

KARYA AKHIR

**ANALISIS KADAR *NEUTROPHIL GELATINASE-
ASSOCIATED LIPOCALIN* PLASMA PADA PENDERITA
PENYAKIT GINJAL KRONIK**

*ANALYSIS OF PLASMA NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED
LIPOCALIN IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS*

SALMON SUTANDRA

C108215107



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



Optimization Software:
www.balesio.com

**ANALISIS KADAR *NEUTROPHIL GELATINASE-
ASSOCIATED LIPOCALIN* PLASMA PADA PENDERITA
PENYAKIT GINJAL KRONIK**

Karya Akhir

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

Program Studi

Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

Salmon Sutandra

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



KARYA AKHIR

ANALISIS KADAR *NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN* PLASMA PADA PENDERITA PENYAKIT GINJAL KRONIK

Yang disusun dan diajukan oleh

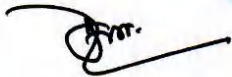
SALMON SUTANDRA

Nomor Pokok C108215107

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 12 April 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

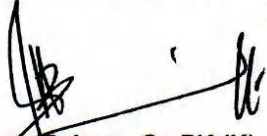
Komisi Penasihat,


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

Dekan,
an. Wakil Dekan,
Bidang Akademik Riset dan Inovasi


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


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 19671103 199802 1 001



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Salmon Sutandra

Nomor Pokok : C108215107

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

Konsentrasi : Program Pendidikan Dokter Spesialis

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, 1 April 2019

Yang menyatakan,

Salmon Sutandra



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan yang Maha Kuasa atas kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“ANALISIS KADAR *NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN* PLASMA PADA PENDERITA PENYAKIT GINJAL KRONIK**“, sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan 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, Sp.PD-KGH, FINASIM sebagai Anggota Tim Penilai, dan dr. Darwati Muhadi, Sp.PK(K) sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah memberi kesediaan waktu, saran dan bimbingan sejak masa penelitian, penyusunan hingga seminar hasil penelitian ini.



Penulis juga ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Guru Besar di Departemen Ilmu 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) dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK, dr. Benny Rusli, SpPK (K), dr. Ruland DN Pakasi, SpPK (K) yang senantiasa mendukung pendidikan penulis sejak awal, mendidik, membimbing dengan penuh ketulusan hati dan memberi nasehat kepada penulis.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK (K), sekaligus penasehat akademik yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai bagi penulis.
4. Manajer PPDS FK-UNHAS dr. Ulang Bahrin, Sp.PK (K), Ph.D, guru sekaligus orang tua yang bijaksana yang 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/Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSPTN UNHAS, Dr. dr. yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK, yang senantiasa membimbing, memberikan arahan, dan motivasi kepada penulis selama masa

didikan.



6. Ketua Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK, guru kami yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.
7. Sekretaris Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK (K), yang penuh pengertian serta senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat kepada penulis.
8. dr. Fitriani Mangarengi , SpPK (K), Ketua Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS periode 2015-2017, atas bimbingan dan arahan pada masa-masa awal pendidikan penulis serta selalu memberikan nasehat dan motivasi selama masa pendidikan penulis.
9. Dr. dr. Nurhayana Sennang, M.Kes, SpPK, DMM, yang selalu memberikan bimbingan dan motivasi bagi penulis pada periode 2015-2017.
10. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, yang senantiasa memberikan bimbingan dan arahan selama penulis menjalani pendidikan.
11. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
12. Direktur RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar beserta staf bidang penelitian yang telah memberikan izin dan membantu dalam pemeriksaan sampel.



13. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, dr. Asvin Nurulita, M.Kes, Sp.PK, yang telah banyak membantu dan membimbing penulis selama masa pendidikan, beserta seluruh staf yang turut membantu proses pendidikan penulis.
14. Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Stella Maris, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Kepala UTD PMI, Kepala UPTD Transfusi Darah Provinsi Sulawesi Selatan, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.
15. Teman-teman sejawat PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik, khususnya *"The Salmons" family*. Adik-adikku tersayang Dewi, Mita, Rysna, Sherly, Feby, Jannah, Rika, Erni, dan Ija, yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis, serta banyak memberikan bantuan, motivasi, dukungan dan semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini. Kebersamaan kita takkan pernah terlupakan, dan semoga persaudaraan kita tetap terjaga.
16. Staf Departemen Ilmu Patologi Klinik Nurilawati SKM, atas bantuan dan dukungan selama mengikuti proses pendidikan di Departemen Ilmu Patologi Klinik.
17. Seluruh teman-teman sejawat PPDS yang banyak memberikan bantuan, dukungan kepada penulis selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini serta analis yang turut membantu dalam proses pengumpulan dan pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.



18. 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 orang tua saya tercinta ayah Jonathan Sambe, ibu Gerarda Lobe Biyang, ayah mertua alm. Jhon T Parabang, ibu mertua Alberthin Biyang atas doa tulus dan kasih sayang, kesabaran, jerih payah dan dukungan selama masa pendidikan. Untuk saudara-saudara saya tercinta Sylvia Salti dan Salmi Sukama Sambe serta seluruh keluarga besar atas dukungan, penyemangat dan doanya selama penulis menempuh pendidikan.

Terima kasih yang paling dalam kepada istri tercinta Dewi Febriani Parabang dan putra putri kami terkasih Stefan Desmonda, Stefania Divya dan Shanel deanindita atas kasih sayang, dukungan semangat, pengorbanan, pengertian, doa yang tulus dan kesabaran dalam mengiringi penulis menjalani pendidikan ini.

Akhir kata tak lupa penulis menyampaikan permohonan maaf sebesar-besarnya kepada semua pihak terutama kepada semua guru-guru kami dan teman-teman residen selama penulis menjalani masa pendidikan. Penulis berharap karya akhir ini dapat memberi manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang. Semoga Tuhan senantiasa memberkati dan melindungi kita dalam setiap langkah pengabdian kita. Amiin.

Makassar, 1 April 2019

Salmon Sutandra



ABSTRAK

SALMON SUTANDRA. Analisis *Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin* Plasma Pada Penderita Penyakit Ginjal Kronik (dibimbing oleh **Fitriani Mangarengi** dan **Yuyun Widaningsih**).

Lipocalin-2 atau neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) atau sidrocalin adalah protein 25-kilodaltons anggota keluarga lipocalin, diproduksi oleh nefron sebagai respons terhadap kerusakan epitel tubular. Telah diketahui bahwa tingkat NGAL meningkat pada AKI. Bukti-bukti terbaru menunjukkan bahwa NGAL meningkat pada PGK, tanpa memandang etiologi, dan bahwa kadar NGAL yang meningkat dapat memprediksi perkembangan PGK. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar NGAL pada pasien penyakit ginjal kronik.

Penelitian *cross sectional* dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar selama bulan Maret - April 2019. Diperoleh total sampel 68, yang terdiri dari 43 pasien PGK dan 25 kontrol sehat. Pemeriksaan kadar NGAL dilakukan dengan kit NGAL ELISA (BT Laboratorium, China) Data dianalisis secara statistik dengan uji *Mann Whitney*, *Kruskal Wallis*, dan *Spearman*. Hasil uji signifikan bila nilai $p < 0,05$.

Hasil penelitian menunjukkan kadar NGAL signifikan lebih tinggi pada PGK dibandingkan dengan kontrol ($48,0 \pm 9,4$ vs $21,2 \pm 9,9$, ng/ml $p < 0,001$). Kadar NGAL signifikan lebih tinggi pada PGK dibandingkan kontrol tanpa dipengaruhi umur ($p < 0,001$). Perbedaan yang signifikan juga ditemukan pada perbandingan kadar NGAL menurut derajat PGK ($p < 0,001$). Pada subyek PGK, ditemukan korelasi positif yang signifikan antara LFG dan NGAL ($p < 0,001$).

Disimpulkan bahwa kadar NGAL dapat digunakan sebagai prediktor tingkat keparahan pada derajat awal PGK.

unci : PGK, NGAL, LFG



ABSTRACT

SALMON SUTANDRA. Analysis of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Patients with Chronic Kidney Disease.
(Supervised by **Fitriani Mangarengi** and **Yuyun Widaningsih**).

Lipocalin-2 or neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) or sidrocalin is a 25-kilodaltons protein member of the lipocalin family, produced by nephrons due the response to the tubular epithelial damage. It is well known that NGAL levels increase in AKI. Recent evidence shows that NGAL increases in CKD, regardless of etiology, and that a higher NGAL levels can predict the development of CKD. This study aims to analyze NGAL levels in patients with chronic kidney disease.

The cross sectional study was conducted at Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar from March to April 2019. A total sample of 68 was obtained, consisting of 43 CKD patients and 25 healthy controls. Measurement of NGAL levels was performed with ELISA NGAL kit (BT Laboratory, China) Data were analyzed statistically using Mann Whitney test, Kruskal Wallis, and Spearman Correlation test. The results were significant if $p < 0.05$.

