

**PATOMEKANISME KERUSAKAN GINJAL PADA PENDERITA  
DIABETES MELLITUS TIPE 2**

Kajian Terhadap Biomarker HbA1c dengan Biomarker Urin (*Gamma  
Glutamyl Transferase, Albumin, Clusterin dan Kolagen Tipe IV*)

**PATHOMECHANISM OF RENAL DAMAGE IN TYPE 2 DIABETES  
MELLITUS PATIENTS**

Focus on HbA1c and Urinary Biomarker (*Gamma Glutamyl Transferase,  
Albumin, Clusterin and type IV Collagen*)

**YULIANA SAMBARA**

**P 1505211005**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**PATOMEKANISME KERUSAKAN GINJAL PADA PENDERITA  
DIABETES MELLITUS TIPE 2**

Kajian Terhadap Biomarker HbA1c dengan Biomarker Urin (Gamma GT, Albumin,  
Clusterin dan Kolagen Tipe IV)

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Biomedik Konsentrasi Kimia Klinik

Disusun dan diajukan oleh

**YULIANA SAMBARA**

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2013**

## **TESIS**

### **PATOMEKANISME KERUSAKAN GINJAL PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2**

Kajian Terhadap Biomarker HbA1c dengan Biomarker Urin (Gamma GT,  
Albumin, Clusterin dan Kolagen Tipe IV)

Disusun dan diajukan oleh

YULIANA SAMBARA

Nomor Pokok P 1505211005

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 11 Juli 2013

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat

---

dr. Mansyur Arief, Ph.D., SpPK (K)

Ketua

Ketua Program Studi Biomedik

---

Prof.dr. Rosdiana Natsir, Ph.D.

---

dr. Uleng Bahrun, Ph.D., SpPK

Anggota

Direktur Program Pascasarjana

---

Prof. Dr. Ir. Mursalim, M.Sc

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Yuliana Sambara

Nomor mahasiswa : P 1505211005

Program Studi : Biomedik Konsentrasi Kimia 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 kelak terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juli 2013

Yang menyatakan

YULIANA SAMBARA

## PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Baik atas kasih, penyertaan dan hikmat yang sudah dinyatakan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.

Dilhami dari pengamatan semakin meningkatnya prevalensi penderita diabetes mellitus (DM) dan meningkatnya morbiditas dan mortalitas penderita DM akibat komplikasi yang ditimbulkannya, maka penulis tergerak untuk mencoba mengamati patomekanisme terjadinya kerusakan ginjal sebagai salah satu komplikasi yang ditimbulkan pada penderita DM, dengan harapan menjadi sumber informasi untuk pemahaman patomekanisme kerusakan ginjal akibat DM dalam pencegahan komplikasi DM dan penanganan penderita DM. Tesis merupakan tahapan akhir dari seluruh rangkaian pembelajaran pada Program Studi Biomedik Konsentrasi Kimia Klinik di Universitas Hasanuddin, Makassar

Banyak kendala yang peneliti hadapi selama penyusunan tesis ini, namun berkat bantuan berbagai pihak akhirnya tesis ini dapat selesai pada waktunya. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Prof. dr. Mansyur Arief, Ph.D., SpPK (K) sebagai Ketua Komisi Penasihat, dan dr. Ulung Bahrin, Ph.D., SpPK sebagai Anggota Komisi Penasihat atas bimbingan, motivasi, dan masukannya mulai dari pengembangan ide, proses penelitian hingga selesainya penulisan tesis ini.

Terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Drs. Andi Wijaya, PhD, MBA, Dr.dr. Ilham Patellongi, M.Kes. dan Dr. Lies Gantini M.Si. atas saran-saran yang diberikan untuk kelengkapan tesis ini, kepada Dr. Mizwar Fattah, M.Si. dan Dr. Agus Sulaeman, M.Si., Apt. atas kesediaannya membantu penulis dalam mengajarkan dan membantu pengolahan data penelitian ini, kepada segenap tim di Laboratorium Riset Prodia Pusat, tim Prodia Cabang Makassar dan Panakukang, untuk Yuno, Reza dan Alam terima kasih atas bantuannya selama penelitian ini berlangsung.

Kepada seluruh jajaran pimpinan PT. Prodia Widyahusada yang telah memberikan kesempatan studi dan memfasilitasi penulis dari awal penelitian hingga selesainya tesis ini. Penulis juga berterima kasih kepada Ibu Indri Wulandari, S.E., M.M., selaku pimpinan Prodia Wilayah 8, “anak-anakku” (Lius, Anno, Anik dan Ririn), Ko Rudi dan tim, atas dukungan dan pengertian yang diberikan kepada penulis selama penelitian dan dalam penyelesaian tesis ini. Kepada teman-teman seangkatan: Ana, Lia, Nevi dan Rita terima kasih untuk kebersamaan yang dijalin dalam membangun semangat, dukungan, bantuan, dan pengertian. Tanpa teman-teman semua niscaya tesis ini mustahil dapat selesai pada waktunya.

Terima kasih secara khusus buat suami tercinta *Kak Marlo* dan anakku *Puput* yang tak henti-hentinya dengan penuh kasih sayang serta pengertian memberi dukungan dan motivasi kepada penulis, kepada

orang tua terkasih, adikku Opi dan semua saudara-saudariku, rekan-rekanku yang tak dapat ku sebutkan satu persatu, terima kasih atas doa-doa yang dipanjatkan untukku, semoga Tuhan Yesus akan senantiasa memberkati kalian semua.

Penulis menyadari dengan keterbatasan penulis dalam hal pengalaman, pengetahuan maupun kajian pustaka tentunya membuat tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan dan membutuhkan pengembangan lebih lanjut untuk dapat digunakan dengan maksimal.

Akhir kata, semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang terutama dalam bidang biomedik.

Makassar, Juli 2013

Yuliana Sambara

*Takut akan Tuhan adalah permulaan hikmat; Karena Tuhanlah yang memberikan hikmat, dari mulutNya datang pengetahuan dan kepandaian (Amsal 1:7a; 2 : 6)*

## ABSTRAK

YULIANA SAMBARA. *Patomekanisme Kerusakan Ginjal Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2; Kajian Terhadap Biomarker HbA1c dengan Biomarker Urin (Gamma GT, Albumin, Clusterin dan Kolagen Tipe IV)*. (Dibimbing oleh Mansyur Arief dan Uleung Bahrhun)

Nephropathy diabetik (ND) merupakan salah satu penyebab progresif penyakit gagal ginjal terminal. Kondisi hiperglikemia pada penderita DM dapat menyebabkan kerusakan ginjal melalui mekanisme inflamasi kronik (hsCRP) dan penumpukan protein matriks ekstraseluler (kolagen tipe IV urin). Albumin urin dapat digunakan untuk mendeteksi kerusakan pada glomerulus, GGT urin pada membran sel tubulus dan clusterin urin pada sel-sel tubulus proksimal.

Tujuan penelitian ini untuk mengkaji hubungan antara HbA1c dengan biomarker GGT urin, albumin urin, clusterin urin, hsCRP dan kolagen tipe IV urin pada penderita DM tipe 2 terhadap patomekanisme kerusakan ginjal. Penelitian ini menggunakan metode potong lintang dengan jumlah subjek seluruhnya adalah 82 orang terdiri dari 36 pria dan 46 wanita berusia antara 35-65 tahun, 42 orang DM tidak terkontrol, 20 orang DM terkontrol dan 20 orang non DM. Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0.05$ ) kadar HbA1c, rasio kolagen tipe IV /kreatinin urin, dan rasio albumin/kreatinin urin pada kelompok DM tidak terkontrol dibandingkan dengan kelompok DM terkontrol dan non DM, namun tidak ada perbedaan bermakna ( $p > 0.05$ ) antara DM terkontrol dan non DM. Ditemukan korelasi positif bermakna antara kadar HbA1c dengan hsCRP ( $r = 0.223^*$ ;  $p < 0.05$ ), HbA1c dengan rasio kolagen tipe IV/kreatinin urin ( $r = 0.563^{**}$ ;  $p < 0.001$ ), HbA1c dengan albumin urin ( $r = 0.263^*$ ;  $p < 0.05$ ) dan rasio kolagen tipe IV/kreatinin urin dengan rasio albumin/kreatinin urin ( $r = 0.613$ ;  $p < 0.001$ ). Korelasi tidak bermakna ( $p > 0.05$ ) ditunjukkan antara HbA1c dengan GGT urin dan clusterin urin, hsCRP dengan albumin urin, GGT urin dan clusterin urin, rasio kolagen tipe IV/kreatinin urin dengan GGT urin dan clusterin urin.

Penelitian ini membuktikan bahwa kerusakan ginjal pada DM berawal di glomerulus akibat kadar glukosa yang tidak terkontrol melalui mekanisme penumpukan matriks ekstraseluler, dan bahwa biomarker kolagen tipe IV urin merupakan marker menjanjikan di masa mendatang. Peningkatan kadar HbA1c dan kolagen tipe IV urin akan meningkatkan faktor risiko kerusakan glomerulus.



## ABSTRACT

YULIANA SAMBARA. *Pathomechanism of Renal Damage in Type 2 Diabetes Mellitus Patients; Focus on HbA1c and Urinary Biomarker (Gamma Glutamyl Transferase, Albumin, Clusterin and type IV Collagen)*. (supervised by Mansyur Arief and Uleng Bahrun).

Diabetic nephropathy (DN) is progressive of end stage renal disease (ESRD). Hyperglycemia condition in diabetic patients cause both of chronic inflammation and extracellular matrix accumulation, and then can lead progressive renal damage. Albumin, GGT and clusterin are marker to detect renal damage in glomerulus, cell membran of tubulus, and cells of tubulus proximal (respectively).

