 25-30 tahun setelah timbulnya DM (Carlos *et al.*, 2019). Pada stadium ini GFR < 15 mL/mnt/1,73 m² (Sulaiman, 2019; Carlos *et al.*, 2019).

6. Diagnosis

Diagnosis dini DM bertujuan untuk mencegah komplikasi jangka panjang. Pasien dengan DM tipe I diperkirakan tidak memiliki penyakit ginjal pada saat timbulnya DM, sehingga skrining dapat ditunda sampai 5 tahun setelah didiagnosis DM tipe 1 atau jika ada bukti kontrol glikemik yang buruk (Lubis, 2006; Muthuppalaniappan *et al.*, 2019). Penyakit ginjal yang signifikan dapat ditemukan pada saat diagnosis DM tipe 2 ditegakkan, sehingga skrining harus dimulai segera pada saat didiagnosis DM tipe 2 (Lubis, 2006).

Nefropati diabetik merupakan diagnosis klinis yang dibuat berdasarkan adanya albuminuria dan atau berkurangnya eGFR tanpa adanya tanda atau gejala penyebab utama kerusakan ginjal lainnya. Gambaran khas ND dianggap meliputi durasi lama menderita DM, retinopati, albuminuria tanpa hematuria berat, dan penurunan progresif eGFR. Namun, tanda-tanda CKD dapat hadir pada saat diagnosis atau tanpa retinopati pada DM tipe 2, dan penurunan eGFR tanpa albuminuria telah sering dilaporkan pada DM tipe 1 dan tipe 2 (ADA, 2020).

a. Manifestasi klinis

Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penderita DM. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan seperti keluhan klasik DM yaitu poliuria, polidipsi polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Keluhan lainnya adalah lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur, dan disfungsi ereksi pada pria serta pruritus vulva pada wanita (PERKENI, 2019)

Pada semua pasien DM yang baru terdiagnosis, sangat penting untuk menanyakan riwayat penyakit ginjal sebelumnya atau riwayat hipertensi atau penyakit kardiovaskular (Nazar, 2014). Jika pasien telah diketahui menderita DM, perlu ditanyakan terkait lamanya pasien mengalami DM dan adanya retinopati diabetes (Alicic *et al.*, 2017).

b. Pemeriksaan laboratorium

1). Darah rutin

Anemia sering terjadi pada penderita DM dan CKD stadium 3 atau stadium yang lebih buruk (Marshall & Flyvbjerg, 2017)

2). Pemeriksaan glukosa

Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah. Pemeriksaan glukosa darah yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa darah menggunakan metode enzimatik dengan bahan plasma darah vena. Kriteria diagnosis DM yaitu :

- a) Pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL. Puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8 jam. Atau
- b) Pemeriksaan glukosa plasma ≥ 200 mg/dL 2-jam setelah tes toleransi glukosa oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 gram. Atau
- c) Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dL dengan keluhan klasik. Atau
- d) Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemaglobin Standardization Program* (NGSP) (PERKENI, 2019; ADA, 2020)

3). Pemeriksaan profil lipid

Pemeriksaan profil lipid perlu dilakukan pada saat diagnosis DM ditegakkan. Pemeriksaan profil lipid pada keadaan puasa antara lain kolesterol total, *high density lipoprotein* (HDL), *low density*

lipoprotein (LDL) dan trigliserida. Pemeriksaan profil lipid sedikitnya dilakukan setahun sekali pada pasien dewasa dan bila dianggap perlu dapat dilakukan lebih sering. Jika pemeriksaan profil lipid pasien menunjukkan hasil yang baik (LDL <100 mg/dL, HDL >50 mg/dL, trigliserida <150 mg/dL), maka pemeriksaan profil lipid dapat dilakukan 2 tahun sekali (PERKENI, 2019).

4). Pemeriksaan albuminuria

Diagnosis ND ditegakkan jika didapatkan kadar albumin ≥ 30 mg dalam urin 24 jam pada 2 dari 3 kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3-6 bulan, tanpa penyebab albuminuria lainnya. Metode pemeriksaan albumin lainnya adalah UACR (PERKENI, 2019). Nilai normal ACR urin adalah <30 mg/g kreatinin, dan peningkatan ekskresi albumin urin didefinisikan jika ACR ≥ 30 mg/g kreatinin (ADA, 2020).

Pengumpulan urin 24 jam merupakan *gold standard* untuk penilaian albuminuria dan dapat memberikan informasi penting tambahan tentang asupan natrium dan protein, tetapi pengumpulannya sulit dilakukan oleh pasien, sehingga metode ini biasanya terbatas pada pasien yang telah mengalami ND (Persson & Rossing, 2018).