The results showed significantly higher NGAL levels in CKD than controls (48.0 ± 9.4 vs 21.2 ± 9.9 , ng / ml $p < 0.001$). NGAL levels were significantly higher in CKD than controls without age's influence ($p < 0.001$). A significant difference was also found in NGAL levels according to CKD degrees ($p < 0.001$). In CKD subjects, a significant positive correlation was found between GFR and NGAL ($p < 0.001$).

It was concluded that NGAL levels could be used as predictors of severity in the early degrees of CKD.

Keywords: CKD, NGAL, GFR



DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL/JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
1. Tujuan umum	4
2. Tujuan khusus	4
D. Hipotesis	5
Manfaat Penelitian	5
DAFTAR PUSTAKA	
Penyakit Ginjal Kronik	6



1. Anatomi	6
2. Definisi	12
3. Klasifikasi	13
4. Epidemiologi	15
5. Etiologi	16
6. Patogenesis	16
B. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin	
1. Definisi	20
2. Struktur NGAL	22
3. Reseptor NGAL	23
4. Peran NGAL	24
C. Hubungan NGAL dengan Penyakit Ginjal Kronik	29
III. KERANGKA PENELITIAN	
A. Kerangka Teori	34
B. Kerangka Konsep	35
IV. METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	36
B. Tempat dan Waktu Penelitian	36
C. Populasi Penelitian	36
D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	37
E. Perkiraan Besar Sampel	37
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	37
Izin Subjek Penelitian	38
Cara Kerja	38
Prosedur Pemeriksaan Laboratorium	39



J. Skema Alur Penelitian	44
K. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	45
L. Metode Analisis	46
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	47
B. Pembahasan	53
C. Ringkasan Hasil Penelitian	55
VI. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	56
B. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	61



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
BAB II	
1. Kriteria PGK	12
2. Kategori LFG	14
3. Kategori Albuminuria	15
4. Tabel Komposisi dan Konsentrasi Larutan Standar	40
BAB V	
5. Karakteristik Subyek Penelitian	47
6. Sebaran Jenis Kelamin Menurut Kelompok	48
7. Sebaran Umur Menurut Kelompok	48
8. Perbandingan NGAL antara PGK dan Kontrol	49
9. Korelasi LFG Dengan NGAL Pada PGK	50
10. Perbandingan NGAL Menurut Derajat PGK	51
11. Perbandingan NGAL Antara PGK Dengan Kontrol	52



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
BAB II	
1. Ginjal dan Saluran Kemih	7
2. Pembuluh Utama Ginjal dan Mikrosirkulasi Nephron	8
3. Segmen Tubular Nefron	9
4. Struktur Tiga Dimensi Lipocalin	21
5. Struktur 3D Kompleks NGAL-siderophore-iron	22
6. Peran NGAL dalam Pengangkutan Besi	26
7. Jaringan EGFR, HIF-1 α , LCN2	32
8. Pengenceran Larutan Standar	40
BAB V	
9. Perbandingan NGAL pada PGK dan control	48
10. Korelasi LFG Dengan NGAL Pada PGK	50
11. Perbandingan NGAL Menurut Derajat PGK	51



DAFTAR SINGKATAN

AKI	: <i>Acute Kidney Injury</i>
CKD	: <i>Chronic Kidney Disease</i>
ECM	: <i>Extracelular Matrix</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EHC	: <i>Enhancer Binding Protein</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EMT	: <i>Epithelial mesenchymal Transition</i>
ESKD	: <i>End –Stage Kidney Disease</i>
GFR	: <i>Glomerular Filtration Rate</i>
HLA-G	: <i>Human Leucocyte Antigen-G</i>
HIF-1	: <i>Hypoxia Inducible Factor-1</i>
IFN γ	: <i>Interferron γ</i>
IRR	: <i>Indonesian Renal Registry</i>
KDIGO	: <i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
LCN2	: <i>Lipocallin-2</i>
LFG	: <i>Laju Filtrasi Glomerulus</i>
LPS	: <i>Lipopolysaccharides</i>
MMP-9	: <i>Matrix Metalloproteinase-9</i>
NGAL	: <i>Neutrophil gelatinase-associated Lipocalin</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
	: <i>Penyakit Ginjal Kronik</i>
	: <i>Smooth Muscle Cells</i>



SLE	: <i>Systemic Lupus Erithomatosus</i>
TEC	: <i>Tubular Epithelial Cells</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
TNF α	: <i>Tumor Necrosing Factor α</i>
T-Reg	: <i>T-Regulatory</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Persetujuan Etik	61
2. Naskah penjelasan untuk mendapat persetujuan subyek	62
3. Formulir Informed consent	64
4. Data penelitian	65
5. <i>Curriculum Vitae</i>	68



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Penyakit ginjal kronik (PGK) atau *chronic kidney disease* (CKD) merupakan masalah kesehatan masyarakat global dengan prevalensi dan insidensi gagal ginjal yang meningkat, prognosis yang buruk dan biaya yang tinggi. Prevalensi PGK meningkat seiring meningkatnya jumlah penduduk usia lanjut dan kejadian penyakit diabetes melitus serta hipertensi (Infodatin, 2017). Penyakit ginjal kronik adalah faktor risiko *end-stage kidney disease* (ESKD), penyakit kardiovaskular, dan kematian secara keseluruhan (Yamaguchi, J et al., 2015). Menurut hasil *Global Burden of Disease* tahun 2010, PGK merupakan penyebab kematian peringkat ke-27 di dunia tahun 1990 dan meningkat menjadi urutan ke-18 pada tahun 2010. Di Indonesia, perawatan penyakit ginjal menempati urutan kedua pembiayaan terbesar dari BPJS kesehatan setelah penyakit jantung (Infodatin, 2017).

Penyakit ginjal kronik adalah istilah umum untuk penyakit ginjal yang menyebabkan hilangnya fungsi ginjal secara progresif dari waktu ke waktu. Ginjal hanya memiliki kapasitas terbatas untuk regenerasi, dan cedera berulang atau berkelanjutan pada ginjal menyebabkan respons maladaptif, termasuk pengendapan kelebihan *extracellular matrix* (ECM), terutama kolagen, dalam glomerulus dan tubulointerstitium ginjal (Mullins, LJ et al., 2016). Terlepas dari etiologi awal, fibrosis, atrofi tubular, dan inflamasi interstitial adalah gambaran patologis yang umum dari PGK (Yamaguchi, J et al., 2015). PGK didefinisikan sebagai kerusakan ginjal yang ditandai dengan penurunan *Glomerular Filtration Rate* (GFR) kurang dari 60 mL/min/1,73 m² selama 3 bulan (KDIGO, 2012).



Dalam mendiagnosis PGK sejak dini, beberapa biomarker yang sering digunakan seperti serum kreatinin, cystatin C atau proteinuria biasa digunakan untuk memperkirakan kerusakan dan fungsi ginjal. Pengukuran serum kreatinin dipengaruhi oleh usia, massa otot, jenis kelamin, status hidrasida *ekstrarenal clearance*. Cystatin C adalah penanda yang baik. Namun, dilaporkan bahwa cystatin C tidak mencerminkan perubahan awal dalam tubulointerstitium. Proteinuria juga merupakan penyebab dan penanda penting perkembangan penyakit, namun perkembangan PGK dapat terjadi tanpa proteinuria yang jelas (Moriya H, et al. 2017). Adanya kebutuhan mendesak akan biomarker prediktif awal dari *acute kidney injury* (AKI, sebelumnya disebut sebagai gagal ginjal akut) dan PGK, dimana dalam kedua situasi ini intervensi dini dapat meningkatkan prognosis secara signifikan (Devarajan, 2008).

Pengamatan terbaru menunjukkan peran penting tubulus ginjal dalam kejadian dan perkembangan PGK (Bolignano et al., 2009). Tubulus ginjal dan tubulointerstitium membentuk sebagian besar ginjal dan merupakan tempat utama respons terhadap cedera. Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa *tubular epithelial cells* (TEC) memainkan peran yang beragam dalam perbaikan ginjal atau perkembangan menjadi penyakit ginjal kronik. Beberapa bukti menunjukkan bahwa penurunan fungsi ginjal berkorelasi lebih baik dengan kerusakan tubulointerstisial dibandingkan dengan cedera glomerulus (Liu B.C et al., 2018).

Tubulus ginjal dan tubulointerstitium melakukan fungsi-fungsi penting, termasuk reabsorpsi selektif dan ekskresi molekul yang disaring serta produksi dan sekresi berbagai faktor. Dengan demikian, tubulointerstitium memiliki kebutuhan energi yang tinggi. Tubulointerstitium juga rentan terhadap cedera, selain itu tubulointerstitium juga terlibat dalam proses penyakit dan eksposur terhadap toksin. Mengingat



pentingnya tubulointerstitium dan kepekaan terhadap cedera, tidak mengherankan bahwa banyak fungsi fisiologisnya, menjelaskan manifestasi klinis PGK. Pada PGK, ketika kerusakan ginjal mencapai ambang batas, perkembangan selanjutnya sebagian besar *irreversible* dan tidak tergantung pada cedera awal ginjal (Hodgkins, K.S et al., 2012).