This study aimed was to evaluate the patomechanism of HbA1c and albumin, GGT, clusterin, type IV collagen, in urine, and hsCRP in diabetes mellitus (DM) patients. This cross sectional study with all number of subject 82, 36 males and 46 females aged 35-65 years divided 42 patients with uncontrolled DM, 20 patients with controlled DM and 20 normal subject used as controlled. The results showed uncontrolled DM group had significantly different ( $p < 0.05$ ) of HbA1c concentration, urinary type IV collagen/creatinin ratio, and urinary albumin/creatinin rasio compared with controlled DM group and non DM group, but there was no different ( $p > 0.05$ ) between controlled DM group and non DM group. There were positive significant correlation between HbA1c concentration with hsCRP concentration ( $r = 0.223^*$ ;  $p < 0.05$ ), HbA1c concentration with urinary type IV collagen/creatinin ratio ( $r = 0.563$ ;  $p < 0.001$ ), HbA1c concentration with urinary albumin/creatinin ratio ( $r = 0.263^*$ ;  $p < 0.05$ ), and urinary type IV collagen/creatinin ratio with urinary albumin/creatinin ratio ( $r = 0.613$ ;  $p < 0.001$ ). There was no correlation ( $p > 0.05$ ) between HbA1c with both urinary GGT and urinary clusterin, hsCRP concentration with all urinary biomarker used, and between urinary type IV collagen/creatinin ratio with both urinary GGT and urinary clusterin.

The results of the study indicate that main cause of renal damage in DM patients is uncontrolled blood glucose concentration, and accumulation of extracellular matrix is underlying the mechanism. Renal damage in DM patients will starting in the glomerulus area, and that urinary type IV collagen is promising marker to the future. Increased both HbA1c and urinary type IV collagen concentration will increasing the risk factor to glomerulus damage.

## DAFTAR ISI

PRAKATA.....	v
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	7
C. Tujuan Penelitian.....	8
D. Manfaat Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
A. Diabetes Mellitus dan Nefropati Diabetik.....	10
B. Hiperglikemia Sebagai Penyebab Kerusakan Jaringan.....	14
C. Inflamasi Pada Nefropati Diabetes.....	18
D. Mekanisme Kerusakan Ginjal pada Diabetes Nefropati.....	22
E. Albumin Urin.....	25
F. Gamma Glutamyl Transferase (GGT) Urin.....	28
G. Clusterin urin.....	30
H. Kolagen tipe IV Urin.....	32
I. KERANGKA TEORI.....	35
J. KERANGKA KONSEP.....	36

K. HIPOTESIS PENELITIAN.....	36
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	38
A. Rancangan Penelitian.....	38
B. Lokasi dan waktu penelitian.....	38
C. Populasi dan Teknik Sampel.....	38
D. Teknik Pengumpulan Data.....	40
E. Definisi Operasional.....	41
F. Persetujuan Etika Penelitian dan Tindakan Medik.....	44
G. Pengolahan dan Analisis Data.....	44
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	47
A. Hasil Penelitian.....	47
1. Gambaran Umum Subyek Penelitian.....	47
2. Hasil Uji korelasi Antara HbA1c dengan hsCRP Sebagai Penanda Inflamasi.....	52
3. Hasil Uji Korelasi Antara HbA1c dengan Kolagen Tipe IV Urin Sebagai Penanda ECM.....	54
4. Hasil Uji Korelasi antara kadar HbA1c dengan hsCRP, Rasio Kolagen tipe IV/kreatinin Urin dan albumin Urin.....	56
5. Hasil Uji Korelasi antara kadar HbA1c dengan hsCRP, Rasio Kolagen tipe IV/kreatinin Urin dan GGT Urin.....	61
6. Korelasi antara Kadar HbA1c dengan hsCRP, Rasio Kolagen tipe IV/kreatinin Urin dan Clusterin Urin.....	64
B. Pembahasan.....	69
1. Analisis Korelasi Antara HbA1c dengan hsCRP.....	70
2. Analisis Korelasi HbA1c dengan Kolagen Tipe IV Urin.....	72

3. Analisis Korelasi antara HbA1c, hsCRP, dan Kolagen Tipe IV Urin dengan Albumin Urin.....	76
4. Analisis Korelasi Antara HbA1c, hsCRP, dan Kolagen Tipe IV Urin dengan GGT Urin.....	84
5. Analisis Korelasi Antara HbA1c, hsCRP, dan Kolagen tipe IV Urin dengan Clusterin Urin.....	88
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN.....	91
A. Kesimpulan.....	91
B. Saran.....	92
DAFTAR PUSTAKA.....	93
Lampiran .....	99

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Lembar Informed Consent.....	99
2. Lembar Wawancara Pasien Penelitian.....	100
3. Rekomendasi Persetujuan Etik.....	102
4. Kualitas Mutu (QC) Pemeriksaan Clusterin Urin.....	103
5. Kualitas Mutu (QC) Pemeriksaan Kolagen Tipe IV Urin.....	104
6. Prosedur Kerja Pemeriksaan Clusterin Urin.....	105
7. Prosedur Kerja Pemeriksaan Kolagen Tipe IV Urin.....	108

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Karakteristik Umum Subyek Penelitian dan Normalitas Data.....	48
2. Uji Beda Antar Kelompok Populasi Subyek.....	49
3. Korelasi Antara Kadar HbA1c, hsCRP, dan Kolagen Tipe IV dengan Albumin Urin .....	57
4. Korelasi Antara Kadar HbA1c, hsCRP, dan Kolagen Tipe IV Urin dengan Gamma GT Urin.....	63
5. Korelasi Antara Kadar HbA1c , hsCRP, dan Kolagen Tipe IV dengan Clusterin Urin.....	65
6. Hasil Uji Korelasi Spearman Antar Parameter Uji Pada Populasi Total.....	67
7. Hasil Uji Korelasi Parameter Uji Pada Masing-masing Kelompok Subyek .....	68
8. Hasil Uji Crosstabs HbA1c dengan Rasio Kolagen tipe IV/Kreatinin Urin.....	74
9. Hasil Uji Crosstabs HbA1c dengan Rasio Albumin/Kreatinin Urin.....	78
10. Hasil Uji Crosstabs Rasio Kolagen tipe IV dengan Albumin Urin .....	79
11. Analisis Frekuensi Peningkatan Kolagen Tipe IV dan Albuminuria .....	80

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Gambaran Umum Kerusakan Jaringan Akibat Hiperglikemia	12
2. Interaksi antara jalur hemodinamik dan metabolik, sitokin dan signaling molekul intraseluler yang memediasi nefropati diabetik	14
3. Jalur-jalur yang terlibat pada perkembangan nefropati diabetik	16
4. Mekanisme keterlibatan inflamasi pada patofisiologi nefropati diabetik	19
5. Gambar skematik peran serta inflamasi pada patogenesis DM	20
6. Struktur abnormal penyebab albuminuria	27
7. Grafik hubungan linear antara HbA1c dengan hs CRP	53
8. Grafik nilai median hsCRP (mg/dL) pada kelompok subyek penelitian	54
9. Grafik hubungan linear antara HbA1c dengan rasio kolagen tipe IV/ kreatinin urin	55
10. Grafik nilai median rasio kolagen tipe IV/kreatinin urin pada kelompok subyek	56
11. Grafik hubungan linear antara HbA1c dengan albumin urin	58
12. Grafik hubungan linear antara hsCRP dengan albumin urin	59
13. Grafik hubungan linear antara kolagen IV urin vs albumin urin	60
14. Grafik nilai median rasio albumin/kreatinin urin (ug/mg) pada kelompok subyek penelitian	61
15. Grafik hubungan qubic antara HbA1c dengan GGT urin	62
16. Grafik nilai rata-rata GGT urin (U/L) pada kelompok subyek penelitian	64
17. Grafik hubungan cubic antara HbA1c dengan GGT urin	65
18. Grafik nilai median clusterin urin (ng/mL) pada kelompok subyek penelitian	66

## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang / singkatan	Arti dan Keterangan
ADA	American Diabetes Association
AGEs	advanced glycation end products
$\beta$ -NAG	$\beta$ -N-acetyl-glycosaminidase
CRP	c-reactive protein
DM	diabetes melitus
DN	diabetic nephropathy
ECM	extracellular matrix
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	enzyme linked-immunosorbent immunoassay
ESRD	end stage renal disease
FDA	food and drug association
GDP	gukosa darah puasa
GFR	glomerular filtration rate
GGT	gamma glutamyl transferase
GSH	glutathione
HbA1c	haemoglobin A1c
hs-CRP	high-sensitivity C- reactive protein
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1
IL	interleukin
INF- $\gamma$	Interferon gamma
IDF	international of diabetes federation
IFCC	international federation of clinical chemistry
IL	interleukin
IMT	indeks massa tubuh
JNC	joint national committee
LDH	lactat dehydrogenase
LFG	laju filtrasi glomerulus
LP	lingkar perut
MAP	mitogen activated protein
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
MIP-1 $\alpha$	macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$



ND	nefropati diabetik
NF- $\kappa$ B	nuclear factor kappa B
NO	nitric oxide
PERKENI	Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
PKC	protein kinase C
PP	post prandial
ROS	reactive oxygen species
SAA	serum amyloid A
SCr	serum creatinine
SGOT	serum glutamic oxaloacetic transaminase
SGPT	serum glutamic pyruvic transaminase
TDD	tekanan darah diastolik
TDS	tekanan darah sistolik
TFF3	trefoil factor-3
TGF $\beta$	transforming growth factor $\beta$
TSHs	thyroid-stimulating hormone
TNF- $\alpha$	tumor necrosis factor- $\alpha$
UAE	urinary albumin excretion
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VEGF	vascular endothelial growth factor
WHO	world health organization

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit yang dikarakterisasi oleh hiperglikemia dan disebabkan oleh defisiensi insulin atau resistensi insulin (Robertson, 2004). Menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2010, diabetes mellitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (PERKENI 2011).

Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insidensi dan prevalensi DM tipe 2 di berbagai penjuru dunia. *World Health Organization* (WHO) memprediksikan adanya peningkatan jumlah penyandang diabetes yang cukup besar pada tahun-tahun mendatang. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8.4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21.3 juta pada tahun 2030. *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2009 memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM dari 7.0 juta pada tahun 2009 menjadi 12.0 juta pada tahun 2030. Meskipun terdapat perbedaan angka prevalensi, namun

keduanya memprediksikan adanya peningkatan penyandang DM tipe 2 sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (PERKENI 2011).