Skrining albuminuria dapat lebih mudah dilakukan menggunakan ACR dengan pengumpulan urin sewaktu. Pengumpulan sampel urin sewaktu untuk pengukuran albumin saja

tanpa secara bersamaan mengukur kreatinin urin lebih murah, tetapi rentan terhadap hasil false negatif dan false positif disebabkan adanya variasi dalam konsentrasi urin akibat hidrasi (ADA, 2020). *Albumin-to creatinine ratio* sewaktu berkorelasi baik dengan ekskresi 24 jam dan merupakan pilihan terbaik untuk skrining albuminuria (McFarlane *et al.*, 2018).

Variabilitas biologis yang tinggi > 20% antara pengukuran, sehingga 2 dari 3 spesimen UACR yang dikumpulkan dalam periode 3-6 bulan harus abnormal sebelum mempertimbangkan pasien memiliki albuminuria (ADA, 2020). Ekskresi albumin urin dapat meningkat secara independen tanpa adanya penyakit ginjal dan bersifat sementara yang disebabkan beberapa faktor seperti olahraga dalam 24 jam, demam, gagal jantung kongestif, menstruasi, dan hipertensi dapat meningkatkan UACR secara independen dari kerusakan ginjal (Persson & Rossing, 2018; Nazar, 2014; ADA, 2020).

4). *Estimated glomerular filtration rate* .

Untuk mendiagnosis ND pemeriksaan kreatinin serum dan eGFR harus dilakukan pada semua pasien DM terlepas dari adanya albumin dalam urin. Hal ini disebabkan sebagian besar orang dengan DM tipe 2 mungkin memiliki atau mengalami pengembangan ke arah CKD tanpa adanya albuminuria. *American Diabetes Association* (ADA) merekomendasikan penggunaan *Chronic Kidney Disease*

Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) untuk memperkirakan eGFR pada pasien DM tipe 1 atau DM tipe 2 (Tziomalos & Athyros, 2015). Selain itu, eGFR berguna untuk menentukan stadium CKD dan untuk memantau perkembangan CKD (table 1) (Gosmanov *et al.*, 2014).

Tabel 1. Stadium CKD berdasarkan katagori eGFR (Marshall & Flyvbjerg, 2017)

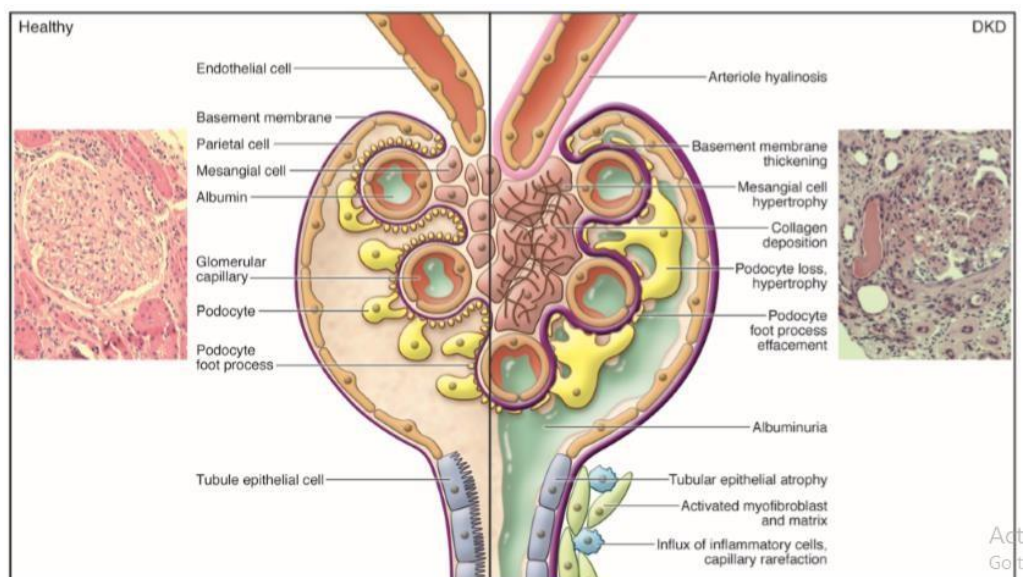
Kategori GFR	GFR (mL/min/1.73 m ²)	Deskripsi
G1	≥ 90	Normal atau meningkat
G2	60-89	Ringan
G3a	45-59	Ringan-sedang
G3b	30-44	Sedang-berat
G4	15-29	Berat
G5	< 15	Terminal

Estimated glomerular filtration rate < 60 mL/min/1,73 m² umumnya dianggap abnormal, meskipun ambang batas optimal untuk diagnosis klinis masih diperdebatkan. Pasien dengan albumin urin > 30 mg/g dan eGFR < 60mL/mnt/1,73 m² harus dipantau dua kali setahun untuk panduan terapi (ADA, 2020).