Lipocalin-2 atau neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) atau sidrocalin adalah protein 25-kilodaltons anggota keluarga lipocalin, diproduksi oleh nefron sebagai respons terhadap kerusakan epitel tubular. Telah diketahui bahwa tingkat NGAL meningkat pada AKI. Bukti-bukti terbaru menunjukkan bahwa NGAL meningkat pada PGK, tanpa memandang etiologi, dan bahwa kadar NGAL yang meningkat dapat memprediksi perkembangan PGK (Basturk et al., 2016).

Bolignano et al. melaporkan bahwa kadar NGAL mencerminkan entitas gangguan ginjal dan merupakan penanda risiko independen yang kuat pada pengembangan PGK. Moriya et al. juga melaporkan bahwa plasma NGAL adalah penanda lesi interstisial yang berguna pada pasien dengan PGK dan prediktor lebih lanjut perburukan ginjal pada tahap awal PGK. Namun, Basturk et al. mendapatkan bahwa meskipun NGAL memiliki korelasi positif dengan keparahan penyakit, NGAL tidak menjadi penanda perkembangan penyakit pada pasien dengan PGK tahap awal.

Penelitian tentang kadar NGAL pada penderita penyakit ginjal kronik sepengetahuan penulis hingga saat ini belum pernah dilakukan di Makassar, sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang kadar NGAL pada penderita penyakit ginjal kronik.



B. RUMUSAN MASALAH

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

Bagaimana kadar NGAL pada penderita penyakit ginjal kronik ?

C. TUJUAN PENELITIAN

1. Tujuan Umum

Menganalisis kadar NGAL pada penderita penyakit ginjal kronik.

2. Tujuan Khusus

- a. Diketuainya kadar NGAL pada kontrol sehat.
- b. Diketuainya kadar NGAL pada penderita PGK.
- c. Diketuainya perbedaan kadar NGAL penderita PGK dengan kontrol sehat.
- d. Diketuainya LFG pada penderita PGK.
- e. Diketuainya korelasi kadar NGAL dengan LFG pada penderita PGK.
- f. Diketuainya hubungan antara kadar NGAL dengan derajat PGK.

D. HIPOTESIS PENELITIAN

1. Kadar NGAL pada pasien PGK lebih tinggi dibandingkan kontrol sehat.
2. Semakin tinggi LFG, semakin rendah kadar NGAL.
3. Semakin berat derajat PGK, semakin tinggi kadar NGAL



E. MANFAAT PENELITIAN

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan tentang NGAL pada penderita penyakit ginjal kronik.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu klinisi dalam menilai buruknya fungsi ginjal pada penderita PGK berdasarkan NGAL.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

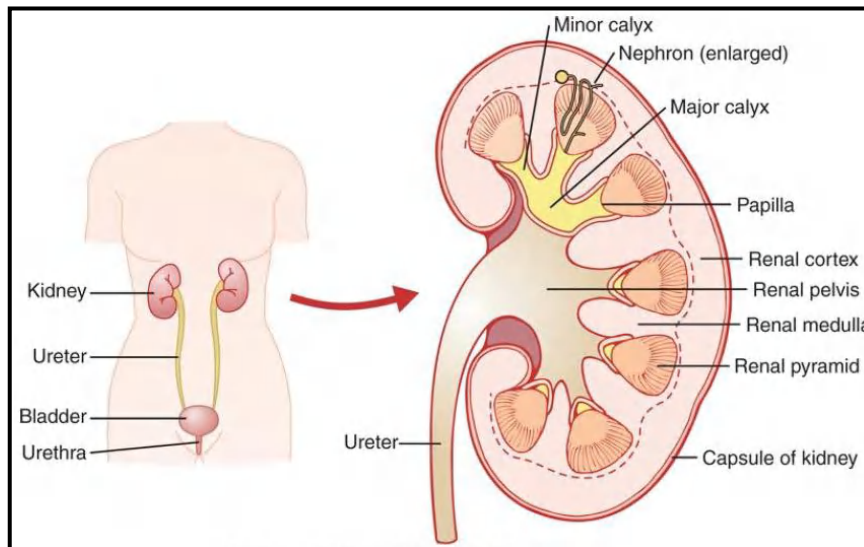
A. Penyakit Ginjal Kronik

1. Anatomi

Ginjal terletak pada dinding posterior *abdomen*, di luar rongga peritoneum. Pada orang dewasa berat ginjal sekitar 150 gram dan seukuran kepalan tangan. Pada sisi medial ginjal terdapat daerah lekukan yang disebut *hilum* yang dilalui arteri dan vena ginjal, sistem saraf, limfatik, dan ureter, yang membawa urin dari ginjal ke kandung kemih. Ginjal diselubungi oleh kapsul keras dan berserat yang melindungi struktur di dalamnya (Gambar 1). Jika ginjal dibagi dua dari atas ke bawah, dua daerah utama yang dapat divisualisasikan adalah *outer cortex* dan *inner medulla*. Medula dibagi menjadi 8 hingga 10 massa jaringan berbentuk kerucut yang disebut *renal pyramids* (Guyton & Hall, 2012).

Basis setiap piramida berasal dari perbatasan antara korteks dan medula dan berakhir di *papilla*, yang memproyeksikan ke dalam ruang *renal pelvis*, suatu kelanjutan saluran dari ujung atas ureter. Batas luar *pelvis* dibagi menjadi *open-ended pouches* yang disebut *major calyces* yang memanjang ke bawah dan membaginya menjadi *minor calyces*, yang mengumpulkan urin dari tubulus setiap papilla. Dinding calyces, pelvis, dan ureter mengandung elemen kontraktil yang mendorong urin ke arah kandung kemih, tempat urin disimpan sampai dikosongkan oleh miksi (Guyton & Hall, 2012).

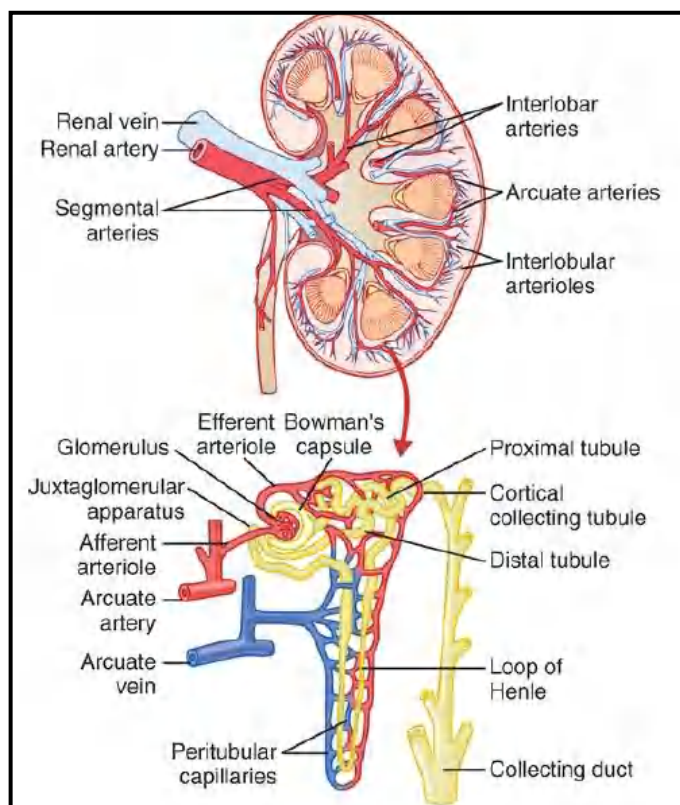




Gambar 1. Ginjal dan Sistem Kemih (Guyton & Hall, 2012)

Aliran darah ke dua ginjal sekitar 22 persen dari curah jantung, atau 1.100 ml/menit. Arteri ginjal memasuki ginjal melalui hilus dan kemudian bercabang membentuk arteri interlobar, arteri arkuata, arteri interlobular (juga disebut arteri radial) dan arteriol aferen, yang mengarah ke kapiler glomerulus (Gambar 2), di mana sejumlah besar cairan dan zat terlarut (kecuali protein plasma) disaring untuk membentuk urin. Ujung distal kapiler masing-masing glomerulus bergabung untuk membentuk arteriol eferen, yang mengarah ke jaringan kapiler kedua, kapiler peritubular, yang mengelilingi tubulus ginjal (Guyton & Hall, 2012).





Gambar 2. Pembuluh Darah Utama Ginjal dan Mikrosirkulasi Nephron (Guyton & Hall, 2012).