Diabetes dapat menimbulkan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular akibat adanya paparan hiperglikemia kronik (Robertson, 2004; Ludirdja, et al, 2010). Di antara komplikasi mikrovaskular, penyakit ginjal diabetik adalah satu yang paling serius dengan pengaruh yang signifikan terhadap morbiditas, mortalitas dan kualitas hidup penderitanya. Sekitar 20-40% penyandang diabetes akan mengalami nefropati diabetik (PERKENI, 2011) dan menjadi penyebab utama terjadinya penyakit gagal ginjal stadium akhir (Rodriguez, 2012). Kematian karena penyakit ginjal 17 kali lebih sering pada penderita diabetik daripada non diabetik (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Diabetik nefropati (DN) adalah sindrom klinis pada pasien DM yang ditandai dengan albuminuria menetap ( $>300$  mg/24 jam atau  $>200$  mg/menit) pada minimal dua kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3 – 6 bulan, penurunan kecepatan filtrasi glomerulus yang tidak fleksibel dan peningkatan tekanan darah arterial tanpa adanya penyakit ginjal lain atau penyakit kardiovaskuler (Arsono, 2010)

Diagnosa DN umumnya didasarkan pada tipe diabetes dan apakah terdapat mikroalbuminuria ( $30 < \text{albumin} < 300$  mg/24 jam). Progresi ke arah DN terdiri dari beberapa tahapan yaitu perubahan fungsional nefron pada glomerulus meliputi hiperfiltrasi dan hiperfusi glomerulus, penebalan

membran basal glomerulus, hipertrofi glomerulus dan perluasan mesangial glomerulus sebelum terjadinya perubahan klinis yang dapat diukur (Dronavalli, et al, 2008).

Studi baru-baru ini difokuskan pada kemungkinan bahwa akumulasi albumin dan protein lain pada lumen sel-sel tubulus proximal akibat disfungsi permeabilitas glomerulus adalah penyebab langsung terjadinya *injury* sel tubulus. Pada pasien DN, fungsi ginjal dan prognosinya berkorelasi lebih baik dengan lesi struktural tubulus dan interstitium kortikal daripada perubahan klasik glomerulus (Townsend, 2007).

Studi klinis mendemonstrasikan bahwa glukosa darah yang tinggi adalah penyebab utama terjadinya inisiasi dan progresi komplikasi vaskular diabetik termasuk nefropati. Hiperglikemia menginduksi pembentukan ROS (*reactive oxygen species*), mengaktifasi kaskade sinyal transduksi dan faktor transkripsi yang diinduksi ROS, overekspresi gen dan protein pada mesangium glomerulus dan sel-sel epitel tubulus mengakibatkan akumulasi *extracellular matrix* (ECM) pada ginjal diabetik (Arya, dkk, 2010).

Sejumlah studi klinis dan studi pada hewan uji melibatkan mekanisme inflamasi sebagai faktor patogenik penting pada komplikasi mikrovaskular diabetik termasuk glomerulosklerosis, dan terdapat juga bukti tentang peran inflamasi dalam progresi *injury* tubulointerstitial pada nefropati diabetik. Peningkatan sirkulasi dan jumlah marker inflamasi

seperti *C-reaktif protein* (CRP), fibrinogen, *serum amyloid A protein* (SAA), dan interleukin-6 (IL-6) berkorelasi dengan albuminuria dan deposisi protein ECM pada penderita DM tipe 1 dan tipe 2 sama seperti pada peningkatan risiko progresi penyakit ginjal terminal (Qian, dkk, 2008).

Metode yang umumnya digunakan untuk menilai fungsi ginjal saat ini adalah berdasarkan pengukuran kreatinin serum dan *blood urea nitrogen* (BUN). Beberapa marker yang juga digunakan dalam uji preklinis dan uji klinis seperti glukosa urin, enzimuria atau elektrolit ternyata tidak sensitif karena banyak faktor endogen dan eksogen yang mempengaruhinya (Fuchs & Hewitt, 2011).

Peningkatan albumin urin pada DN terutama berasal dari glomerulus (Sahib, M.N, 2009), dan saat ini albumin urin digunakan sebagai baku emas untuk mendeteksi dan memprediksikan kejadian DN dan resiko kardiovaskular. Namun pemeriksaan albumin urin memiliki beberapa kelemahan yang perlu dipertimbangkan. Pertama, tidak semua pasien dengan proteinuria akan berkembang menjadi disfungsi ginjal. Terdapat 30% penderita diabetes dengan kerusakan ginjal adalah normoalbuminuria. Kedua, morbiditas kardiovaskular dan ginjal meningkat dengan nilai albumin urin berada pada rentang "normal tinggi". Ketiga, sejumlah variabel mempengaruhi lemahnya standarisasi pemeriksaan albuminuria yaitu metode pengumpulan urine, pelaporan hasil pemeriksaan, nilai rujukan untuk rasio albumin/kreatinin dan kekurangan

pengukuran kreatinin. Oleh karena itu banyak marker disfungsi ginjal baik marker untuk tubulus maupun glomerulus yang dapat ditemukan sebelum mikroalbuminuria terdeteksi. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan mikroalbuminuria terjadi pada saat kerusakan ginjal sudah cukup signifikan. Karena itu dibutuhkan marker dengan sensitifitas dan spesifisitas lebih tinggi untuk dapat mendeteksi dini penyakit ginjal diabetik dan lebih akurat dalam memprediksi progresi penyakit menjadi *End State Renal Disease* (ESRD) (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012)

Kerusakan awal tubulus ginjal ditandai dengan meningkatnya enzimuria tubulus proksimal ginjal di antaranya  *$\beta$ -N-acetyl-glycosaminidase* ( $\beta$ -NAG), *gamma glutamyl transferase* (GGT), *lactat dehydrogenase* (LDH) dan *alkaline phosphatase* (ALP). Peningkatan enzim urin dapat digunakan untuk mendeteksi nefrotoksisitas dan penyakit ginjal (Gatua, dkk, 2011). Adanya enzim spesifik dalam urin disebabkan karena adanya kerusakan seluler yang disebabkan oleh sel lisis, nekrosis atau hilangnya membran luminal akibat induksi obat (Fuchs & Hewitt, 2011)

Studi pada hewan uji dan genetika diabetes melaporkan bahwa perluasan ECM pada glomerulus yang melebihi area permukaan filtrasi glomerulus berhubungan dengan produksi berlebih kolagen tipe IV. Kolagen tipe IV adalah komponen utama membran basal glomerulus dan matriks mesangial. Sejumlah kecil kolagen tipe IV dieksresikan ke dalam

urin pada subyek sehat (Cohen dkk. 2001, Sthaneshwar dan Chan, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Sthaneshwar dan Chan pada tahun 2010 menemukan adanya korelasi signifikan antara eksresi kolagen tipe IV yang disertai mikroalbuminuria dengan eksresi kolagen urin pada penderita DM tipe 2 (Sthaneshwar dan Chan, 2010).

Pada tahun belakangan ini beberapa biomarker urin yang dideskripsikan mempunyai keterkaitan dengan kerusakan ginjal pada studi toksisitas rodentia, telah diterima oleh *Food and Drug Association* (FDA), *European Agency and Pharmaceuticals* dan *Medical Devices Agency* untuk dapat digunakan secara klinis. Biomarker urin yang telah diterima dan divalidasi adalah Kim-1, albumin, clusterin, *trefoil factor-3* (TFF3), total protein, cystatin C dan  $\beta$ 2- $\mu$ -globulin yang dideskripsikan dapat mendeteksi kerusakan ginjal akibat nefrotoksitas pada bagian yang berbeda. Peningkatan kadar enzim *gamma glutamyl transferase* (GGT), albumin dan clusterin dalam urin berhubungan dengan adanya cedera pada ginjal (Fuchs & Hewitt, 2011).

Penggunaan biomarker urin dalam mendeteksi kerusakan ginjal pada bagian tertentu dari nefron akibat kondisi hiperglikemia diharapkan dapat menjadi sumber informasi untuk mengetahui patomekanisme terjadinya kerusakan ginjal melalui proses inflamasi dan matriks ekstraseluler.

## **B. Perumusan Masalah**

Dari uraian yang sudah dikemukakan di atas, maka disusun perumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hubungan antara kadar HbA1c dengan biomarker gamma GT urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol?
2. Bagaimana hubungan antara kadar HbA1c dengan biomarker albumin urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol?
3. Bagaimana hubungan antara kadar HbA1c dengan biomarker clusterin urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol?
4. Bagaimana hubungan antara kadar HbA1c dengan biomarker kolagen tipe IV urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol?
5. Bagaimana hubungan antara kadar HbA1c dengan kadar hsCRP pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol?
6. Apakah ada pola hubungan antara kadar HbA1c dengan gamma GT urin, albumin urin, clusterin urin, kolagen tipe IV urin dan hs-CRP pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol?



## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji hubungan antara HbA1c dengan biomarker gamma GT urin, albumin urin, clusterin urin, hsCRP dan kolagen tipe IV urin pada penderita DM tipe 2 terhadap patomekanisme kerusakan ginjal

### **2. Tujuan Khusus**

1. Menilai hubungan HbA1c dengan gamma GT urin sebagai prediktor dini gangguan ginjal pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol
2. Menilai hubungan HbA1c dengan albumin urin sebagai prediktor dini gangguan ginjal pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol
3. Menilai hubungan HbA1c dengan clusterin urin sebagai prediktor dini gangguan ginjal pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol
4. Menilai hubungan HbA1c dengan kolagen tipe IV urin sebagai prediktor dini gangguan ginjal pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol

5. Menilai hubungan HbA1c dengan hs-CRP sebagai penanda inflamasi pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol
6. Menilai pola hubungan antara HbA1c, GGT urin, albumin, clusterin urin dan kolagen tipe IV urin sebagai prediktor gangguan ginjal dengan hsCRP sebagai penanda inflamasi pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol

#### **D. Manfaat Penelitian**

##### **1. Untuk Pengembangan Ilmu**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi mengenai patomekanisme kerusakan ginjal pada penderita DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol

##### **2. Untuk Pengembangan Medik**

1. Dapat memberikan tambahan informasi mengenai patomekanisme DM tipe 2 terhadap kerusakan ginjal, dengan menggunakan biomarker gamma GT urin, albumin urin, clusterin urin, hsCRP dan kolagen tipe IV urin sebagai prediktor terjadinya komplikasi mikrovaskuler pada penderita DM tipe 2
2. Dapat digunakan sebagai dasar untuk menentukan strategi pengelolaan pada penderita DM tipe 2 dalam rangka mencegah kejadian nefropati diabetika sehingga dapat menurunkan risiko terhadap mortalitas dan morbiditas penderita DM tipe 2

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Diabetes Mellitus dan Nefropati Diabetik

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit yang dikarakterisasi oleh hiperglikemia dan disebabkan oleh defisiensi insulin atau resistensi insulin (Robertson, 2004). Menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2010, DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (PERKENI 2011).