c. Biopsi Ginjal

Diagnosis ND biasanya dibuat berdasarkan dugaan secara klinis dan penilaian faktor risiko sehingga biopsi ginjal biasanya tidak diperlukan (Nazar, 2014). Biopsi ginjal merupakan *gold standard*

diagnosis ND, risiko perdarahan harus dipertimbangkan dengan hati-hati pada pasien yang menderita hipertensi, disfungsi ginjal, atau anemia (Qi *et al.*, 2017). Perubahan yang terjadi pada glomerulus pasien DM antara lain hyalinosis arteri, ekspansi mesangial, deposisi kolagen, penebalan GBM, kehilangan podosit dan hipertrofi, albuminuria, atrofi epitel tubular, akumulasi *myofibroblasts* dan matriks (Gambar 5) (Reidy *et al.*, 2014).



Gambar 5. Lesi patologis pada nefropati diabetik (Reidy *et al.*, 2014).

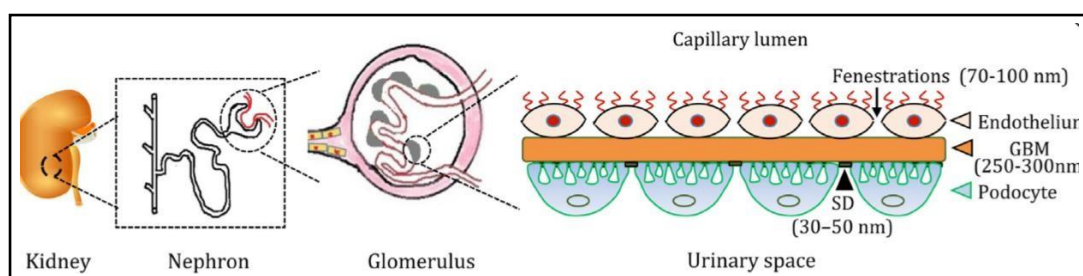
Biopsi ginjal membantu untuk mengklasifikasikan, mendiagnosis, membuat prognosis dan manajemen penyakit. Indikasi untuk biopsi ginjal pada ND adalah sebagai berikut : (Qi *et al.*, 2017).

- 1) Proteinuria pada DM < 5 tahun atau fungsi ginjal normal.
- 2) Hematuria mikroskopis yang tidak dapat dijelaskan (terutama *acanthocytosis* dan gips seluler).

- 3) Fungsi ginjal yang memburuk dengan cepat pada pasien dengan fungsi ginjal yang sebelumnya stabil.
- 4) Penggunaan *angiotensin converting enzyme inhibitor* (ACEI) / *angiotensin receptor antagonist* (ARB) selama 2-3 bulan, namun GFR menurun $> 30\%$.
- 5) Gagal menyingkirkan penyakit ginjal tanpa adanya retinopati diabetik, dengan atau tanpa penyakit sistemik.

B. Podosit

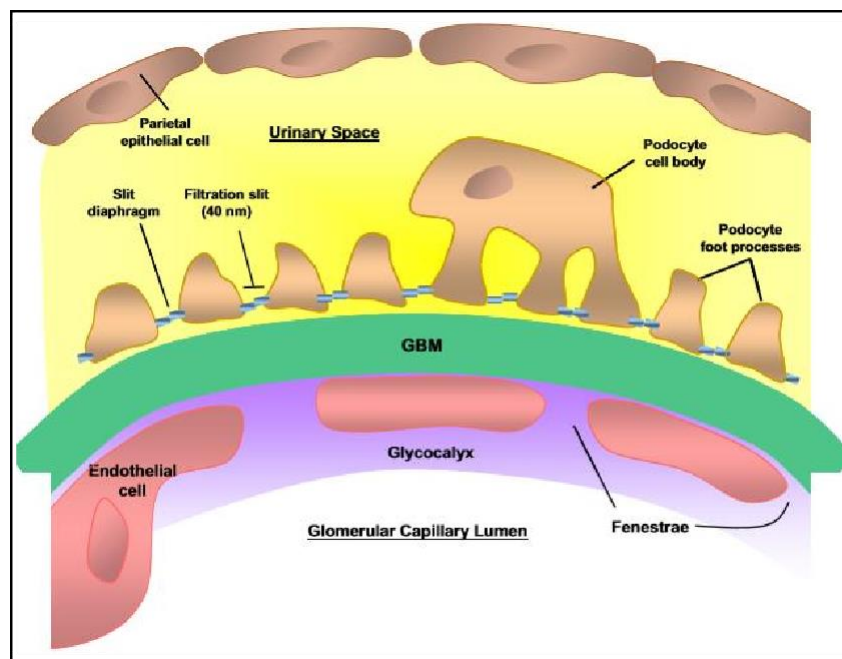
Podosit (sel epitel visceral) adalah *terminally differentiated cell* yang melapisi permukaan luar kapiler glomerulus (Jochen & Altintas, 2016). Podosit merupakan sel fungsional penting dalam glomerulus dan tidak dapat beregenerasi saat mengalami cedera (Dai *et al.*, 2017). Fungsi utama podosit adalah berpartisipasi dalam pembentukan barier filtrasi dan untuk mengatur filtrasi glomerular, bersama dengan GBM dan endotelium (Gambar 6). Podosit juga secara mekanis menyokong pembuluh darah glomerulus, berpartisipasi dalam *turnover* metabolik GBM dan dalam proses imunologis pada glomerulus (Podgórski *et al.*, 2019).