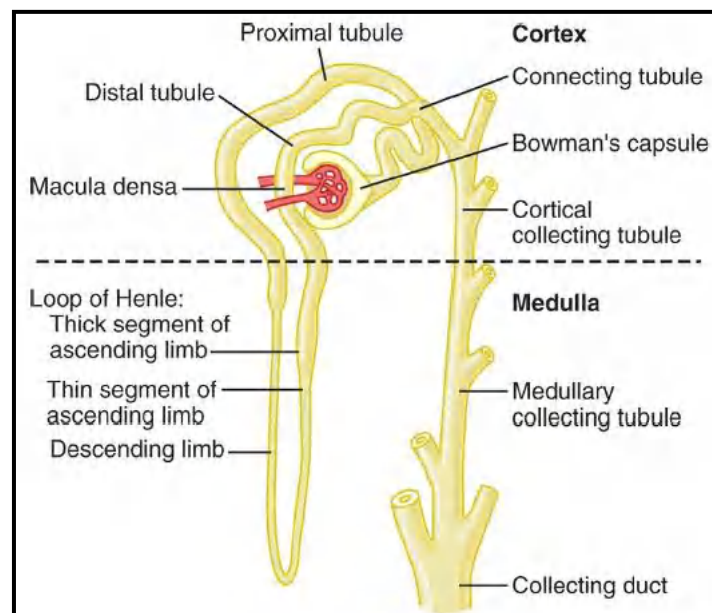
Sirkulasi ginjal unik karena memiliki dua lapisan kapiler, kapiler glomerulus dan peritubular, yang disusun secara seri dan dipisahkan oleh arteriol eferen, yang membantu mengatur tekanan hidrostatik pada kedua set kapiler. Tekanan hidrostatik yang tinggi dalam kapiler glomerulus (sekitar 60 mm Hg) menyebabkan filtrasi cairan yang cepat, sedangkan tekanan hidrostatik yang jauh lebih rendah di kapiler peritubular (sekitar 13 mm Hg) memungkinkan reabsorpsi cairan dengan cepat. Dengan menyesuaikan resistensi arteriol aferen dan eferen, ginjal dapat mengatur tekanan hidrostatik baik di kapiler glomerulus dan peritubular, sehingga mengubah laju filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubular, atau keduanya sebagai respons terhadap homeostatik tubuh (Guyton & Hall, 2012).



peritubular bermuara di pembuluh sistem vena, yang berjalan paralel
pembuluh arteriol. Pembuluh darah dari sistem vena secara progresif
vena interlobular, vena arcuate, vena interlobar, dan venarenalis,

yang meninggalkan ginjal di samping arteri dan ureter ginjal (Guyton & Hall, 2012).

Unit fungsional ginjal adalah nefron (Gambar 3), yang jumlahnya sekitar satu juta per ginjal. Nefron terdiri dari *glomerulus*, *proximal tubule*, *loop of Henle*, *distal tubule* dan *collecting duct* (Clatworthy M. 2010). Ginjal tidak dapat meregenerasi nefron baru. Oleh karena itu, pada cedera ginjal, penyakit, atau penuaan, terdapat penurunan bertahap dalam jumlah nefron (Guyton & Hall, 2012).



Gambar 3. Segmen Tubular Nefron (Guyton & Hall, 2012).

Kapiler glomerulus ditutupi oleh sel epitel, dan total glomerulus terbungkus dalam kapsul Bowman. Cairan yang disaring dari kapiler glomerulus mengalir ke kapsul Bowman dan kemudian ke tubulus proksimal, yang terletak di korteks ginjal (Guyton & Hall, 2012). Peran utama tubulus proksimal adalah menyaring dan reabsorpsi air dan elektrolit, termasuk glukosa dan asam amino. Produk-produk limbah yang disekresikan ke dalam ruang tubular di tubulus proksimal termasuk asam urat. Jika ada disfungsi tubulus proksimal [mis. pada asidosis tipe II (proksimal)] maka ada glikosuria, aminoaciduria, dan asidosis anion bikarbonat (Clatworthy M. 2010). Dari tubulus proksimal,



cairan mengalir ke loop Henle, yang masuk ke medula ginjal. Setiap loop terdiri dari *descending* dan *ascending limb*. Dinding *descending limb* dan ujung bawah *ascending limb* sangat tipis dan oleh karena itu disebut *thin segment* dari *loop of Henle*. Setelah *ascending limb* dari loop kembali sebagian ke korteks, dindingnya menjadi jauh lebih tebal, disebut *thick segment* dari *ascending limb* (Guyton & Hall, 2012). Peran utama loop Henle adalah menghasilkan gradien natrium interstitial antara korteks (konsentrasi Na^+ rendah) dan bagian dalam medula (konsentrasi Na^+ konsentrasi tinggi). Gradien konsentrasi ini dihasilkan berdasarkan fakta bahwa *ascending limb* dari Henle tidak dapat ditembus air (Clatworthy M. 2010).

Di ujung *thick ascending limb* yang menanjak adalah segmen pendek yang di dindingnya memiliki sel-sel epitel khusus, yang dikenal sebagai makula densa (Guyton & Hall, 2012). Pada akhir *loop of Henle*, saat kembali ke korteks, terletak sel-sel makula densa. Sel-sel makula densa merasakan konsentrasi natrium luminal dan terlibat dalam pengendalian pelepasan renin, dan tekanan darah sistemik (Clatworthy M. 2010). Makula densa memainkan peran penting dalam mengendalikan fungsi nefron. Di luar makula densa, cairan memasuki tubulus distal, seperti tubulus proksimal, terletak di korteks ginjal (Guyton & Hall, 2012). Tubulus distal berperan dalam mengatur konsentrasi natrium urin akhir (dan karenanya menentukan seberapa encer atau terkonsentrasinya). Sekitar 5% natrium diserap kembali pada tubulus distal melalui *co-transporter* NaCl , yang dihambat oleh diuretik thiazide (Clatworthy M. 2010). Ini diikuti oleh *connecting* *tubule* dan *cortical collecting tubule*, yang mengarah ke *cortical collecting duct*.

dari 8 hingga 10 saluran pengumpul kortikal bergabung untuk satu saluran pengumpul yang lebih besar yang mengalir ke bawah ke



dalam medula dan menjadi *medullary collecting duct* (Guyton & Hall, 2012). Sekitar 2% natrium diserap kembali oleh *aldosterone-sensitive sodium channels* yang ditemukan dalam tubulus distal dan *collecting duct* (Clatworthy M. 2010). *Collecting duct* bergabung untuk membentuk saluran yang lebih besar secara progresif yang akhirnya kosong ke *renal pelvis* melalui ujung *renal papillae*. Di setiap ginjal, di sana adalah sekitar 250 dari saluran pengumpul yang sangat besar, yang masing-masing mengumpulkan urin dari sekitar 4000 nefron (Guyton & Hall, 2012).

2. Definisi

Penyakit Ginjal Kronik adalah suatu gangguan pada ginjal ditandai dengan abnormalitas struktur ataupun fungsi ginjal yang berlangsung lebih dari 3 bulan. Penyakit Ginjal Kronik ditandai dengan satu atau lebih tanda kerusakan ginjal (Tabel 1.) yaitu albuminuria, abnormalitas sedimen urin, elektrolit, histologi, struktur ginjal, ataupun adanya riwayat transplantasi ginjal, juga disertai penurunan laju filtrasi glomerulus (KDIGO, 2013).

Tabel 1. Kriteria CKD (ditemukan salah satu penanda berikut > 3 bulan) (KDIGO, 2013).

Penanda kerusakan ginjal (satu atau lebih)	Albuminuria (AER ≥ 30 mg/24 jam; ACR ≥ 30 mg/g [≥ 3 mg/mmol])
	Abnormalitas sedimen urin Elektrolit dan abnormalitas akibat gangguan tubular Abnormalitas pada histologi Abnormalitas struktur pada radiologi Riwayat transplantasi ginjal
LFG	LFG < 60 ml/min/1.73 m ² (Kategori LFG G3a–G5)



3. Klasifikasi

Klasifikasi penyakit ginjal kronik menurut *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) berdasarkan sebab (*cause*), kategori LFG, dan kategori albuminuria. Berdasarkan penyebab, PGK biasanya ditetapkan berdasarkan ada tidaknya penyakit sistemik yang mendasarinya dan lokasi kelainan patologi-anatomi. Perbedaan antara penyakit sistemik yang mempengaruhi ginjal dan penyakit ginjal primer didasarkan pada asal dan lokus dari proses penyakit. Pada penyakit ginjal primer, proses timbul dan terbatas pada ginjal sedangkan pada penyakit sistemik, penyakit pada ginjal disebabkan oleh proses tertentu, misalnya diabetes mellitus. Temuan patologi-anatomi didasarkan pada besarnya proteinuria, temuan pada pemeriksaan sedimen urin, pencitraan, dan patologi ginjal (KDIGO, 2013).

Ginjal memiliki banyak fungsi, termasuk ekskresi, fungsi endokrin dan metabolisme. Laju filtrasi glomerulus adalah komponen fungsi ekskretoris, yang diterima secara luas sebagai salah satu indeks terbaik fungsi ginjal karena umumnya berkurang setelah kerusakan struktural yang luas dan sebagian besar fungsi ginjal lainnya menurun secara paralel dengan LFG pada PGK (KDIGO, 2013). Secara umum, LFG dinilai dengan mengukur kreatinin serum dan konsentrasinya berbanding terbalik dengan LFG (Lamb JE, et al, 2012)

Kreatinin serum adalah metabolit kreatin, sebuah molekul yang disintesis dari glisin dan arginin dalam hati, pankreas, dan ginjal dan yang berfungsi dengan fosfat berenergi tinggi yang dapat digerakkan dengan cepat. Produksi kreatinin ditentukan oleh jumlah kreatin yang



dihasilkan di hati, pankreas, dan ginjal, intake kreatin (yaitu asupan daging merah) dan fungsi otot. Dengan berat molekul 113 Da, kreatinin disaring secara bebas oleh glomeruli. Kreatinin diproduksi pada tingkat yang konstan dan laju produksi yang disesuaikan dengan tingkat ekskresi ginjal (Ostermann, M, et al.,2016). Berdasarkan kategori LFG, penyakit ginjal kronik dibagi dalam 6 tahap (tabel 2) (KDIGO, 2013).