DM dapat diklasifikasikan berdasarkan etiologisnya yaitu DM tipe 1, tipe 2, tipe lain dan DM gestational. Populasi DM tipe 2 semakin meningkat dan dikhawatirkan menjadi ancaman utama kesehatan di abad 21, baik di negara maju maupun negara berkembang (Peppia & Vlassara, 2005). Jumlah penderita DM berumur di atas 20 tahun diperkirakan akan meningkat dari 285 juta pada tahun 2010 menjadi 439 juta pada tahun 2030 dan berisiko akan berkembang menjadi penyakit makrovaskuler maupun mikrovaskuler (Rodriguez et al, 2012, Peppia dan Vlassara, 2005)

Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insidensi dan prevalensi DM tipe 2 di

berbagai penjuru dunia. WHO memprediksikan adanya peningkatan jumlah penyandang diabetes yang cukup besar pada tahun-tahun mendatang. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8.4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21.3 juta pada tahun 2030. IDF pada tahun 2009 memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM dari 7.0 juta pada tahun 2009 menjadi 12.0 juta pada tahun 2030. Meskipun terdapat perbedaan angka prevalensi, namun keduanya memprediksikan adanya peningkatan penyandang DM tipe 2 sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (PERKENI 2011).

Diabetes dapat menimbulkan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. Di antara komplikasi mikrovaskular yang paling serius adalah penyakit ginjal diabetik dengan *impact* yang signifikan terhadap morbiditas, mortalitas dan kualitas hidup penderitanya. Sekitar 20-40% penyandang diabetes akan mengalami nefropati diabetik (PERKENI, 2011) dan merupakan penyebab gagal ginjal di negara-negara berkembang maupun negara maju. Kematian karena penyakit ginjal 17 kali lebih sering pada penderita diabetik daripada non diabetik (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Sudah terbukti bahwa hiperglikemia pada diabetes menimbulkan permasalahan. Derajat hiperglikemia cenderung meningkat dari waktu ke waktu seiring perjalanan penyakit. Proses perburukan ini adalah dampak interaksi kedua faktor etiologi DM tipe 2 yakni faktor genetik dan faktor

lingkungan (Manaf, 2009; Brownlee 2005). *Glucotoxicity hypothesis* menempatkan hiperglikemia sebagai titik sentral yang memegang peran kunci dalam timbulnya kerusakan jaringan. Lonjakan-lonjakan kadar glukosa darah pada tahap prediabetes (toleransi glukosa terganggu) yang terjadi pada saat setelah mengkonsumsi makanan, dan pada kondisi hiperglikemia kronis yang terjadi pada tahap diabetes menjadi penyebab kerusakan jaringan (Manaf, 2009). Skema kerusakan jaringan akibat hiperglikemia seperti terlihat pada gambar 1.

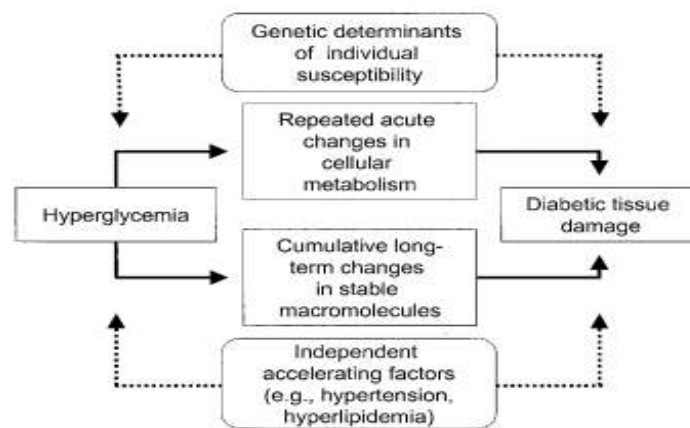


FIG. 1. General features of hyperglycemia-induced tissue damage.

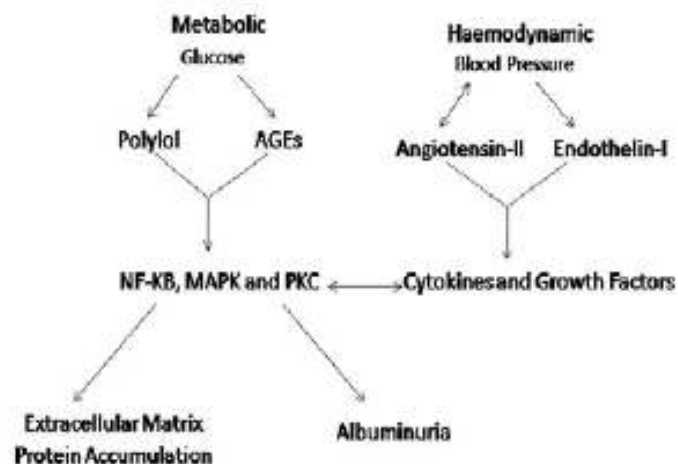
Gambar 1. Gambaran umum kerusakan jaringan akibat hiperglikemia (Sumber : Brownlee, 2005)

Nefropati diabetik (ND) adalah suatu penyakit menahun dari DM yang ditandai dengan adanya mikro atau makroproteinuria (mula-mula intermiten kemudian persisten), penurunan laju filtrasi glomerulus (LFG), peningkatan tekanan darah yang perjalanannya progresif menuju stadium akhir berupa gagal ginjal terminal (Arsono, 2005).

Nefropati diabetik terjadi akibat interaksi antara faktor hemodinamik dan metabolik. Faktor hemodinamik meliputi peningkatan tekanan sistemik dan intraglomerular seperti aktivasi jalur hormon vasoaktif, sistem renin angiotensin dan endotelin. Jalur hemodinamik ini akan mengaktivasi *second messengers* intraseluler seperti protein kinase C (PKC), *mitogen-activated protein* (MAP kinase), *nuclear transcription factors* (NF-KB) dan berbagai faktor pertumbuhan seperti sitokin *prosclerotic*, *tissue growth factor* (TGF- $\beta$ ) dan peningkatan permeabilitas faktor pertumbuhan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Jalur tergantung glukosa juga diaktivasi pada ginjal diabetik yang akan meningkatkan stress oksidatif, *renal polyol formation* dan akumulasi *advanced glycation end products* (AGEs). Kombinasi kedua jalur ini akan meningkatkan permeabilitas albumin ginjal dan akumulasi matriks ekstraseluler yang menyebabkan meningkatnya proteinuria, glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstitial (Jerums dkk, 1999; Arya dkk, 2010). Interaksi antara jalur hemodinamik dan metabolik dapat dilihat pada gambar 2.

Umumnya diagnosa nefropati diabetika didasarkan pada tipe diabetes dan apakah terdapat mikroalbuminuria ( $30 < \text{albumin} > 300$  mg/24 jam). Beberapa hal dapat digunakan sebagai prediktor timbulnya nefropati di masa mendatang, di antaranya adalah mikroalbuminuria, hiperfiltrasi glomerulus, hipertensi dan kadar glukosa darah yang tidak terkontrol (Arsono, 2005). Nefropati diabetika mempunyai beberapa tahapan perkembangan, terdiri dari perubahan fungsional nefron meliputi

hiperfiltrasi dan hiperfusi, penebalan membran basal glomerulus, hipertrofi glomerulus dan perluasan mesangial glomerulus sebelum terjadinya perubahan klinis yang dapat diukur (Dronavalli, dkk, 2008).



Gambar 2. Interaksi antara jalur hemodinamik dan metabolik, sitokin dan signaling molekul intraseluler yang memediasi nefropati diabetik (Arya, 2010)

Pada pasien nefropati diabetik, fungsi ginjal dan prognosinya berkorelasi lebih baik dengan lesi struktural pada tubulus dan interstitium kortikal daripada dengan perubahan klasik glomerulus (Townsend, 2007). Terdapat kecenderungan bahwa nefropati diabetik lebih banyak ditemukan pada laki-laki dengan perbandingan 1,7 (Arsono, 2005).