Gambar 6. Struktur glomerulus (Mukhi *et al.*, 2017)

Podosit terletak di luar *loop* kapiler glomerulus, memiliki morfologi seluler unik yang kompleks, terdiri dari badan sel, *major processes* dan *foot processes* (Jefferson *et al.*, 2011; Bose *et al.*, 2017; Podgórski *et al.*, 2019). Badan sel besar terletak di ruang kemih, dan terhubung ke GBM melalui *major processes* dengan *foot processes* yang membentang di sekitar lingkaran kapiler membentuk interdigiti dengan *foot processes* lainnya yang menutupi seluruh GBM (Gambar 7) (Jefferson *et al.*, 2011).

Badan sel terdiri dari nukleus, mitokondria, apparatus golgi dan retikulum endoplasma, sedangkan *major processes* terdiri dari mikrotubulus dan *vimentin intermediate filament*. *Major processes* bercabang menjadi *foot processes* yang mengandung tiga segmen membran yang berbeda yaitu daerah apikal, daerah basal dan SD (Bos *et al.*, 2017).



Gambar 7. Komponen penyusun glomerulus (Jefferson *et al.*, 2011).

Daerah apikal terletak di sisi luminal, menghadap ruang kemih (Wasik, 2014). Daerah apikal dari *foot processes* terdiri dari protein termasuk *podocalyxin*, *sialoglycoprotein* dan *podoplanin* yang berperan sebagai muatan *selective* karena protein-protein tersebut bermuatan negatif (Bose *et al.*, 2017). Muatan negatif ini membatasi lewatnya molekul bermuatan negatif seperti albumin ke dalam ruang kemih, mencegah sel parietal melekat pada podosit, dan membuat podosit yang berdekatan terpisah (Wasik, 2014; Jefferson *et al.*, 2011).

Daerah basal *foot processes* podosit mengandung beberapa jenis integrin dan *dystroglycans* (DGs) yang membantu melekatkan podosit ke GBM (Bose *et al.*, 2017). Dua reseptor adhesi podosit utama tersebut ($\alpha\beta 1$ -integrin dan α - β dystroglycan) mengikat ligan GBM seperti kolagen IV, laminin, dan perlecan. Baik integrin dan DGs bergabung dengan sitoskeleton aktin melalui molekul adaptor. Oleh karena itu, kekuatan mekanik dapat ditransmisikan dari GBM ke sitoskeleton *foot processes* dan selanjutnya ke badan sel podosit (Jefferson *et al.*, 2011, Wasik, 2014).

Sitoskeleton podosit terdiri dari tiga elemen: mikrofilamen, intermediate filamen dan mikrotubulus. Fungsi dan arsitektur podosit bergantung pada organisasi sitoskeleton podosit. Badan sel podosit dan *major processes* mengandung mikrotubulus dan filamen intermediate sedangkan *foot processes* mengandung filamen aktin. Sitoskeleton

podosit sangat penting untuk integritas struktural dari *foot processes*, kompleks silt diafragma dengan podosit dan GBM, serta menjaga kekuatan mekanik dan fleksibilitas podosit. Regulasi dan reorganisasi yang tepat dari sitoskeleton aktin dalam podosit sangat penting untuk pemeliharaan struktur dan fungsi normal sel-sel ini (Wasik, 2014).

Slit diaphragm adalah sambungan interseluler khusus yang dibentuk oleh *foot processes* yang saling berinteraksi dengan *foot processes* lainnya yang berdekatan membentuk celah yang sempit (Bose et al., 2017; Jochen & Altintas, 2016). *Slit diaphragm* permeabel terhadap air dan zat terlarut dengan berat molekul kecil tetapi relatif impermeabel terhadap protein plasma (Jefferson et al., 2011). Integritas *foot processes* podosit sangat tergantung pada SD. *Slit diaphragm* dapat digambarkan sebagai kompleks multiprotein yang mengatur homeostasis dan fungsi podosit (Denhez & Geraldes, 2017).

