

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit Gagal Ginjal didefinisikan sebagai kelainan struktur atau terjadinya proses penurunan fungsi ginjal, yang berlangsung selama minimal 3 bulan, dengan dampak pada kesehatan (Rongshuang Huang, Ping Fu, Liang Ma, 2023). Penyakit ginjal kronis (PGK) adalah kondisi kerusakan ginjal yang berkembang secara perlahan yang ditandai dengan penurunan fungsi ginjal, kerusakan pada tubulus, stres oksidatif, dan inflamasi. (Allison, Berlin jacob, Ankita Srivastava, 2024).

Penyakit gagal ginjal ditandai dengan adanya kerusakan ginjal atau laju filtrasi glomerulus (eGFR) yang diperkirakan kurang dari 15 mL/menit/1,73 m², yang berlangsung selama 3 bulan atau lebih. Terlepas dari penyebabnya gagal ginjal, khususnya gagal ginjal kronik adalah kondisi hilangnya fungsi ginjal secara progresif, yang pada akhirnya mengakibatkan perlunya terapi penggantian ginjal, seperti dialisis atau transplantasi. Kerusakan ginjal mengacu pada kelainan patologis yang ditunjukkan oleh studi pencitraan atau biopsi ginjal, kelainan pada sedimen urin, atau peningkatan laju ekskresi albumin urin. Klasifikasi PGK berdasarkan penurunan kategori GFR (≥ 90 [G1], 60–89 [G2], 45–59 [G3a], 30–44 [G3b], 15–29 [G4], ≤ 15 [G5]ml/mnt/1,73m²). Stadium G5 selanjutnya disebut sebagai gagal ginjal. (KDIGO,2024).

Secara global, pada tahun 2017, analisis sistematis dari proyek GBD untuk semua usia menemukan 697,5 juta kasus gagal ginjal dari semua tahapan, dengan prevalensi global sebesar 9,1% (8,5%–9,8%). Pada tahun 2021, pernyataan bersama dari *American Society of Nephrology*, *European Renal Association*, dan *International Society of Nephrology* menunjukkan bahwa lebih dari 850 juta orang menderita beberapa bentuk penyakit ginjal, hampir dua kali lipat jumlah orang yang hidup dengan diabetes (422 juta) dan 20 kali lebih banyak daripada prevalensi kanker di seluruh dunia (42 juta) atau orang yang hidup dengan AIDS/HIV (36,7 juta). Estimasi ini berasal dari penggabungan studi di seluruh dunia, yang menerapkan berbagai definisi gagal ginjal ; meskipun demikian, estimasi ini memberikan panduan terbaik tentang prevalensi gagal ginjal secara global. (KDIGO, 2024).

Pada tahun 2017, gagal ginjal diperkirakan sebanyak 35,8 juta (95% UI: 33,7–38,0) orang dengan *disability-adjusted life-years* (DALYs), dan 1,2 juta orang meninggal dunia akibat gagal ginjal . Sebagian besar beratnya gagal ginjal terkonsentrasi di tiga kuintil terendah dari indeks sosiodemografis (IDS). Pada tahun 2019, gagal ginjal berdampak pada 41,5 juta (95% UI: 38,3– 45,0) orang dengan DALYs, dan 1,43 juta orang meninggal dunia akibat gagal ginjal. Tingkat DALY yang telah distandarisasi berdasarkan usia tertinggi di Amerika Latin Tengah dan Andes, yaitu 1348,1 (1203,6–1521,6) dan 836,3 (704,2–981,6) masing-masing per 100.000 (tingkat global adalah 514,9 [474,9–558,9]). Pada tahun 2017, gagal ginjal pada diabetes mewakili sepertiga dari semua DALYs, dan terdapat 1,4 juta (95% UI: 1,2–1,6)