Tabel. 2. Kategori LFG (KDIGO, 2013).

Kategori LFG	LFG (ml/min/1.73 m ²)	Keterangan
G1	≥90	Normal atau tinggi
G2	60–89	Sedikit menurun
G3a	45–59	Penurunan ringan sampai sedang
G3b	30–44	Sedang hingga sangat menurun
G4	15–29	Sangat menurun
G5	<15	Gagal ginjal

Perkiraan LFG dapat dihitung dengan menggunakan rumus *CKD-EPI* sebagai berikut (Bargman JM et al., 2010) :

$$\text{CKD-EPI creatinine equation} : 141 \times \min(\text{SCr}/k, 1)^{\alpha} \times \max(\text{SCr}/k, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{umur}} [\times 1.018 \text{ jika perempuan}] [\times 1.159 \text{ if black}]$$

Keterangan :

SCr : serum creatinine (mg/dl),

k : 0.7 jika perempuan 0.9 jika laki-laki,

α : - 0.329 pada perempuan dan -0.411 pada laki-laki,

min : minimum dari SCr/k atau 1

max : maximum dari SCr/k atau 1

Albuminuria mengacu pada kehilangan albumin yang abnormal dalam urin.

umumnya ditemukan pada PGK (KDIGO, 2013). Albuminuria adalah proses penangkal: kebocoran glomerulus dan reabsorpsi tubular (KDIGO, 2013). Kategori Albuminuria dapat dilihat pada tabel 3.



Tabel 3. Kategori Albuminuria(KDIGO, 2013).

Kategori	AER (mg/24 jam)	ACR		Keterangan
		(mg/mmol)	(mg/g)	
A1	<30	<3	<30	Normal sampai sedikit meningkat
A2	30-300	3-30	30-300	Cukup meningkat
A3	>300	>30	>300	Sangat meningkat

Keterangan : AER (Albumin excretion rate), ACR (Albumin-to-creatinine ratio)

4. Epidemiologi

Penyakit Ginjal Kronik adalah masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di seluruh dunia karena hasil yang buruk yang dialami oleh pasien dan tingginya biaya terkait (Mahmood, U et al.,2017). Prevalensi PGK meningkat seiring meningkatnya jumlah penduduk usia lanjut dan kejadian penyakit diabetes melitus serta hipertensi. Sekitar 1 dari 10 populasi global mengalami PGK pada stadium tertentu. Hasil *systematic review* dan metaanalysis yang dilakukan oleh Hill et al, 2016, mendapatkan prevalensi global PGK sebesar 13,4%. Menurut hasil *Global Burden of Disease* tahun 2010, PGK merupakan penyebab kematian peringkat ke-27 di dunia tahun 1990 dan meningkat menjadi urutan ke-18 pada tahun 2010 (Infodatin, 2017). Di Indonesia berdasarkan hasil Riskesdas 2018 prevalensi penyakit ginjal kronik mengalami peningkatan dari 2% menjadi 3,8% (Riskesdas, 2018). Data dari *Indonesian Renal Registry* (IRR) dari 249 renal unit yang melapor, tercatat 30.554 pasien aktif menjalani dialisis pada tahun 2015, sebagian besar adalah pasien dengan gagal ginjal kronik (IRR, 2016).

5. Etiologi

Penyebab PGK yang paling sering adalah diabetes mellitus dan hipertensi (M et al., 2015). Di Indonesia, sampai dengan tahun 2000, penyebab utama adalah glomerulonefritis, namun beberapa tahun terakhir



menjadi hipertensi berdasarkan data IRR. Namun belum dapat dipastikan apakah memang hipertensi merupakan penyebab PGK atau hipertensi akibat penyakit ginjal tahap akhir (Infodatin., 2017).

6. Patogenesis

Patofisiologi penyakit ginjal kronik pada awalnya tergantung pada penyakit yang mendasarinya, tapi dalam perkembangan selanjutnya proses yang terjadi kurang lebih sama. Pengurangan massa ginjal mengakibatkan hipertrofi. Struktural dan fungsional nefron yang masih tersisa sebagai upaya kompensasi, yang diperantarai oleh molekul vasoaktif seperti sitokin dan growth factors. Hal ini mengakibatkan terjadinya hiperfiltrasi, yang diikuti oleh peningkatan tekanan kapiler dan aliran darah glomerulus. Proses adaptasi ini berlangsung singkat dan pada akhirnya diikuti oleh proses maladaptasi berupa sklerosis nefron yang masih tersisa. Proses ini diikuti dengan penurunan fungsi nefron yang progresif walaupun penyakit dasarnya sudah tidak aktif lagi. Adanya peningkatan aktivitas aksis renin-angiotensin-aldosteron intrarenal, ikut memberikan kontribusi terhadap terjadinya hiperfiltrasi, sklerosis, dan progresifitas tersebut. Aktivasi jangka panjang aksis renin-angiotensin-aldosteron sebagian diperantarai oleh *growth factor* seperti *transforming growth factor*. Beberapa hal yang juga dianggap berperan terhadap terjadinya progresifitas penyakit ginjal kronik adalah albuminuria, hipertensi, hiperglikemia, dan dyslipidemia (Suwitra, 2006).

Pada stadium paling dini penyakit ginjal kronik, terjadi kehilangan daya cadang ginjal, pada keadaan Laju Filtrasi Glomerulus (LFG) basal masih normal

kat. Kemudian secara perlahan tapi pasti, akan terjadi penurunan yang progresif, yang ditandai dengan peningkatan kadar urea dan um. Pada LFG sebesar 60%, pasien masih belum merasakan



keluhan (asimtomatik), tapi sudah terjadi peningkatan kadar urea dan kreatinin serum. Sampai pada LFG sebesar 30% mulai terjadi keluhan pada pasien seperti nokturia, badan lemah, mual, nafsu makan kurang dan penurunan berat badan. Sampai pada LFG di bawah 30%, pasien memperlihatkan gejala dan tanda uremia yang nyata seperti anemia, peningkatan tekanan darah, gangguan metabolisme fosfor dan kalsium, pruritus, muntah dan lain sebagainya. Pasien juga mudah terkena infeksi seperti infeksi saluran kemih, infeksi saluran nafas, maupun infeksi saluran cerna, gangguan keseimbangan air seperti hipovolemia dan hipervolemia, gangguan keseimbangan elektrolit antara lain natrium dan kalium. Pada LFG di bawah 15% akan terjadi gejala dan komplikasi yang lebih serius, dan pasien sudah memerlukan terapi pengganti ginjal (*renal replacement therapy*) antara lain dialisis atau transplantasi ginjal. Pada keadaan ini, pasien dikatakan sampai pada stadium gagal ginjal (Suwitra, 2006).

Gagal ginjal kronik terjadi setelah ginjal atau salurannya mengalami berbagai macam penyakit yang merusak nefron ginjal. Dimana penyakit ini lebih banyak di parenkim ginjal, meskipun demikian lesi obstruksi pada saluran kemih juga dapat menyebabkan gagal ginjal kronik. Perjalanan umum penyakit gagal ginjal kronik dikutip dari *Bruner and Suddarth*, 2002, dapat dibagi menjadi beberapa tahapan :

1. Fungsi renal menurun. Produk akhir metabolisme protein (yang normalnya diekskresikan ke dalam urin) tertimbun dalam darah. Terjadi uremia dan mempengaruhi setiap sistem tubuh. Semakin banyak timbunan produk sampah, maka gejala akan semakin berat.



2. Gejala klinis renal. Banyak masalah muncul pada gagal ginjal sebagai akibat dari penurunan laju glomerulus yang berfungsi, yang menyebabkan penimbunan produk akhir metabolisme protein dan kliren substansi darah yang seharusnya dibersihkan oleh ginjal.

Menurunnya filtrasi glomerulus (akibat tidak berfungsinya glomerulus) klirens kreatinin akan menurun dan kadar kreatinin serum akan meningkat. Kreatinin serum merupakan indikator yang paling sensitif dari fungsi renal karena substansi ini diproduksi secara konstan oleh tubuh.

3. Retensi cairan dan natrium. Ginjal juga tidak mampu mengkonsentrasikan dan mengencerkan urin secara normal pada penyakit ginjal tahap akhir, respon ginjal yang sesuai terhadap perubahan masukan cairan dan elektrolit, tidak terjadi. Pasien sering menahan natrium dan cairan, meningkatkan risiko terjadinya udem, gagal jantung kongestif dan hipertensi.
4. Asidosis metabolik. Perkembangan penyakit renal, terjadi asidosis metabolik seiring dengan ketidakmampuan ginjal mengekskresikan (H^+) yang berlebihan.
5. Anemia. Anemia terjadi sebagai akibat dari produksi eritropoietin yang tidak adekuat, memendeknya usia sel darah merah, defisiensi nutrisi dan kecenderungan mengalami perdarahan sebagai akibat status uremik pasien.
6. Ketidakseimbangan kalsium dan fosfat. Abnormalitas lain dari gagal ginjal kronik adalah gangguan metabolisme kalsium dan fosfat. Kadar serum kalsium dan fosfat tubuh memiliki hubungan saling timbal balik, jika salah satunya meningkat yang lainnya akan menurun.

B. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin

1. Definisi

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), juga dikenal sebagai

(MMP-9), 24p3, p25, *migration-stimulating factor inhibitor*, *human lipocalin*, *α 1-microglobulin related protein*, siderocalin, atau uterocalin, protein tersekresi berukuran 25 kDa yang dikodekan oleh gen yang



terletak pada lokus kromosom 9q34.11 (Abella V et al., 2015). Pertama kali diidentifikasi sebagai protein yang tersimpan dalam *granules* spesifik neutrofil manusia. Protein tersebut diyakini mengikat zat lipofilik kecil seperti formilpeptida turunan bakteri dan *lipopolysaccharides* (LPS) dan dapat berfungsi sebagai modulator peradangan (Cowland JB et al, 1997).

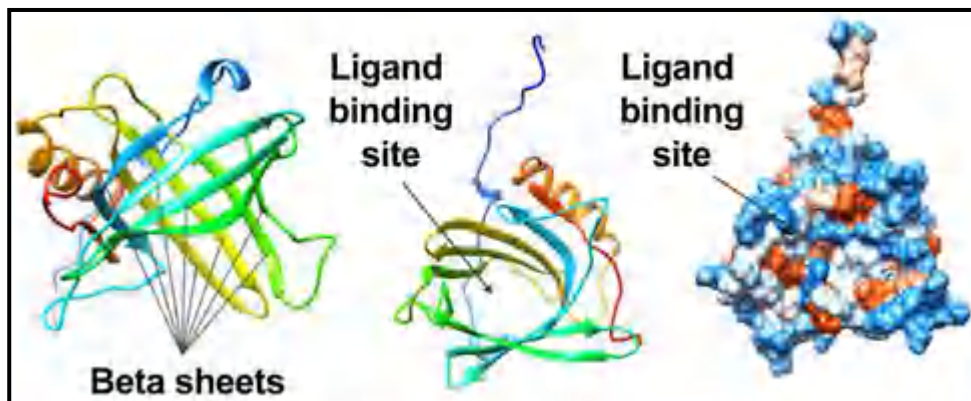
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin secara konstitutif disintesis selama *narrow window* pematangan prekursor granulosit di sumsum tulang, yaitu pada mielosit/metamielosit, tetapi selain itu, sintesis NGAL dapat diinduksi pada sel epitel dalam kondisi khusus seperti pada peradangan dan keganasan (Cowland JB et al, 1997). *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* diekspresikan dalam ginjal, endotel, hati, dan *smooth muscle cells* (SMCs), serta kardiomyosit, neuron, dan berbagai populasi sel imun, seperti makrofag, dan sel dendritik (Buonafine et al. 2018).

Meskipun pertama kali ditemukan sebagai komponen butiran neutrofil, NGAL juga diekspresikan dalam beberapa jaringan manusia dewasa normal termasuk saluran payudara non-neoplastik, ginjal, hati, paru-paru, trakea, usus halus, sumsum tulang, timus, prostat, jaringan adiposa dan makrofag. Ekspresi NGAL yang lemah atau tidak ada diamati pada pankreas normal, kelenjar endometrium, dan timus dan leukosit darah tepi. Pada otak normal, jantung, otot rangka, limpa, testis, ovarium dan usus besar NGAL sama sekali tidak ditemukan (Chakraborty, S et al., 2011).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin adalah anggota keluarga protein lipocalin. Lipocalins terdiri dari kelas protein yang ditandai oleh delapan β -strands yang membentuk β -barrel mendefinisikan *calyx*. *Calyx* mengikat dan mengangkut molekul berat molekul rendah, yang dianggap menentukan aktivitas biologis



lipokalin. Lipocalins mencakup banyak protein kecil, yang sebagian besar bertindak sebagai pengangkut, terutama untuk zat lipofilik. (Gambar 4).



Gambar 4. Struktur tiga dimensi lipocalin (Buonafine et al. 2018)

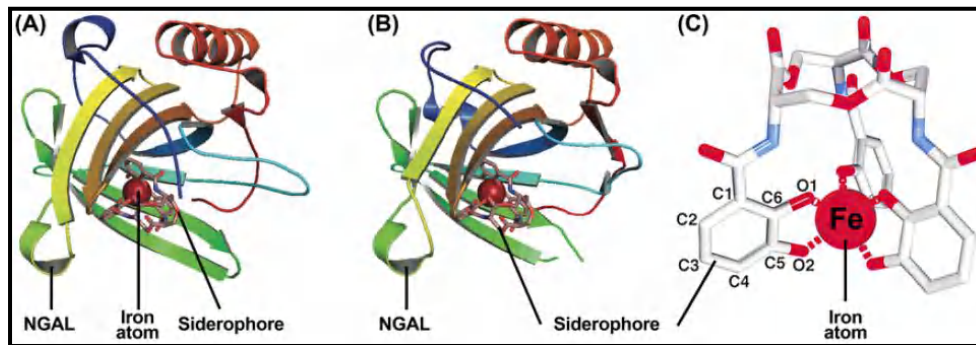
2. Struktur NGAL

Seperti anggota keluarga lipocalin lainnya, NGAL memiliki struktur barel 3D. Namun, situs pengikatannya memiliki dua kekhasan: polar dan cukup lebar untuk mengikat protein tertentu. Selain itu, adanya residu *cysteine* pada posisi 87 memungkinkan NGAL untuk membentuk ikatan disulfida dengan ligan spesifik, *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9, juga dikenal sebagai *gelatinase B*) sebuah protein di mana aksi enzimatis memungkinkan degradasi komponen *extracellular matrix* (ECM) tertentu dan karenanya terlibat dalam mekanisme remodeling jaringan. Pengikatan MMP-9 pada NGAL tidak mengubah aktivitasnya, tetapi menstabilkan protein dan menurunkan degradasinya (Buonafine et al. 2018).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin memiliki rongga pengikat ligan yang dapat menjelaskan bagaimana NGAL berinteraksi dengan protein bakteri dan mamalia yang disebut *siderophores* (Gambar 5). *Siderophores* adalah protein

molekul rendah yang dihasilkan oleh mikroorganisme (termasuk jamur) yang berikatan khusus dengan bentuk *ferric* dari besi (Abella V et





Gambar 5. Struktur 3D kompleks NGAL – siderophore-iron (Abella V et al., 2015)

3. Reseptor NGAL

a. Reseptor 24p3

Reseptor 24p3 (24p3R) adalah salah satu dari dua reseptor yang saat ini dijelaskan untuk NGAL. Reseptor 24p3 adalah reseptor endositik dengan afinitas yang kuat untuk NGAL, yang memungkinkannya untuk memasuki sel. Reseptor ini berpartisipasi dalam kontrol homeostasis besi yang memungkinkan NGAL untuk memasuki sel, sehingga memodulasi konsentrasi besi intraseluler. Ekspresi reseptor ini telah ditunjukkan di berbagai jaringan dan jantung. Dalam kondisi peradangan, 24p3R diekspresikan di seluruh jantung dan khususnya, pada permukaan kardiomyosit. Selain itu, 24p3R diekspresikan dalam nefron ginjal distal dan terlibat dalam endositosis albumin dan aktivasi jalur pensinyalan proinflamasi dan profibrotik NF- κ B dan TGF- β . Ekspresi 24p3R meningkat pada permukaan neutrofil pasien psoriasis (Buonafine et al. 2018).

b. Megalin

Reseptor lain yang diketahui untuk NGAL adalah megalin. Megalin adalah reseptor endositik *multiligand* yang diekspresikan oleh berbagai epitel, khususnya epitel yang menyerap yang tinggi, seperti epitel tubulus ginjal, ileum, dan pleksus mesenterik. Megalin juga terdeteksi pada kardiomyosit yang dikultur secara *in vitro*. Selain itu, megalin juga terdeteksi pada berbagai jenis sel imun, seperti sel T, sel B, granulosit, dan monosit /



makrofag. Megalin termasuk dalam keluarga reseptor lipoprotein densitas rendah dan berikatan dengan berbagai lipocalin. Namun, afinitasnya untuk NGAL lebih tinggi daripada lipocalin lainnya. Peran patofisiologis kompleks NGAL-megalin masih belum dijelaskan dengan baik. (Buonafine et al. 2018)

4. Peran NGAL

a. NGAL pada infeksi

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin dideskripsikan sebagai komponen baru dari *innate immune system* dan respon fase akut terhadap infeksi. Selama infeksi, bakteri memperoleh banyak zat besi yang penting untuk tumbuh dari *host* dengan mensintesis siderofor yang mengikat besi dan memindahkannya ke dalam patogen. Enterobactin adalah siderofor yang diproduksi oleh bakteri gram negatif (seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella*, atau *Salmonella* spp.). *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* berikatan dengan enterobactin, baik dalam keadaan *iron-laden* dan *iron-free state*, dan mengangkutnya melalui reseptor NGAL (24p3R) ke dalam sel mamalia tempat besi disimpan. Bakteri membutuhkan zat besi untuk pertumbuhannya. Oleh karena itu, dengan menipisnya cadangan besi, NGAL menghambat pertumbuhan bakteri (memiliki efek bakteristatik). Setelah bertemu dengan bakteri penyerang, *Toll-like receptors* pada sel-sel kekebalan merangsang transkripsi, translasi, dan sekresi NGAL; NGAL kemudian membatasi pertumbuhan bakteri dengan sekuestrasi siderofor. NGAL tidak hanya melindungi terhadap sepsis bakteri tetapi juga mengatur ekspresi sitokin pro-inflamasi *host* dengan membatasi stres oksidatif yang dimediasi zat besi (Abella, V et al., 2015).