Protein yang terdapat pada SD yaitu *nephrin*, *podocin*, *P-cadherin*, mFAT 1, *the nephrin homologue neph 1*, dan protein intraseluler terkait seperti CD2AP (*CD-2-associated protein*). Integritas struktural dan fungsional dari GFB tergantung pada interaksi antara protein-protein tersebut (Bandiara, 2013). Protein dalam SD juga berinteraksi dengan sitoskeleton aktin yang memengaruhi motilitas podosit serta sinyal seluler (Bose et al., 2017).

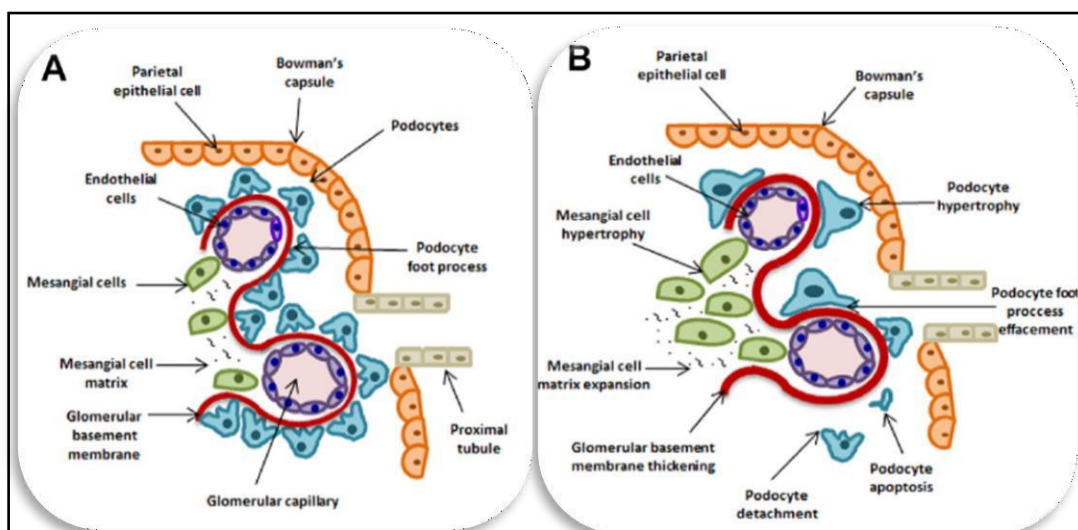
Podosit membentuk muatan dan *size-selective barrier* untuk protein yang memungkinkan permeabilitas terhadap molekul yang lebih

kecil dari albumin (Bos *et al.*, 2017). Integritas fungsional podosit diperlukan untuk menjaga muatan dan *size selective barrier*, mempertahankan bentuk kapiler; menetralkan tekanan intraglomerular; sintesis dan pemeliharaan GBM serta produksi dan sekresi VEGF yang dibutuhkan untuk integritas sel endotel glomerulus (Bandiara, 2013). Studi terbaru telah menyatakan pentingnya podosit dalam fungsi ginjal normal dengan menunjukkan bahwa fungsi SD sebagai *size barrier* sangat penting dalam keberhasilan retensi albumin dan protein lainnya (Bos *et al.*, 2017). Dapat disimpulkan bahwa cedera podosit akan mengubah fungsi podosit tersebut sehingga menghasilkan nefropati.

C. Cedera Podosit Pada Nefropati Diabetik

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa podosit adalah sel pertama yang terkena akibat DM dan gangguan integritas struktural SD bisa menjadi tempat potensial dalam menyebabkan cedera podosit akibat hiperglikemia. Hilangnya podosit diyakini sebagai salah satu prediktor terkuat dari perkembangan ND. Pentingnya podosit dalam menjaga fungsi ginjal pada ND diamati melalui pengamatan morfometrik dari biopsi ginjal pasien DM, yang menunjukkan pengurangan signifikan jumlah podosit pada pasien dengan durasi pendek DM sebelum munculnya mikroalbuminuria atau penanda lain penyakit ini (Denhez & Gerald, 2017).

Sel podosit sensitif terhadap cedera, berbagai faktor patogen (toksik, metabolik, hemodinamik) dapat menyebabkan perubahan struktural dan fungsional podosit. Ciri-ciri terjadinya cedera podosit (podositopati) adalah pelebaran dan penipisan *foot processes* (*effacement*) , hipertrofi podosit, apoptosis, *detachment* podosit (pelepasan dari GBM) dan hilangnya podosit ke dalam ruang kemih (podosituria) serta penurunan jumlah podosit dalam glomeruli (podositopenia) (Gambar 8) (Bobkova *et al.*, 2018).