kematian terkait CVD pada orang dengan gagal ginjal; 25,3 (22,2–28,9) juta orang dengan DALYs terkait CVD disebabkan oleh fungsi ginjal yang terganggu. Secara keseluruhan, gagal ginjal dan dampaknya pada CVD mengakibatkan 2,6 juta (95% UI: 2,4–2,8) kematian pada tahun 2017 dan gagal ginjal telah naik dari peringkat ke-19 menjadi ke-11 di antara penyebab kematian utama antara tahun 1990 dan 2019 karena penuaan dan meningkatnya beban faktor risiko gagal ginjal (termasuk diabetes dan hipertensi) yang, bersama-sama mengakibatkan lebih dari setengah kematian akibat gagal ginjal. Kematian terkait gagal ginjal telah meningkat di seluruh dunia, dan gagal ginjal diperkirakan akan menjadi penyebab kematian kelima paling umum secara global pada tahun 2040. Diagnosis terlambat dan alat terapi yang terbatas adalah dua faktor yang mempengaruhi prediksi buruk dimasa depan. (KDIGO, 2024).

Kondisi kerusakan ginjal yang berkembang secara perlahan yang ditandai dengan penurunan fungsi ginjal, kerusakan pada tubulus, stres oksidatif, dan inflamasi ini merupakan beban kesehatan global yang utama, yang tidak menunjukkan gejala pada tahap awal namun dapat menyebabkan gagal ginjal. Etiologinya kompleks dan melibatkan jalur sinyal yang tidak beraturan sehingga menyebabkan fibrotik. *Transforming growth factor (TGF)- β* adalah mediator utama dalam yang menjelaskan transdiferensiasi sel epitel tubulus ginjal yang terpolarisasi menjadi sel mesenkim, yang mengakibatkan kerusakan ginjal yang tidak dapat dipulihkan. Meskipun terapi saat ini terbatas, pencarian modalitas diagnostik dan pengobatan yang lebih efektif sedang intensif dilakukan. (Allison, Berlin jacob, Ankita Srivastava, 2024). Fibrosis ginjal

merupakan penyakit kronis progresif yang diakibatkan oleh deposisi berlebihan matriks ekstraseluler (ECM) dan kolagen, yang berkorelasi kuat dengan kerusakan struktur dan penurunan fungsi ginjal, dimana perkembangannya yang tidak dikontrol dapat mengarah pada kematian (Hanna et al., 2013; Y. Liu et al., 2021; Ruiz- Ortega et al., 2020). Penyebab utama fibrosis ginjal yaitu nefropati diabetik, nefropati hipertensi, glomerulonefritis kronis primer, glomerulonefritis interstisial kronis, dan penyakit tubulus kronis yang berujung pada perubahan dan disfungsi struktural ginjal (Ghanayem et al., 2014; S. Lv et al., 2014; Ruiz-Ortega et al., 2020). Secara umum, penyebab utama fibrosis ginjal adalah hipovolemia, iskemia, cedera toksik, dan sepsis, yang menyebabkan stres oksidatif, inflamasi, apoptosis, dan nekrosis *tubular epithelial cells* (TEC) (El Agha et al., 2017; H. H. Hu et al., 2018; Xing et al., 2020). Pada tingkat seluler, mekanisme penting yang berperan adalah transisi epitel-ke-mesenkimal (EMT) akibat aktivasi faktor transkripsi *nuclear factor kappa beta* (NF- κ B) yang mengakibatkan peningkatan ekspresi *Snail Family Transcriptional Repressor 1* (Snail1). Snail1 adalah regulator utama EMT, dimana Ketika EMT terbentuk menyebabkan TEC dan fibroblas bertransdiferensiasi menjadi myofibroblas yang mensekresikan protein *transforming growth factor- β* (TGF- β) dan *alpha-smooth actin* (α -SMA) serta mengarah pada peningkatan produksi matriks ekstraseluler (ECM) (kolagen IV, fibronectin), yang berujung pada fibrosis ginjal (Bellei et al., 2020; Fabregat & Caballero-Díaz, 2018; Hamra et al., 2021). Teknologi terapi fibrosis ginjal saat ini seperti modifikasi gaya hidup, pengelolaan penyakit penyerta, dialisis atau transplantasi ginjal masih mengeluarkan biaya yang mahal, memerlukan waktu yang