## B. Hiperglikemia Sebagai Penyebab Kerusakan Jaringan

Kondisi kelebihan glukosa yang bersifat kronik dapat menyebabkan efek toksik pada struktur dan fungsi organ. Banyak penjelasan mengenai jalur biokimia dan mekanisme toksisitas glukosa yang meliputi

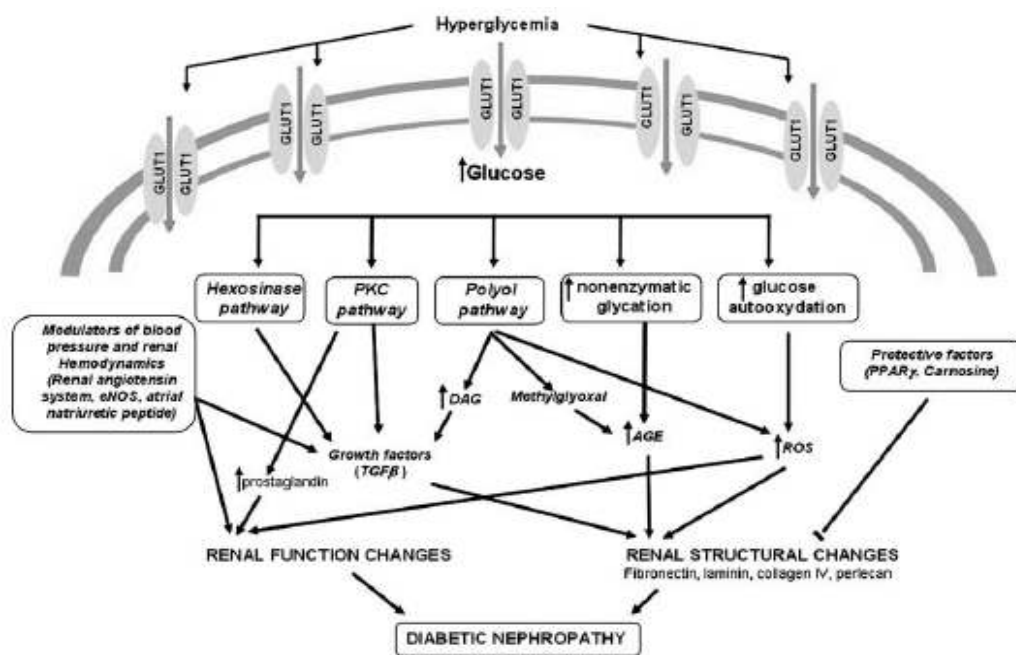
autooksidasi glukosa, aktivasi protein kinase C (PKC), pembentukan *methylglyoaksal* dan glikasi, metabolisme heksosamin, pembentukan sorbitol dan fosforilasi oksidatif. Semua jalur ini umumnya membentuk *reactive oxygen species* (ROS) dalam jumlah berlebih, dan dalam waktu yang lama menyebabkan terjadinya stress oksidatif kronik sehingga mengganggu ekspresi gen dan sekresi insulin serta meningkatkan apoptosis. Akumulasi ROS dalam jumlah berlebih dan dalam waktu yang lama akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif dan menimbulkan efek yang merugikan (Robertson, 2004)

Peningkatan stres oksidatif pada penderita DM cenderung menyebabkan terjadinya stress oksidatif dimana peningkatan stress oksidatif ini berkaitan dengan adanya kondisi hiperglikemia. Hiperglikemia akan menyebabkan terjadinya autooksidasi glukosa hingga terbentuk radikal bebas, glikosilasi auto-oksidatif, dan meningkatnya jalur poliol yang akan menurunkan antioksidan (Wiyono, 2003).

Hiperglikemia mengaktivasi pembentukan superoksid yang berlebih di mitokondria yang kemudian memberi dampak buruk pada endotel dan beberapa tipe sel lainnya melalui jalur *molecular signaling* (Manaf, 2009). Hiperglikemia menyebabkan kerusakan jaringan melalui 5 mekanisme utama yaitu : 1). Peningkatan flux glukosa dan jenis gula lainnya melalui jalur polyol, 2). Peningkatan pembentukan AGEs (*advanced glycation end products*), 3). Meningkatnya ekspresi reseptor AGEs dan aktivasi ligan AGEs, 4). Aktivasi protein kinase C, 5). *Overactivity hexosamine pathway*.



Kelima jalur ini diaktivasi oleh produksi berlebih dari *reactive oxygen species* (ROS) di mitokondria yang selanjutnya dikenal dengan istilah *single unifying mechanism* (Giacco dan Brownlee, 2010, Manaf, 2009). Jalur-jalur yang terlibat pada mekanisme kerusakan jaringan akibat hiperglikemia ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Jalur-jalur yang terlibat pada perkembangan Nefropati Diabetik. AGE: *advanced glycation endproducts*, DAG: *diacyl glycerol*, SLC2A1: *glucose transporter 1*, PPAR $\gamma$ : *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, ROS: *reactive oxygen species* dan TGF $\beta$ : *transforming growth factor beta* (Granier, et al, 2008)

Paparan hiperglikemia kronik pada DM akan menyebabkan terjadinya komplikasi penyakit baik mikro maupun makrovaskuler, di antaranya adalah penyakit diabetik nefropati yang dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas penderita DM akibat gagal ginjal yang

merupakan penyebab utama terjadinya *end stage renal disease* (ESRD) (Robertson, 2007; Ludirdja, et al, 2010; Rodriguez, 2012)

Penumpukan berlebih matriks ekstraseluler (ECM) pada ginjal mengakibatkan terjadinya perluasan sel-sel mesangial glomerulus dan fibrosis tubulointerstitial. Studi klinis mendemonstrasikan bahwa glukosa darah yang tinggi adalah penyebab utama inisiasi dan progresi komplikasi vaskular diabetik termasuk nefropati. Hiperglikemia menginduksi pembentukan ROS yang selanjutnya akan mengaktifasi kaskade sinyal transduksi dan faktor transkripsi mengakibatkan overekspresi gen dan protein dalam mesangial glomerulus dan sel-sel epitel tubulus yang menghasilkan adanya akumulasi ECM pada ginjal diabetik (Arya, dkk, 2010).

Toksisitas glukosa adalah penyebab utama dari *injury* glomerulus pada pasien nefropati diabetik. Peningkatan kadar glukosa yang berkepanjangan akan menghasilkan pembentukan *glycation end products* yang mengganggu *turnover* kolagen dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, akumulasi matriks dan pembentukan molekul-molekul adesi (Townsend, 2007).

Studi baru-baru ini yang difokuskan pada kemungkinan bahwa akumulasi albumin dan protein lain pada lumen sel-sel tubulus proksimal sebagai konsekuensi disfungsi permeabilitas glomerulus adalah penyebab langsung terjadinya *injury* sel tubulus (Townsend, 2007).

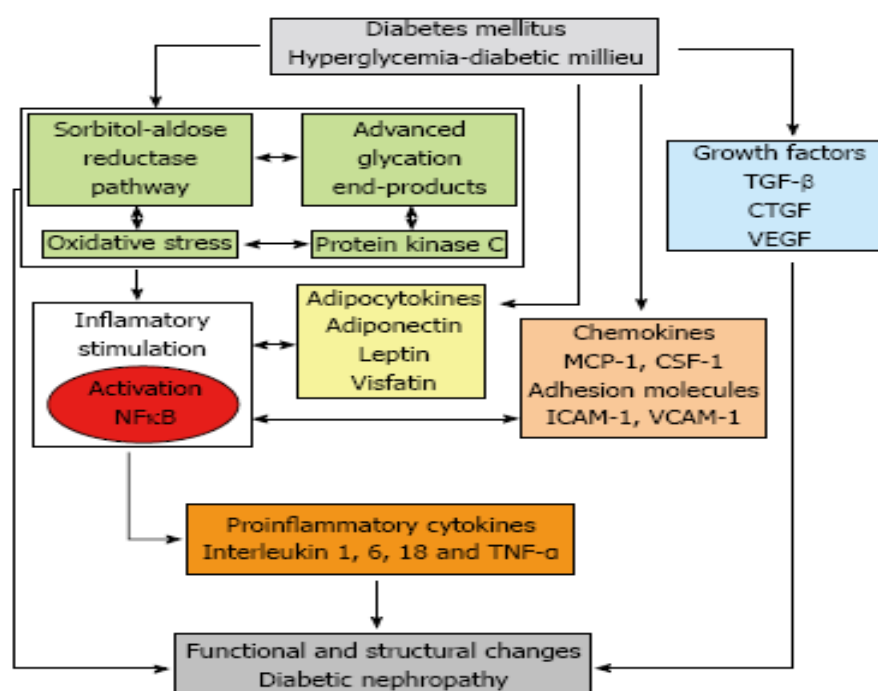
### C. Inflamasi Pada Nefropati Diabetes

Penyakit ginjal kronis sering disertai dengan proses inflamasi jaringan ginjal yang disebabkan oleh proses imunologi maupun nonimunologis. Pada awalnya terjadi inflamasi glomerulus yang diikuti oleh *injury* pada sel epitel tubulus dan rekrutmen sel-sel inflamasi. Selanjutnya terjadi pembentukan jaringan sklerotik dan fibrosis, yang pada akhirnya akan menyebabkan gagal ginjal terminal (Pudjianti, 2011)

Pada penderita DM tipe 2, makrofag dan leukosit terakumulasi pada glomerulus dan interstitial, sekalipun masih dalam tahap awal penyakit. Kondisi diabetik seperti tingginya kadar glukosa dan *advanced glycation end products* (AGEs) juga berpeluang sebagai stimulator produksi kemokin yang meliputi Interleukin-8 (IL-8), *monocyte-chemoattractant protein-1* (MCP-1), *interferon gamma* (INF- $\gamma$ ), *macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$*  (MIP-1 $\alpha$ ) dan *ranter* (IL-5). Elaborasi kemokin-kemokin ini selanjutnya akan menambah migrasi leukosit ke dalam ginjal dan meningkatkan siklus inflamasi (Lim dan Tesch, 2012)

Sejumlah studi klinis dan studi pada hewan uji melibatkan mekanisme inflamasi sebagai faktor patogenik penting pada komplikasi mikrovaskular diabetik termasuk glomerulosklerosis, namun data menunjukkan peran inflamasi pada progresi *injury tubulointerstitial* pada nefropati diabetik. Sirkulasi marker inflamasi meningkat pada pasien DM