Gambar 8. Struktur glomerulus pada nefropati diabetik (Bose *et al.*, 2017)

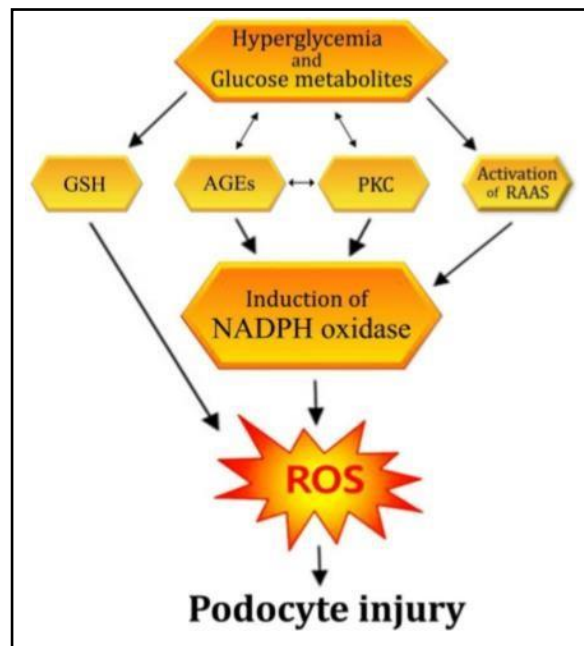
Podosit membutuhkan jumlah yang cukup untuk menjalankan fungsi normalnya. Podositopenia dapat menyebabkan proteinuria dengan mekanisme berikut: (i) hilangnya muatan negatif secara keseluruhan, karena penurunan keseluruhan protein *podocalyxin* yang tersedia untuk berfungsi sebagai penghalang muatan; (ii) gangguan arsitektur normal dari podosit. Hal ini menyebabkan ketidakmampuan podosit untuk

berfungsi sebagai *size barrier*, yang menyebabkan protein dan molekul lain tanpa hambatan ke dalam urin (Jefferson *et al.*, 2011).

Jumlah podosit berkurang secara signifikan pada awal DM dan penurunan jumlah podosit berkorelasi dengan peningkatan ekskresi albuminuria dan memprediksi perkembangan albuminuria. Podosit juga telah dilaporkan dalam 53% urin pasien DM dengan mikroalbuminuria dan 80% dari mereka dengan makroalbuminuria (Bose *et al.*, 2017).

Glukosa yang tinggi dimetabolisme untuk membentuk metabolit glukosa yang secara langsung mengurangi jumlah antioksidan seperti *glutathione* (GSH), pembentukan AGEs, menginduksi pensinyalan PKC dan mengacaukan RAAS. Semua mekanisme ini cenderung meningkatkan stres oksidatif dengan menginduksi aktivasi NOX (Bhatti & Usman, 2015). *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* oksidase menginduksi produksi superoksida melalui oksidasi di mitokondria, peradangan dan stres. Isoform NOX4 merupakan NOX yang paling banyak diekspresikan di ginjal dan terlokalisasi dalam sel mesangial, tubular dan podosit, berperan penting dalam stres oksidatif pada penyakit ginjal (Gambar 9) (Bobkova *et al.*, 2018).

Reactive oxygen species (ROS) yang dibentuk oleh NADPH oksidase menyebabkan kerusakan jaringan termasuk cedera pada podosit dan menurunkan kepadatan podosit (Bhatti & Usman, 2015). Cedera podosit terlibat sebagai salah satu peristiwa yang terjadi pada awal ND.



Gambar 9. Mekanisme peningkatan stres oksidatif dan cedera podosit akibat hiperglikemia (Bhatti & Usman, 2015).

Dua mekanisme yang menjelaskan hilangnya podosit adalah *detachment* dan apoptosis. Peningkatan apoptosis adalah penyebab utama berkurangnya jumlah podosit, yang menyebabkan proteinuria dan glomerulosklerosis. Regulasi kelangsungan hidup dan kematian podosit tergantung pada keseimbangan faktor pro dan antiapoptotik. Apoptosis podosit diaktifkan oleh faktor-faktor seperti hiperglikemia, angiotensin II, reseptor Angiotensin 1, TGF- β 1, Smad-7, ROS, *detachment* dari GBM, ketegangan mekanik, penurunan inhibitor yang mengaktifasi kinase siklik p27 dan p21, fibroblast GF, faktor penginduksi apoptosis (Bobkova *et al.*, 2018).