lama, menimbulkan infeksi immunosupresi dan hanya memperlambat penurunan fungsi ginjal saja (Aleksandrova et al., 2020; Y. Liu et al., 2021; S. Lv et al., 2014). Oleh karena itu, terapi baru yang dapat memperbaiki kondisi fibrosis sehingga dapat mencegah penurunan fungsi ginjal sangat diperlukan. Data epidemiologis melaporkan bahwa fibrosis ginjal telah menyebabkan kematian lebih dari 960.000 jiwa di seluruh dunia setiap tahun (Koyano et al., 2019). Kematian disebabkan oleh penurunan fungsi ginjal akibat inflamasi berkepanjangan yang ditandai dengan peningkatan kadar serum kreatinin dan blood urea nitrogen (BUN) (Ungur et al., 2022). Inflamasi yang berkepanjangan menyebabkan tidak terproduksinya sitokin anti inflamasi seperti interleukin-10 (IL-10) sehingga berujung pada proses fibrogenesis yang berkelanjutan (Dong et al., 2015; el Agha et al., 2017). IL-10 sebagai sitokin antiinflamasi juga bersifat antifibrotik karena mampu mengurangi atau menghilangkan produksi ECM (Shi et al., 2014). IL-10 mampu menghambat aktivasi TGF- β yang dapat menghentikan sintesis ECM. Selain itu IL-10 mampu menghambat produksi tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan interleukin-6 (IL-6) yang berujung pada terhambatnya pelepasan *matrix metalloproteinase family* (MMPs) untuk mendegradasi ECM yang telah terbentuk (Chan et al., 2020). Adanya IL-10 juga dapat menghambat pelepasan Snail1 dan α -SMA sehingga menghambat pembentukan kolagen dan mencegah fibrosis (Goodwin et al., 2014; Herrera et al., 2018). Terapi inovatif sel punca mesenkimal (MSCs), yang berpotensi sebagai immunomodulator, antiinflamasi dan regenerasi jaringan rusak, telah diteliti dan dikembangkan dalam pengobatan regeneratif berbagai jenis penyakit (El Agha et al., 2017; Kumar et al., 2021; Tsuji et al., 2018, 2020). MSCs adalah sel induk

multipoten non-hematopoietik, yang dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti sumsum tulang, hati, ginjal, jaringan adiposa, urin, darah tali pusat, jaringan puser *Wharton's jelly*, dan plasenta (Bhaskar et al., n.d.; El Agha et al., 2017; Schachtele et al., 2018a; Xu et al., 2019). Namun, hasil studi literatur sebelumnya menunjukkan bahwa mekanisme aksi MSCs dalam mengoordinasikan komunikasi seluler dan perbaikan jaringan adalah melalui sekresi berbagai biomolekul aktif yang disebut sekretom-MSCs (Katagiri et al., 2017; R. Kim et al., 2020; Rayego-Mateos et al., 2022; Shin et al., 2021; Zhou et al., 2020). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa faktor-faktor yang terkandung dalam extraselular vesicle-MSCs atau sekretome-MSCs dapat memperbaiki fungsi ginjal pada tikus hewan gagal ginjal akut maupun kronis (Birtwistle et al., 2021; X. M. Meng et al., 2016; Rayego-Mateos et al., 2022; Ruiz-Ortega et al., 2020; Udalamaththa et al., 2020). Penelitian terdahulu melaporkan bahwa IL-10 dengan cara menghambat infiltrasi makrofag melalui penekanan CCL-2 dan menghambat glomerulosklerosis melalui penekanan TGF- β pada ginjal tikus (Al-Shaibani et al., 2017; Fabregat & Caballero-Díaz, 2018; Ishiuchi et al., 2020a; T. Liu et al., 2015). Selain itu, gen HGF dan TNF-stimulated (TSG)-6 dari MSCs telah terbukti memperbaiki inflamasi pada tikus model gagal ginjal kronis melalui *down*-regulasi IL-6, IL-8, TNF- α , CCL-2, dan CCL-5, yang sebagian dimediasi oleh regulasi NF- κ B (Bhaskar et al., n.d.; Ishiuchi et al., 2020a; M et al., 2017). *Unilateral ureteral obstruction* (UUO) adalah model *in vivo* fibrosis ginjal dengan nefropati obstruktif kronis yang terdiri dari ligasi ureter kiri (Aranda-Rivera et al., 2021). UUO menyebabkan peningkatan tekanan hidrostatik yang disebabkan oleh stagnasi urin mengaktifkan sistem *renin- angiotensin* (RAS) melalui