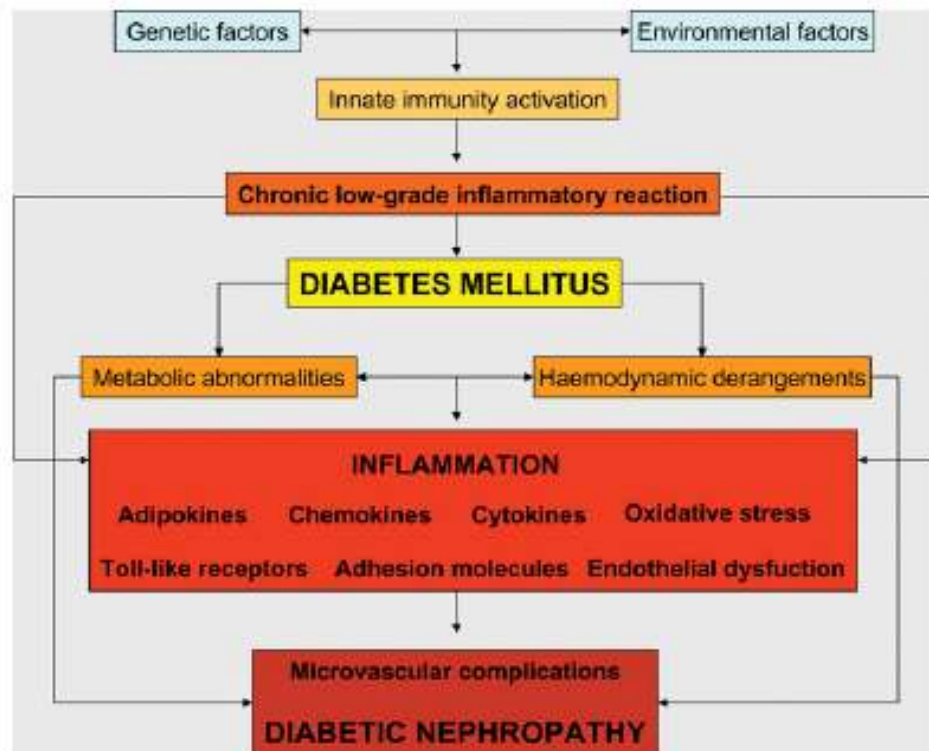
tipe 1 dan tipe 2, dan jumlah marker inflamasi meliputi CRP, fibrinogen, serum amyloid A protein, dan interleukin-6 berkorelasi dengan albuminuria dan deposisi protein ECM seperti pada peningkatan resiko progresi penyakit ginjal terminal (Qian, dkk, 2008). Mekanisme keterlibatan inflamasi pada nefropati diabetik dapat dilihat pada gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Mekanisme keterlibatan inflamasi pada patofisiologi nefropati diabetik (Rodríguez et al, 2012)

Nefropati diabetik dihasilkan oleh perubahan metabolik lokal, enzimatik dan mikrovaskular yang diinduksi oleh hiperglikemia. Sitokin proinflamasi dihasilkan secara lokal oleh sel-sel lokal dan sel yang menginfiltrasi. Sejumlah studi eksperimental dan klinis mendemonstrasikan bahwa nefropati diabetik memperlihatkan tanda-tanda inflamasi. Dalla Vestra dkk, menemukan bahwa kadar marker

inflamasi meliputi *C-reactive protein* (CRP), serum amyloid A (SAA), fibrinogen dan IL-6 paling tinggi didapatkan pada pasien DM tipe 2 dengan nefropati, selanjutnya pada pasien dengan peningkatan ketebalan membran basal glomerulus. Chow dkk, yang menggunakan hewan uji DM tipe 2 dengan ND, memperlihatkan adanya peningkatan ekspresi *intracellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) yang mempromosikan inflamasi melalui peningkatan infiltrasi dan perlekatan leukosit pada glomerulus dan tubulus ditandai dengan meningkatnya infiltrasi makrofag. Penemuan ini menunjukkan keterlibatan kuat ICAM-1 yang diinduksi inflamasi pada perkembangan kerusakan ginjal diabetes (Navarro dan Mora, 2004).



Gambar 5. Gambaran skematik peran serta inflamasi pada patogenesis DM (Rivero et al, 2009)

Pada percobaan dengan hewan uji, ditemukan bahwa akumulasi dan aktivasi makrofag berhubungan dengan hiperglikemia yang memanjang, deposisi kompleks imun di glomerulus, meningkatnya produksi kemokin dan progresi fibrosis. Pada DM tipe 2, akumulasi makrofag pada ginjal berhubungan dengan derajat sklerosis glomerulus. Pada jenis studi yang lain didapatkan bahwa akumulasi makrofag interstitial berkaitan erat dengan kreatinin serum, proteinuria, dan fibrosis interstitial pada saat dibiopsi dan berbanding terbalik dengan penurunan fungsi ginjal setelah dipantau selama 5 tahun (Lim dan Tesch, 2012)

Hipotesis yang diajukan oleh Sahib bahwa akumulasi protein dalam sitoplasma sel-sel tubulus proksimal memicu respon inflamasi, dengan demikian menghasilkan lesi tubulointerstitial (Sahib, dkk, 2009). Pada kenyataannya aktivasi sistem imun *innate* dan inflamasi kronik derajat rendah terlibat pada patogenesis DM tipe 2. Inflamasi kronik derajat rendah dalam jangka waktu yang lama berperan penting pada onset beberapa gangguan yang menyebabkan terjadinya ND, meliputi resistensi insulin, hiperglikemia, stress oksidatif dan disfungsi endotel dengan efek sekunder (meningkatnya eksresi albuminuria) berperan penting dalam kerusakan ginjal dan progresinya (Rivero, dkk, 2009)

Pada penderita DM tipe 2, marker inflamasi CRP ditemukan lebih tinggi pada subjek mikroalbuminuria dibandingkan dengan subjek normoalbuminuria. Peningkatan protein fasa akut dan sitokin inflamasi

bisa sebagai penyebab langsung terjadinya perubahan fungsi glomerulus oleh karena itu terlibat dalam perkembangan mikroalbuminuria. Terdapat kemungkinan hubungan antara sitokin inflamasi dengan fungsi glomerulus (Festa dkk, 2000).

#### **D. Mekanisme Kerusakan Ginjal pada Diabetes Nefropati**

Nefropati diabetik mempengaruhi semua elemen seluler ginjal yang meliputi endotel glomerulus, sel-sel mesangial, podosit, dan epitel tubulus. Nefropati diabetik dikarakterisasi oleh akumulasi berlebih ECM dengan penebalan membran basal glomerulus dan tubulus, meningkatnya jumlah matriks mesangial yang pada akhirnya berkembang menjadi fibrosis glomerulosklerosis dan tubulointerstitial (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Pembesaran mesangium yang disertai dengan menurunnya area permukaan filtrasi kapiler menentukan laju filtrasi glomerulus, dan juga menyebabkan terjadinya perubahan pada sel-sel tubulointerstitial yang meliputi penebalan membran seluler tubulus, atropi tubulus, fibrosis interstitial dan arteriosklerosis. Perluasan interstitial akan disertai dengan meningkatnya filtrasi glomerulus, albuminuria dan perluasan mesangial. Abnormalitas mikroskopik lainnya meliputi penebalan membran sel glomerulus, akumulasi material matriks mesangial dan peningkatan jumlah sel-sel mesangium. Sebagai progresi penyakit terdapat hubungan terbalik

antara derajat pembesaran mesangial dan filtrasi glomerulus (Sahib, dkk, 2009).

Sel tubulus merupakan target langsung selama terjadinya peningkatan kadar glukosa pada penderita diabetes. *Up take* glukosa oleh sel tubulus yang tidak tergantung insulin menyebabkan adanya hubungan langsung antara konsentrasi glukosa plasma dengan kadar glukosa intraseluler pada sel – sel tubulus. Selain itu, kelebihan glukosa dalam filtrat glomerulus akan meningkatkan reabsorpsi glukosa pada tubulus proksimal, dan selanjutnya menambah efek hiperglikemia pada *efflux* glukosa intraseluler dalam tubulus proksimal (Morcos dkk, 2002).

Jalur metabolisme tergantung glukosa dan hormon vasoaktif secara langsung mempengaruhi sel-sel tubulus dan interstitial menyebabkan disfungsi ginjal karena mekanisme non glomerulus. Tingginya kadar glukosa intraseluler meningkatkan pembentukan *advanced glycation end products (AGEs)*. Pada tubulus ginjal terutama pada bagian segmen proksimal merupakan bagian yang terpapar oleh *effluent* glomerulus yang mengandung AGEs dalam jumlah besar terutama pada penderita diabetes. Tubulus proksimal adalah bagian dimana reabsorpsi dan katabolisme sirkulasi AGEs ditemukan pada penderita diabetes. Oleh karena itu, pembentukan AGEs menjadi mekanisme sentral pada perkembangan disfungsi tubulus pada nefropati diabetik (Morcos dkk, 2002)



Perubahan pada tubulus ginjal adalah penting pada perkembangan progresif penyakit ginjal diabetik. Hipertropi tubulus, menurunnya transport ion organik dan perubahan tubulus lainnya biasanya berkembang sebelum onset proteinuria diabetik. Lebih lanjut, peningkatan arus balik tubuloglomerulus dan tidak sempurnanya *up take* independen berkontribusi pada hiperfiltrasi dan hilangnya protein urin. Pada pasien nefropati diabetik, fungsi ginjal dan prognosisnya berkorelasi lebih baik dengan lesi struktural pada tubulus dan interstitium kortikal daripada perubahan klasik glomerulus (Townsend, 2007).

Fakta menunjukkan bahwa *injury* tubulus adalah gambaran utama terhadap perkembangan disfungsi ginjal pada penderita DM tipe 2, dimana *injury* tubulus tidak hanya merupakan akibat sekunder dari *injury* glomerulus tetapi juga target primer pada patologi diabetes. Studi histologi pada penyakit ginjal kronik memperkuat bahwa fungsi ginjal berkorelasi lebih baik dengan perubahan tubulus dan interstitial daripada perubahan glomerulus. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan tubulus ginjal dapat mendahului kejadian mikroalbuminuria sebelum adanya proteinuria glomerulus. (Fuchs & Hewitt, 2011).

Metode yang digunakan untuk menilai fungsi ginjal adalah berdasarkan pengukuran kreatinin serum dan blood urea nitrogen (BUN). Beberapa marker yang juga digunakan dalam uji preklinis dan klinis seperti glukosa urin, enzimuria atau elektrolit tidak sensitif karena

dipengaruhi oleh banyak faktor endogen dan eksogen (Fuchs & Hewitt, 2011).