Dalam keadaan hiperglikemia TGF- β 1 secara langsung dapat mengaktifkan Smad7, yang menghambat aktivitas NF- κ B dan

menghasilkan apoptosis podosit. Hal ini juga dapat menstimulasi p38 MAP kinase sehingga meningkatkan ekspresi protein Bax dan menghasilkan sitokrom C, yang mengaktifkan jalur apoptosis *caspase-3* secara berurutan. Hiperglikemia juga menstimulasi jalur sinyal Notch / Jag / ICN1, yang mengaktifkan jalur apoptosis Bcl-2 dan p53 yang dapat menginduksi apoptosis podosit (Dai *et al.*, 2017). *Reactive Oxygen Species* menginduksi apoptosis podosit melalui aktivasi proapoptosis p38 MAPK dan *caspase-3* pada podosit kultur dan pada hewan coba. Para peneliti telah menunjukkan TGF- β 1 dapat menginduksi apoptosis podosit kultur dengan menstimulasi pensinyalan MAPK p38 dan jalur *classic effector caspase-3* (Bose *et al.*, 2017).

Hiperglikemia mengaktifkan RAAS dan peningkatan kadar angiotensin II melalui jalur *C-terminal Src kinase-dependent* telah terbukti meningkatkan apoptosis podosit (Bose *et al.*, 2017). Podosit adalah target langsung angiotensin II, menyebabkan perubahan ekspresi dan distribusi protein podosit. Angiotensin II juga menyebabkan cedera podosit secara tidak langsung dengan meningkatkan aliran kalsium dan produksi ROS (Zhang & Huang, 2012). Selain itu angiotensin II adalah faktor tambahan yang merangsang sel-sel ginjal untuk menghasilkan TGF β 1 (Mukhi *et al.*, 2017).

Transforming growth factor- β 1 memberikan beberapa efek pada podosit pasien DM yaitu mengurangi adhesi podosit ke GBM menghasilkan podosituria, menginduksi sintesis kolagen oleh podosit yang

menghasilkan penebalan GBM, menginduksi *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) podosit yang mengakibatkan *effacement* podosit, merusak arsitektur SD dan mengubah permselektivitas podosit, serta meningkatkan apoptosis podosit yang mengakibatkan penipisan podosit (Bobkova *et al.*, 2018).

Hilangnya podosit akibat apoptosis memicu terjadinya hipertrofi podosit (Podgórski *et al.*, 2019). Hipertrofi terjadi dikarenakan podosit mengkompensasi hilangnya podosit yang berdekatan. Hipertrofi podosit memiliki efektivitas yang terbatas karena podosit yang hipertrofi harus menutupi area permukaan filtrasi yang meningkat sehingga menurunkan daya rekat pada GBM serta lebih rentan terhadap kondisi stres yang ada (Mukhi *et al.*, 2017). Ada bukti yang menunjukkan hipertrofi podosit dapat dihambat oleh *angiotensin type I receptor blocker*, menunjukkan peran angiotensin II dalam hipertrofi podosit yang diinduksi glukosa (Bose *et al.*, 2017).

Dalam keadaan hiperglikemia, angiotensin II dapat meningkatkan ekspresi protein kinase ERK1/2 dan Akt/PK melalui ROS, memicu aktivasi p27Kip1 melalui jalur sinyal TGF- β 1, atau meningkatkan ekspresi protein CKI melalui aktivasi mTORC1, yang pada akhirnya mengakibatkan hipertrofi podosit glomerular. Selain itu, glukosa tinggi juga menginduksi hipertrofi podosit melalui aktivasi jalur sinyal IL-6 / Gp130-JAK / STAT3 (Dai *et al.*, 2017).

Podosit dapat mengalami proses yang disebut *effacement* (penipisan), yaitu perubahan arsitektur seluler normal dari FP. Podosit yang mengalami *effacement* menyebabkan gangguan : i) gangguan SD dan interaksi protein-protein terkait; ii) gangguan dalam hubungan normal FP dengan GBM; iii) reorganisasi sitoskeleton aktin dan hal tersebut terkait dengan interaksi protein-protein; iv) gangguan permukaan apikal *foot process* yang normalnya bermuatan negatif (Bobkova *et al.*, 2018).

Perubahan bentuk podosit bukan hanya proses pasif setelah cedera, hal tersebut adalah hasil dari interaksi kompleks molekuler dari berbagai domain protein podosit (Bobkova *et al.*, 2018). Mutasi seperti pada protein *nephrin* dan *podocin* telah terbukti menyebabkan *effacement foot process* yang menunjukkan bahwa protein SD terlibat dalam patogenesis *effacement foot process* (Bose *et al.*, 2017).

Podosit dan GBM terhubung erat dan mencegah ekskresi proteinuria dengan mempertahankan GFB. Protein podosit seperti integrin $\alpha3\beta1$ dan DGs berperan penting dalam perlekatan podosit ke GBM. Defek pada integrin $\alpha3\beta1$ dan atau DGs dapat mengakibatkan *detachment* dan hilangnya podosit. Hiperglikemia dapat menurunkan regulasi integrin $\alpha3\beta1$ pada manusia dan tikus, serta memicu aktivasi *integrin-linked kinase* (ILK) (Dai *et al.*, 2017). *Transforming growth factor* - $\beta1$ dapat menekan ekspresi integrin $\alpha3\beta1$ glomerulus yang dapat menyebabkan *detachment* podosit (Bobkova *et al.*, 2018).