Peran NGAL dalam mengikat dan modulasi besi

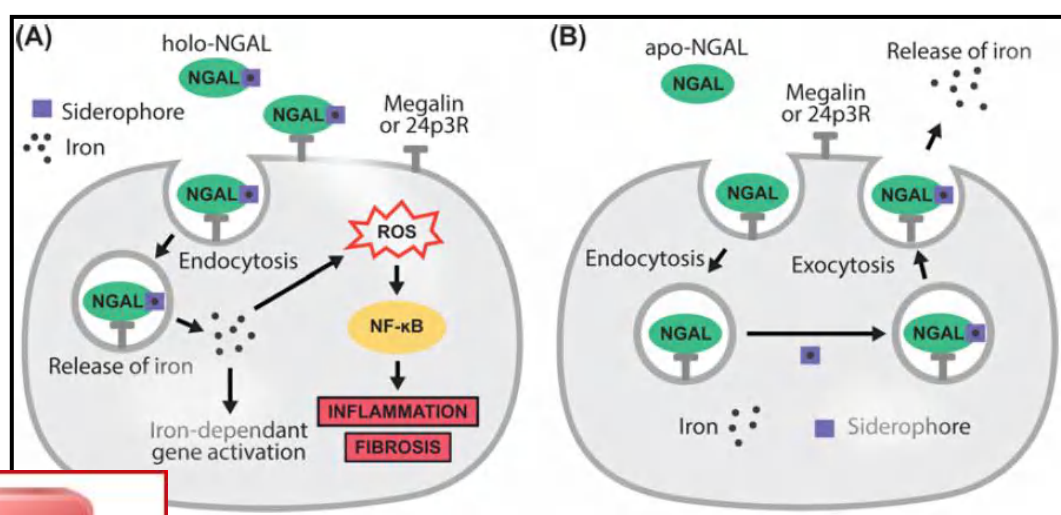


Optimization Software:
www.balesio.com

Sebagaimana disebutkan di atas, NGAL terlibat dalam pertahanan antibakteri dengan mengikat dan memodulasi besi. Zat besi adalah elemen penting untuk perkembangan

bakteri, tetapi hadir dalam jumlah yang sangat kecil di dalam tubuh. Bakteri menangkap zat besi dari *host* dengan melepaskan protein dengan afinitas tinggi terhadap zat besi, yaitu *siderophores*. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa NGAL dapat berikatan dengan *siderophores* bakteri, sehingga memainkan peran bakteriostatik dengan mengurangi ketersediaan zat besi (Buonafine et al. 2018).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin juga dapat berikatan dengan *siderophores* endogen yang ada pada manusia, yaitu *catechols*, yang menunjukkan peran NGAL dalam homeostasis besi, bahkan tanpa adanya infeksi bakteri. Ketika NGAL berikatan dengan *iron-coupled siderophore* (bentuk holo-NGAL), zat ini mengangkut besi ke dalam sel, sehingga meningkatkan konsentrasi besi sitosol (Gambar 6A). Sebaliknya, ketika bebas (bentuk apo-NGAL), ia memungkinkan penangkapan besi intraseluler dan transpornya ke ruang ekstraseluler, sehingga mengurangi konsentrasi besi intraseluler (Gambar 6B). Peran NGAL dalam homeostasis besi mungkin memiliki dampak signifikan pada patologi karena kadar zat besi memainkan peran penting dalam berbagai mekanisme yang merusak, seperti stres oksidatif, peradangan, apoptosis, dan fibrosis (Buonafine et al. 2018).



Gambar 6. Peran NGAL dalam pengangkutan besi (Buonafine et al. 2018).



c. NGAL dalam imunitas

La Manna et al. (2014) dalam studi *in vitro* mengatakan bahwa NGAL terlibat dalam imunitas seluler. Peran potensial NGAL sebagai molekul imunomodulator didasarkan pada kemampuannya untuk menginduksi toleransi imun dengan meningkatkan ekspresi *human leukocyte antigen G* (HLA-G), pada CD4+Tcells dan perkembangan *T regulatory* (Treg) sel dalam donor sehat. Dereglasi sel Treg dapat menyebabkan penyakit autoimun, termasuk, diabetes mellitus tipe 1, systemic lupus erythematosus (SLE), RA, dan psoriasis. Oleh karena itu, NGAL mungkin memiliki fungsi perlindungan yang penting sebagai aktivator imun (Abella, V et al., 2015).

Sistem komplemen menyediakan hubungan antara sistem imun *innate* dan *adaptive*. Komponen C3 penting dalam merekrut sel-sel inflamasi dan juga terlibat pada beberapa penyakit inflamasi akut dan kronik. Produk aktif C3 dikenali oleh reseptor komplemen CD21 dan CD35. Reseptor ini sebagian besar diekspresikan pada sel B. Hewan yang kekurangan *co-receptors* CD21 / CD35 sangat rentan terhadap infeksi (Abella, V et al., 2015). Mekanisme regulasi C21 / CD35 diatur dan dimediasi C3 dari ekspresi NGAL (S. Chakraborty et al., 2012)

d. NGAL dalam peradangan

Dalam neutrofil, sekresi NGAL sangat diatur oleh aktivasi peradangan dan infeksi; LPS dan TNF α adalah dua pemicu kuat produksi NGAL. Promotor NGAL memiliki *binding sites* pada dua faktor transkripsi utama, *nuclear factor kB* (NF-kB) dan *CCAAT/enhancer binding protein* (C/EBP), menunjukkan bahwa aktivasi transkripsi gen ini terkait dengan peradangan. Guo et al. menunjukkan bahwa NGAL

merupakan regulator anti-inflamasi polarisasi makrofag dan aktivasi jalur NF- κ B (Abella, V et al., 2015).



e. NGAL dalam metabolisme

Studi terbaru telah melaporkan hubungan antara konsentrasi serum NGAL dan berbagai parameter metabolisme dan penanda inflamasi. Dalam studi yang dilakukan Jang et al. memberikan bukti klinis pertama yang menunjukkan bahwa konsentrasi serum NGAL terkait erat dengan obesitas dan peradangan kronik serta komplikasi metaboliknya. Mereka menyarankan serum NGAL sebagai biomarker yang berguna untuk mengevaluasi hasil dalam berbagai pengaturan klinis dari metabolisme yang berhubungan dengan obesitas dan penyakit kardiovaskular (Abella, V et al., 2015).

Promotor NGAL memiliki situs pengikatan dua faktor transkripsi kunci, NF- κ B dan CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) dan elemen respon glukokortikoid, menunjukkan bahwa aktivasi transkripsi gen ini dalam jaringan adiposa dikaitkan dengan peradangan dan obesitas dan mungkin memiliki fungsi dalam remodeling jaringan adiposa. Ekspresi dan sekresi NGAL terbukti diinduksi oleh dua sitokin proinflamasi, IFN γ dan TNF α , pada murin dan adiposit manusia yang dikultur. Dalam penelitian Zhao et al., menunjukkan bahwa IFN γ dan TNF α menginduksi ekspresi dan sekresi NGAL *in vivo* (Abella, V et al., 2015).

f. Peran NGAL dalam diferensiasi dan proliferasi dan sebagai faktor pertumbuhan

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin juga telah terbukti mempromosikan diferensiasi dan proliferasi, bertindak sebagai faktor pertumbuhan. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* merangsang proliferasi dan diferensiasi epitel sel-sel tikus dan dapat menginduksi organisasi tubular sel-sel epitel tikus. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* juga menginduksi proliferasi



SMC vaskular manusia dan fibroblas jantung. Peran NGAL dalam proliferasi sel juga telah ditunjukkan dalam model kanker lambung dan tiroid. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* berpartisipasi dalam transisi epitel-mesenkimal *in vivo* dalam model adenokarsinoma paru pada tikus dan *in vitro* dalam sel kanker prostat dan kanker payudara. Dalam model-model ini, NGAL mempromosikan motilitas, invasivitas, dan kapasitas metastasis sel kanker (Buonafine et al. 2018).