Banyak biomarker serum dan urin yang sudah diteliti untuk menunjukkan mekanisme atau kerusakan ginjal pada struktur yang berbeda, dan marker tersebut diklasifikasikan apakah sebagai marker *injury* glomerulus, *injury* tubulus, stress oksidatif, inflamasi dan kerusakan endotel (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Marker-marker urin yang digunakan untuk kerusakan glomerulus mewakili peningkatan permeabilitas protein urin (albumin, transferin) atau meningkatnya eksresi protein matriks ekstraseluler (kolagen tipe IV, fibronektin) (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012)

### **E. Albumin Urin**

Albumin adalah protein berukuran 65 kDa dihasilkan di hati merupakan protein plasma paling banyak dalam tubuh (sekitar 50% dari protein serum darah). Fungsi utamanya adalah mengatur tekanan onkotik, sebagai buffer asam/basa, dan memediasi transportasi metabolit, hormon, vitamin dan obat. Dengan berat molekul pada ambang batas filtrasi glomerulus (sekitar 66-69 kDa) dan bermuatan negatif kuat, albumin tidak dapat difiltrasi di glomerulus, dan oleh karena itu keberadaannya dalam

urin adalah indikasi kuat adanya perubahan fungsional sistem filtrasi glomerulus. (Fuchs & Hewitt, 2011; Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012)

Eksresi albumin urin dapat dipengaruhi oleh kondisi dehidrasi, infeksi saluran urin, hematuria dan penyebab ekstrarenal lainnya. Peningkatan eksresi protein berat molekul rendah pada urin dapat mengindikasikan toksisitas tubulus proksimal, sedangkan meningkatnya eksresi protein berat molekul tinggi dengan penurunan kadarnya pada serum seperti albumin dan total protein menunjukkan toksisitas glomerulus (Bucay dan Viswanathan, 2012).

Pada subjek normal, sejumlah albumin di filter pada glomerulus, tetapi kemudian hampir semuanya dapat direabsorpsi oleh tubulus. Peningkatan eksresi albumin urin (UAE) dipertimbangkan sebagai marker yang baik untuk kerusakan glomerulus (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Peningkatan albumin urin pada nefropati diabetik terutama berasal dari glomerulus. Keberadaan albumin dalam urin harus melalui barrier filtrasi glomerulus. Peningkatan tekanan intraglomerulus, hilangnya muatan negatif glukosaminoglikan dalam membran basal seluler dan selanjutnya pembesaran ukuran pori membran basal akan menyebabkan albuminuria (Sahib, dkk, 2009)



Gambar 6. Struktur abnormal penyebab albuminuria (Sumber : Sahib dkk, 2009)

Diabetes nefropati dapat didiagnosa secara klinis ketika albumin dapat dideteksi pada urin. Suatu hipotesis mengatakan bahwa adanya akumulasi protein dalam sitoplasma sel-sel tubulus proksimal akan memicu terjadinya respon inflamasi yang dapat menyebabkan terjadinya lesi pada tubulointerstitial. Kadar mikroalbumin dan kreatinin klirens pada penderita diabetes dengan kontrol metabolik yang buruk ( $\text{HbA1c} > 8\%$ ) meningkat signifikan dibandingkan penderita diabetik dengan kontrol metabolik yang baik (C. Granier, *et al.*, 2007).

Mekanisme yang terlibat dalam eksresi albumin meliputi meningkatnya permeabilitas transglomerulus terhadap albumin, hilangnya pengenalan muatan, pembatasan ukuran dinding kapiler glomerulus serta kurangnya reabsorpsi oleh tubulus proksimal (Karakani, dkk, 2007).

Albuminuria saat ini merupakan baku emas untuk mendeteksi dan memprediksikan nefropati diabetik serta risiko kardiovaskular, meskipun mempunyai beberapa kekurangan. Karena itu dibutuhkan marker dengan

sensitifitas dan spesifisitas yang lebih tinggi untuk dapat mendeteksi dini penyakit ginjal diabetik dan lebih akurat dalam memprediksi progresi penyakit menjadi ESRD. (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012)

Didapatkannya albuminuria persisten pada kisaran 30-299 mg/24 jam (albuminuria mikro) merupakan tanda dini nefropati diabetik. Pasien yang disertai albuminuria mikro dan berubah menjadi albuminuria makro (>300 mg/24 jam), pada akhirnya sering berlanjut menjadi gagal ginjal kronik stadium akhir. Diagnosis nefropati diabetik 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 (PERKENI 2011).

#### **F. *Gamma Glutamyl Transferase (GGT) Urin***

GGT terlibat dalam pertahanan terhadap *reactive oxygen species* (ROS). Famili enzim GGT ini ada dalam beberapa sel dan jaringan yang berbeda pada mamalia, dimana kadar yang sangat tinggi didapatkan pada hati, ginjal, jantung, pankreas, saluran empedu, limpa dan otak. Marker ini umumnya digunakan sebagai marker serum untuk cedera hati (Fuchs & Hewitt, 2011).

GGT di ginjal terdapat pada membran luar (kontortus proximal) *microvilli brush border* dari epitel sel tubulus proximal. GGT berperan pada transfer separuh dari glutathione (GSH) ke peptida atau air untuk

menginduksi degradasi GSH yang kemudian membawa *cystein* masuk ke dalam sel. Ekspresi GGT dapat meningkat dengan adanya ekspos oksidan dalam mencegah terjadinya stres oksidatif dan toksin. GGT adalah bagian dari kompleks multienzim yang dapat digunakan sebagai marker diagnostik, dimana untuk diagnosis kerusakan ginjal dilakukan dengan mengukur kadar GGT dalam urin (Fuchs & Hewitt, 2011).

GGT dalam urin berasal dari *brush border* membran sel epitel lumen tubulus proksimal, merupakan indikator spesifik dan sensitif untuk kerusakan pada sel tubulus proksimal. Peningkatan GGT urin diamati pada pasien diabetes tanpa adanya tanda-tanda kelainan fungsi ginjal termasuk mikroalbuminuria. Eksresi enzim ini berhubungan dengan durasi glikemia, derajat kerusakan fungsi ginjal dan kadar HbA1c (Vlatkovic, dkk, 2007). GGT dapat dideteksi setelah terjadinya iskemik, induksi toksin atau terpapar nepritis. Dilaporkan juga bahwa tikus dengan defisiensi GGT mempunyai efek proteksi terhadap nefrotoksitosis (Fuchs & Hewitt, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Gatua, dkk pada tahun 2011 pada beberapa kelompok subjek yakni normal, diabetes non nefropati, diabetes nefropati dan gagal ginjal menemukan bahwa kadar GGT urin pada subjek dengan gagal ginjal kadar GGT urin 6 kali lebih tinggi dari subjek normal, 4 kali lebih tinggi dari subjek diabetes tanpa nefropati, dan 2 kali lebih tinggi dari subjek dengan diabetes nefropati (Gatua, et al, 2011).

### **G. Clusterin urin**

Clusterin adalah suatu *multi-faceted glycoprotein* yang diisolasi dari berbagai kondisi dan juga dikenal dengan berbagai beberapa nama yaitu *glycoprotein 80*, *apoJ*, *glycoprotein III*, *cytolysis inhibitor*. Clusterin diekspresikan dan disekresikan pada banyak jaringan dalam bentuk glikoprotein  $\alpha\beta$ -dimer di hampir semua jaringan epitel dan dapat ditemukan pada berbagai cairan tubuh yaitu plasma, urin, sperma dan air susu. Ekspresi tertinggi diamati pada proliferasi dan diferensiasi sel (Fuchs & Hewitt, 2011; Hidaka, dkk, 2002).

Clusterin adalah glikoprotein yang terlibat pada banyak proses fisiologi dan patofisiologi dan terdiri dari 2 jenis yakni *secretory exogenous* yang terdapat dalam cairan biologis, dan yang terdapat dalam sitoplasma dan nukleus. *Secretory* clusterin berasal dari preclusterin (BM 60 kDa) yang membelah menjadi 2 rantai protein *mature* (alpha dan beta). Bentuk ini bersifat antiapoptosis dan antiangiogenesis, sedangkan clusterin endogen berasal dari pembelahan alternatif preclusterin yang mana molekul akhirnya beraksi sebagai stimulator kuat apoptosis. *Secretory* clusterin beraksi sebagai suatu *cytoprotective extracellular chaperon* di mana ekspresi dan sintesisnya meningkat pada individu yang mengalami stres terutama pada tumor ganas. Clusterin ekstraseluler memiliki sejumlah peran antara lain produksi amyloid pada penyakit Alzheimer, *heat shock protein*, mengurangi degradasi komponen matriks ekstraseluler, dan juga clusterin terlibat dalam regulasi sistem imun, transpor lipid, maturasi sperma dan proteksi terhadap membran sel. (Solichova et al, 2007)

Clusterin terlibat dalam berbagai proses fisiologi yang meliputi reproduksi, transport lipid, pengaturan sistem komplemen, agregasi sel, proteksi sel dari akibat stres, dan pematangan sperma. Produksi clusterin juga akan meningkat pada tahap awal dari perkembangan normal organ dan setelah *injury* jaringan (Fuchs & Hewitt, 2011; Hidaka, dkk, 2002).

Clusterin pada ginjal ditemukan secara menyolok hanya pada tahap awal perkembangan nefron tetapi kemudian akan muncul lagi dengan adanya berbagai jenis *injury* baik akut maupun kronik (Hidaka, dkk, 2002). Clusterin diidentifikasi sebagai biomarker untuk cedera ginjal terutama pada sistem tubulus, karena clusterin akan di *up regulasi* pada jaringan ginjal segera setelah terpapar toksin, disekresi dan kemudian akan langsung masuk ke dalam urin (Fuchs & Hewitt, 2011).

Penelitian dengan hewan uji yang dilakukan oleh Hidaka dkk (2002), menemukan adanya peningkatan kadar clusterin setelah pemberian gentamycin dalam beberapa hari. Kadar tertinggi didapatkan pada hari ke 5 setelah pemberian toksin (Hidaka, dkk, 2002).