Diagnosis podositopati dapat dilakukan dengan pemeriksaan morfo-patologis bahan biopsi ginjal (mikroskop cahaya dan elektron, identifikasi imunohistokimia protein spesifik podosit) atau dengan deteksi protein podosit pada urin (Bobkova *et al.*, 2018).

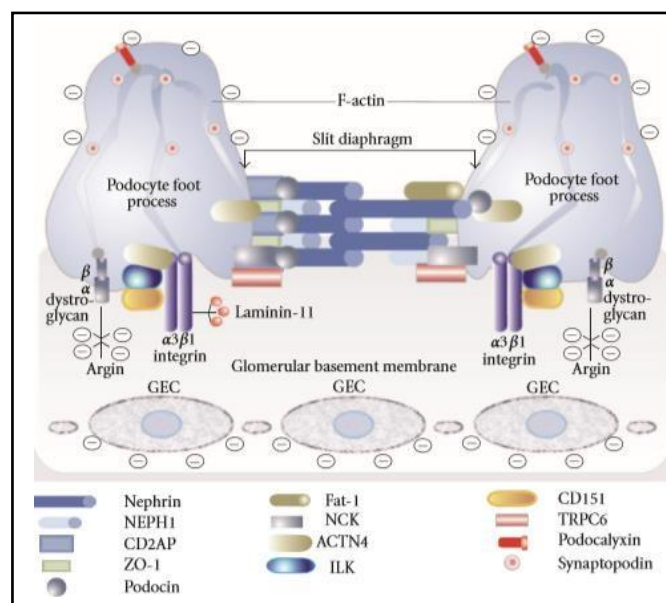
D. Podocin

Podocin merupakan protein membran dengan berat molekul 42kD yang terletak dalam *foot processes*, serta ikut membentuk bagian dari SD dengan protein nephrin (Zhang & Huang, 2012; Trimarchi, 2017). *Podocin* adalah protein membran keluarga protein stomatin yang terdiri dari 383 asam amino (Lu *et al.*, 2015). *Podocin* memiliki struktur seperti jepit rambut (*hairpinlike*) (Yu *et al.*, 2018)

Podocin berinteraksi dengan protein transmembran nephrin dan protein CD2AP melalui COOH terminal (Gambar 10) (Relle *et al.*, 2011; Zhang & Huang, 2012). Interaksi ini berperan penting dalam mempertahankan struktur dan fungsi SD serta memfasilitasi persinyalan (Zhang & Huang, 2012). Interaksi langsung *podocin* dengan *nephrin* ditingkatkan setelah *nephrin phosphorylation*. Temuan ini menunjukkan bahwa *podocin* dapat berperan dalam menstabilkan *nephrin* pada SD dan memfasilitasi pensinyalan (Michaud & Kennedy, 2007).

Salah satu faktor yang mempengaruhi fungsi podosit pada DM adalah protein pada SD termasuk protein *podocin* dan protein lainnya (Maezawa *et al.*, 2015). *Podocin* juga berinteraksi dengan protein SD lain

yang memiliki struktur mirip dengan *nephrin* yaitu Neph1. Interaksi *podocin*-Neph1 diyakini penting untuk rekrutmen *nephrin* ke lipid raft yang menambah pensinyalan *nephrin* (Yu *et al.*, 2018). Disfungsi *podocin* menyebabkan perubahan perakitan SD dan proteinuria pada model eksperimental (Toblli *et al.*, 2012).



Gambar 10. Struktur molekuler podosit dan *slit diaphragm* (Toblli *et al.*, 2012)

Protein ini dikodekan oleh gen *NPHS2* yang tersusun delapan ekson dan terletak pada kromosom 1q25-q31. Defek genetik pada *NPHS2* dapat menyebabkan sindrom nefrotik (Jalanko & Kääriäinen, 2013). Mutasi gen *NPHS2* ditemukan pada sindrom nefrotik resisten steroid bawaan dan sindrom nefrotik resisten steroid sporadis, menunjukkan bahwa *podocin* berperan penting dalam menjaga struktur podosit dan integritas SD, sehingga *podocin* berperan penting dalam patogenesis

proteinuria (Zhang & Huang, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Jim *et al.* (2012) menemukan penurunan ekspresi protein *synaptopodin*, *podocin*, and *nephrin* pada pasien ND dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penelitian yang dilakukan oleh ElShaarawy *et al.*, (2019), menunjukkan terdapat korelasi positif yang signifikan antara *podocin* urin dengan ACR.