C. Hubungan NGAL dengan Penyakit Ginjal Kronik

Fokus lama dalam penelitian PGK adalah pada glomerulus, yang merupakan tempat filtrasi glomerulus terjadi, dan sebagian besar PGK progresif dikaitkan dengan patologi glomerulus yang signifikan. Namun, selama beberapa dekade diketahui bahwa atrofi tubular juga merupakan ciri khas PGK (Schelling, J. R. 2016). Ada konsensus umum bahwa keparahan cedera tubulointerstitial berkorelasi erat (dan lebih baik daripada cedera glomerulus) dengan gangguan fungsi ginjal jangka panjang. Hal ini tidak mengejutkan, mengingat tubulus dan interstitium menempati lebih dari 90% volume ginjal (Matovinović, M.S., 2009).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) adalah salah satu molekul pertama yang memicu perkembangan ginjal, mengubah sel mesenchymal embrionik menjadi sel epitel yang membentuk tubulus dan nefron lengkap. Leukosit, *loop of Henle* dan *collecting ducts* adalah sumber utama NGAL dalam tubuh. Hal ini diekspresikan oleh sel-sel epitel tubulus sebagai respons terhadap cedera dan kerusakan tubulointerstitial yang sering terjadi dalam perjalanan perkembangan

Tingkat ekspresi NGAL tampaknya terkait dengan tingkat disfungsi ginjal. Hal ini membantu untuk menunjukkan pasien yang berisiko lebih tinggi



mengalami penurunan fungsi ginjal yang lebih cepat. NGAL memediasi efek mitogenik *epidermal growth factor receptor* (EGFR) (Rysz, J et al., 2017).

Epidermal growth factor receptor adalah reseptor faktor pertumbuhan yang menginduksi diferensiasi dan proliferasi sel pada saat aktivasi melalui pengikatan salah satu ligannya (Voldborg, B. R 1997). Peradangan adalah mediator penting dari kerusakan ginjal progresif. Aktivasi EGFR *in vivo* pada ginjal menghasilkan peningkatan regulasi lokal faktor-faktor proinflamasi dan infiltrasi sel-sel inflamasi. Selain keterlibatan pensinyalan EGFR dalam fibrosis dan peradangan ginjal, reseptor EGFR berkontribusi terhadap proliferasi sel ginjal, dan aktivasi EGFR adalah salah satu pemicu utama proliferasi sel tubular (Harskamp LR, 2016). Ada bukti luas bahwa stimulasi EGFR, mis. melalui pengikatan EGF atau ligan yang diinduksi stres lainnya seperti pengikatan angiotensin II, meningkatkan proliferasi dan resistensi apoptosis dalam sel tubular ginjal. Studi *in vitro* yang dilakukan oleh Okada et al menunjukkan bahwa baik *transforming growth factor* (TGF)- β 1 dan EGF secara sinergis mendorong *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) dalam kultur sel tubular (Rauen T et al., 2011). *Epithelial-mesenchymal transition* telah diterima secara luas sebagai mekanisme di mana sel tubular ginjal yang terluka berubah menjadi sel mesenkimal yang berkontribusi pada perkembangan fibrosis pada gagal ginjal kronik. Namun, menurut Kriz, W et al. bahwa bukti nyata mendukung EMT sebagai proses *in vivo* pada fibrosis ginjal masih kurang. Aktivasi EGFR dikaitkan dengan stimulasi *hypoxia-inducible factor* (HIF-1 α) dan ekspresi NGAL yang menghasilkan peningkatan proliferasi sel, sitogenesis, kerusakan ginjal, dan sekresi PGC (Rysz, Jet al., 2017).



PGK, ginjal mengalami hipoksia yang disebabkan oleh berbagai faktor yang masuk kebutuhan oksigen berkelanjutan pada nefron yang tersisa

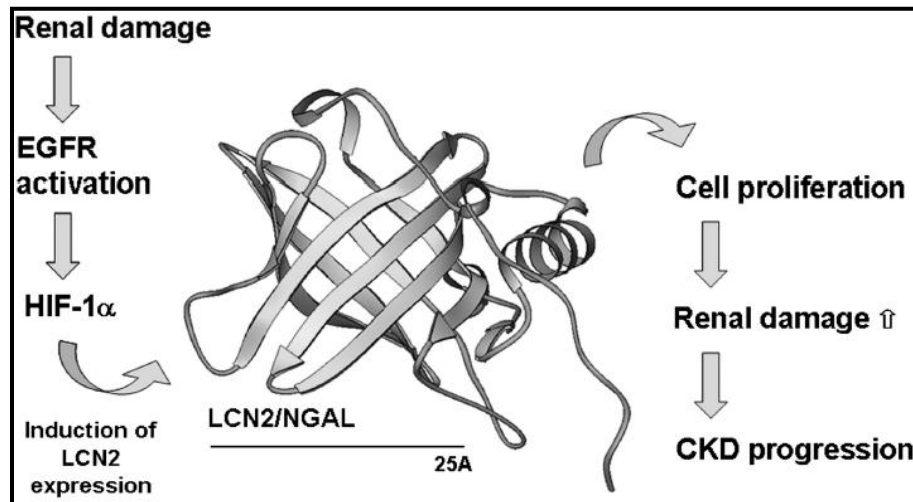
akibatumpatan balik maladaptive tubuloglomerular. *Hypoxia-inducible factor* (HIF) adalah faktor transkripsi utama yang mengatur respons adaptif terhadap hipoksia. Ada dua isoform aktif HIF, yaitu HIF-1 dan HIF-2. Di ginjal, HIF-1 diekspresikan dalam sel tubular, sedangkan HIF-2 pada dasarnya diekspresikan dalam sel endotel dan interstitial, serta dalam beberapa sel glomerular. Peningkatan regulasi HIF terjadi sebagai respons terhadap berkurangnya kapasitas pengangkutan oksigen darah yang memperfusi ginjal sampai taraf tertentu, juga selama iskemia ginjal, khususnya di daerah-daerah di mana oksigenasi sangat terganggu (Nangaku, M 2013).

Studi oleh Viau et al. mengkonfirmasi peningkatan regulasi NGAL setelah reduksi nefron eksperimental menggunakan pendekatan genomik. Mereka juga menunjukkan bahwa NGAL tidak hanya biomarker tetapi juga mekanisme efektor utama kerusakan ginjal. Secara khusus, mereka menguraikan kecenderungan fungsional NGAL sebagai mediator hilir aktivasi reseptor EGFR dan pensinyalan HIF-1 α (Gambar 7) dan dengan demikian jalur molekul yang mendasari yang mengarah pada peningkatan kadar NGAL (Viau, A., 2010).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin juga diidentifikasi sebagai mediator hilir setelah aktivasi EGFR. Lebih lanjut, aktivasi EGFR memediasi stabilisasi protein dari HIF-1 α , yang bertanggung jawab atas peningkatan ekspresi NGAL (Rauen T, et al., 2011). Hipoksia memainkan peran penting dalam patofisiologi *acute kidney injury* (AKI) dan mungkin juga PGK. *Hypoxia-inducible factor* (HIF) adalah faktor transkripsi utama yang mengatur respons adaptif melawan hipoksia (Nangaku, M et al., 2013).

Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1), yang dianggap sebagai regulator utama dari yang mengendalikan ekspresi ratusan gen, juga merangsang EMT (S., 2009).





Gambar. 7. Jaringan EGFR: HIF-1 α : LCN2 adalah jalur baru yang terlibat dalam perkembangan CKD. Aktivasi reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR) menstimulasi faktor hipoksia-inducible (HIF-1 α) dan ekspresi LCN2 selanjutnya yang menghasilkan peningkatan proliferasi sel, sitogenesis, kerusakan ginjal, dan perkembangan CKD. (Viau, A., 2010)

Plasma NGAL disaring oleh glomerulus dan hampir seluruhnya diserap kembali di tubulus proksimal (Filiopoulos et al., 2014). NGAL juga dilepaskan oleh sel tubular ginjal (Friedl et al., 1999). Ekskresi urin NGAL diduga ketika ada cedera tubulus ginjal proksimal yang menghindari reabsorpsi NGAL dan/atau meningkatkan sintesis *de novo* NGAL. Jadi, kerusakan sel tubular menyebabkan peningkatan produksi dan pelepasan NGAL dalam plasma dan urine (V. Abella et al., 2015)

Peran NGAL dalam PGK juga diselidiki dalam model hewan, menggunakan tikus NGAL KO. Dimana, pembatalan gen NGAL melindungi tikus dari proteinuria dan lesi tubular pada model glomerulonefritis yang diinduksi dengan antibodi membran basement anti-glomerulus, sedangkan penambahan NGAL rekombinan memperburuk penyakit ginjal dan menurunkan kelangsungan hidup. Studi ini juga menunjukkan bahwa NGAL adalah efektor efek proliferasi dari reseptor faktor pertumbuhan epidermal, yang diketahui memainkan peran penting dalam PGK (Buonafine et al. 2018)

Peran NGAL dalam penyakit ginjal tampaknya tergantung pada mekanisme patologis yang terkait: pada AKI, NGAL memainkan peran protektif, terutama melalui efek modulasi zat besinya, sedangkan efek proinflamasi dan proliferasinya menjadikannya aktor yang berbahaya dalam konteks kronik (Buonafine et al. 2018).