Penelitian yang dilakukan oleh Solichova dkk (2007) pada 82 orang dengan 49 subjek diabetes nefropati, 5 subjek dengan glomerulopati, 28 subjek dengan nefropati *pyelonefritis* menemukan bahwa clusterin urin berkorelasi positif dengan protein total urin, indeks protein total/kreatinin pada pasien suspek nefrodiabetik namun tidak berkorelasi dengan laju filtrasi glomerulus, umur subjek,  $\alpha$ -1 microglobulin, albumin dan rasio



albumin/kreatinin (Solichova, dkk. 2007). Clusterin juga pernah dilaporkan sebagai biomarker spesifik untuk kerusakan tubulus proximal (Dodiya et al, 2011)

#### H. Kolagen tipe IV Urin

Kolagen tipe IV adalah komponen utama pada membran basal glomerulus maupun tubulus dan juga pada matriks mesangium. Peningkatan kadar glukosa menstimulasi sintesis kolagen IV tetapi menurunkan proses penguraiannya dengan dihasilkannya produk AGEs yang mengakibatkan peningkatan deposisi kolagen tipe IV ini pada matriks mesangial glomerulus pada ginjal diabetik yang meluas dengan *glomerulosclerosis*. Eksresi kolagen tipe IV ini juga berhubungan dengan perluasan mesangial, tubulointerstitial dan *injury* glomerulus. Eksresi kolagen tipe IV dalam urin berhubungan juga dengan komponen lain dari membran basal glomerulus termasuk laminin. Kadar kolagen tipe IV dalam urin mewakili laju *turn over* matriks pada penyakit ginjal (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012; Grainer, dkk, 2007).

Konsentrasi kolagen tipe IV yang tinggi dalam urin ditemukan pada pasien diabetik dibandingkan kontrol (non diabetik), meskipun masih dalam fase normoalbuminuria. Hal ini menunjukkan bahwa eksresi kolagen tipe IV dalam urin dapat digunakan sebagai marker untuk prediksi ini nefropati diabetik (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh Watanabe memperlihatkan bahwa kolagen tipe IV ditemukan secara eksklusif dalam urin pasien diabetes dengan mikroalbuminuria namun tidak ditemukan pada penderita penyakit lain yang memungkinkan terjadinya albuminuria. Penemuan ini mengindikasikan bahwa kolagen tipe IV spesifik untuk ND. Peningkatan kolagen IV urin merupakan satu dari 5 kriteria untuk diagnosis dini ND yang direkomendasikan oleh *The Japanese Diabetic Nephropathy Committee* (Granier, dkk, 2007).

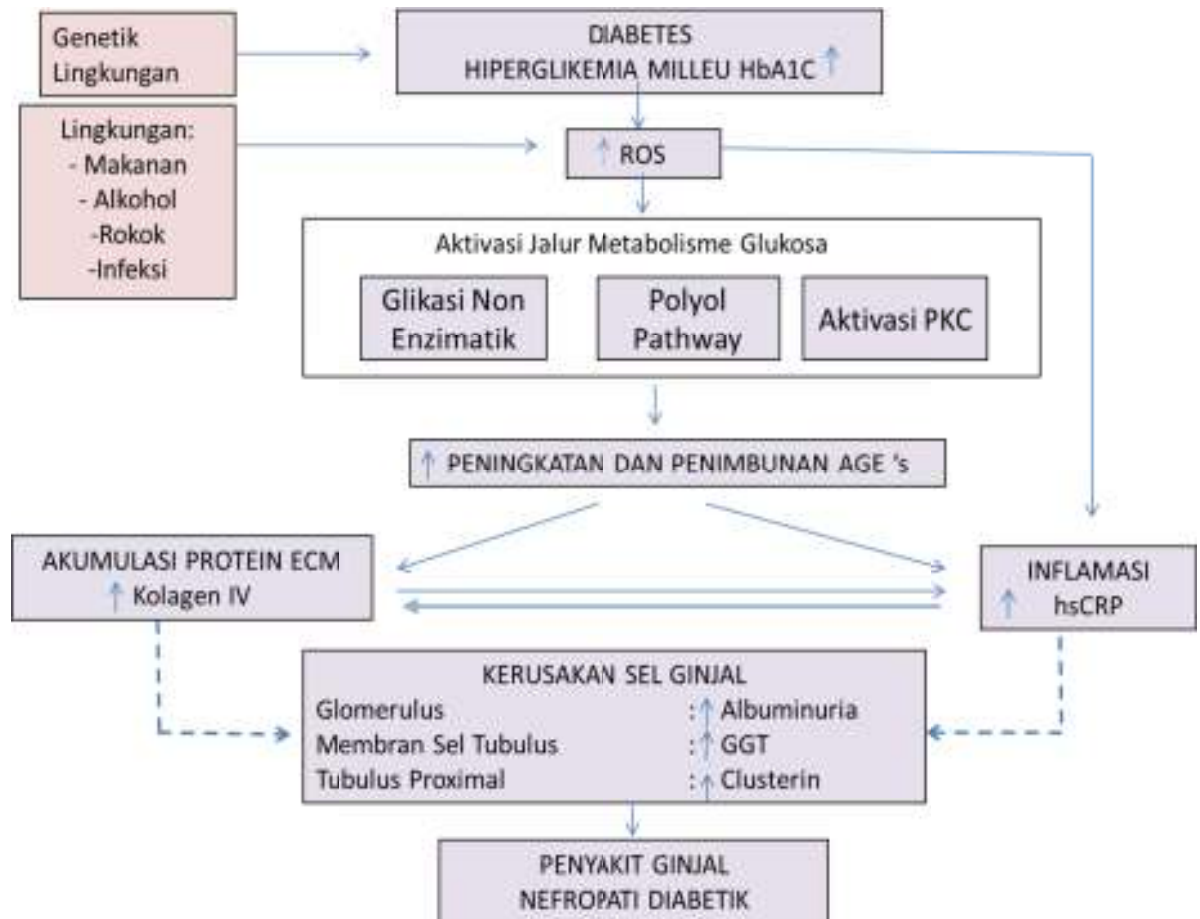
Eksresi kolagen IV dalam urin ditemukan meningkat pada penderita diabetes dan berkorelasi signifikan dengan fungsi filtrasi yang dinilai dengan rasio serum kreatinin pada pasien albuminuria dan serum kreatinin  $\leq 1.7$  mg/dL. Korelasi ini diperoleh tanpa memperhatikan kadar albumin apakah pada rentang  $\leq 100$  atau  $\geq 100$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  kreatinin. Hal ini menunjukkan bahwa eksresi kolagen tipe IV urin merupakan indikator yang lebih baik daripada eksresi albumin dalam mendeteksi penyakit diabetik ginjal pada fase fungsi filtrasi masih dalam tahap *compromised* (Cohen, dkk, 2001).

Banyak penelitian menunjukkan bahwa pada penderita DM tipe 2 eksresi kolagen tipe IV dalam urin berhubungan dengan *urinary albumin excretion* (UAE), namun hal ini tidak ditunjukkan oleh penderita glomerulonefritis kronis non diabetes. Meskipun eksresi kolagen urin tipe IV lebih tinggi pada penyakit ginjal kronik non diabetes dibandingkan

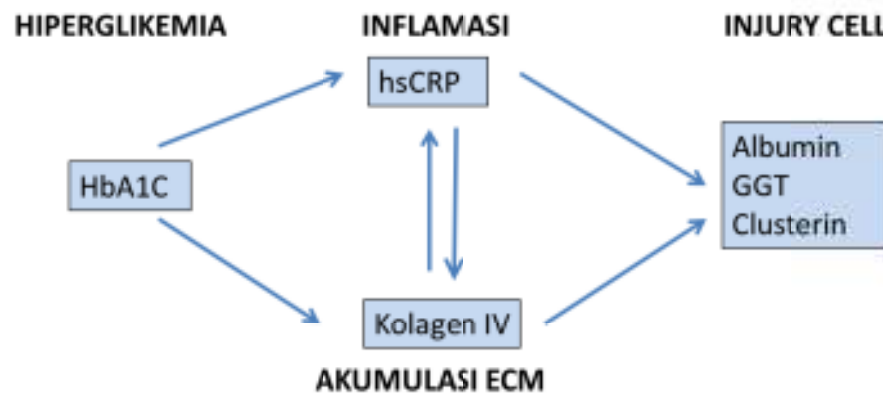
dengan subjek kontrol namun rasio kolagen tipe IV/albumin secara signifikan lebih tinggi pada penderita DM tipe 2 dibandingkan dengan pasien nefropati non diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa kolagen tipe IV dapat digunakan untuk membedakan nefropati non diabetik dan nefropati diabetik (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

Studi prospektif pada penderita DM tipe 2 menemukan bahwa kolagen tipe IV urin ditemukan lebih sensitif daripada albuminuria untuk mendeteksi gangguan ginjal. Seperti yang pernah dilaporkan bahwa sebanyak 33% penderita albuminuria tidak menunjukkan peningkatan kadar kolagen tipe IV urin. Studi yang dilakukan oleh Yagame dkk, menemukan kurva ROC (*the receiver operating characteristic*) yang hampir sama antara albumin urin dan kolagen tipe IV urin. Hal ini menunjukkan bahwa albumin urin dan kolagen tipe IV urin mempunyai kemampuan yang sama untuk mendeteksi dini nefropati diabetik (Cohen-Bucay dan Viswanathan, 2012).

## KERANGKA TEORI



## I. KERANGKA KONSEP



Variabel bebas : HbA1c

Variabel tergantung : GGT urin, Albumin urin dan clusterin urin

Variabel antara : hsCRP, Kolagen IV urin

Variabel kontrol : Hipertensi, merokok, alkohol, penyakit ginjal, infeksi akut, gangguan fungsi hati, anti Inflamasi, anti oksidan, kelainan jantung

## K. HIPOTESIS PENELITIAN

1. Kadar HbA1c berkorelasi positif terhadap gamma GT urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol maupun tidak terkontrol
2. Kadar HbA1c berkorelasi positif terhadap albumin urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol maupun tidak terkontrol

3. Kadar HbA1c berkorelasi positif terhadap clusterin urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol maupun tidak terkontrol
4. Kadar HbA1c berkorelasi positif terhadap kolagen tipe IV urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol maupun tidak terkontrol
5. Kadar HbA1c berkorelasi positif terhadap kadar hsCRP pada penderita DM tipe 2 terkontrol maupun tidak terkontrol
6. Ada hubungan antara kadar HbA1c, hsCRP dan kolagen tipe IV urin dengan gamma GT urin, albumin urin dan clusterin urin pada penderita DM tipe 2 terkontrol maupun tidak terkontrol