produksi angiotensin II (Ang II)(Xianyuan et al., 2019). Ang II akan mengaktifkan nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidases (NOXs) untuk produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan inflamasi. dan pada akhirnya menghasilkan kematian sel melalui apoptosis atau nekrosis(Aranda-Rivera et al., 2021; Jiang et al., 2014; Makino et al., 2017). Selain jalur tersebut, bukti ilmiah lain juga menunjukkan bahwa aktivasi makrofag dapat menginduksi berbagai jalur pensinyalan yang meningkatkan fibrosis(Chen et al., 2018; Rayego- Mateos et al., 2022). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa pada hari ke-10 UUO, terjadi fibrosis pada ginjal akibat pelepasan TGF- β (Hassan et al., 2021).

Penelitian terkini melaporkan bahwa MSC yang dikultur pada kondisi hipoksik dapat meningkatkan pelepasan sitokin, termasuk IL-10. Hal ini akan meningkatkan kemampuan potensi sekretom MSC dalam penyembuhan fibrosis (Dong et al., 2015; Xia et al., 2018). Namun demikian, penelitian yang mengkaji peran sekretom MSCs yang telah dihipoksik dalam penurunan jumlah kolagen dan ekspresi α -SMA serta perbaikan fungsi ginjal melalui regulasi berbagai protein dan gen yang mempengaruhi pembentukan ECM dan kolagen seperti, SOD, Nrf2, TNF- α , IL- 10, TGF- β , belum pernah dilakukan.

B. Rumusan Masalah

Apakah peran SH-MSCs terhadap ekspresi SOD, NRF2, TNF- α , IL-10, TGF- β , α -SMA, SNAIL dan densitas kolagen pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi *subtotal nephrectomy*?

C. Pertanyaan Penelitian

1. Apakah pemberian SH-MSCs berpengaruh terhadap ekspresi gen SOD, NRF2, IL-10, α -SMA dan SNAIL pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol
2. Apakah pemberian SH-MSCs berpengaruh terhadap ekspresi protein TNF- α dan TGF- β pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol
3. Apakah pemberian SH-MSCs berpengaruh terhadap densitas kolagen pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol.

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap ekspresi SOD, Nrf2, TNF- α , IL-10, TGF- β , α -SMA dan SNAIL pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy.

2. Tujuan Khusus

- a. Menganalisis pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap ekspresi gen SOD, NRF2, IL-10, α -SMA dan SNAIL pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol
- b. Menganalisis pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap ekspresi protein TNF-

α dan TGF- β pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol.

- c. Menganalisis pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap densitas kolagen pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol.

E. Manfaat Penelitian

1. Pengembangan Ilmu

- a. Penelitian ini bermanfaat dalam rangka mendukung pembuatan secretom stem cell dengan teknik hipoxia dibanding dengan stem cell dengan teknik konvensional. Dengan demikian pengembangan secretom stem cell dengan sitokin yang lebih berkualitas lebih produktif lagi.
- b. Mendorong penggunaan SH-MSCs untuk beberapa penyakit degeneratif lainnya sehingga makin meningkatkan harapan hidup di negara kita
- c. Memberikan paradigma baru pada dunia kedokteran di negara kita yang berbasis pada kemampuan anak bangsa.

2. Manfaat Klinis

- a. Penelitian ini membuka peluang penanganan fibrosis ginjal yang lebih komprehensif dan menjanjikan sehingga kualitas pengobatan penyakit fibrosis ginjal lebih komprehensif.

- b. Memberikan harapan hidup penderita penyakit fibrosis ginjal serta mengurangi angka kematian akibat gagal ginjal dimana primer penyakitnya adalah fibrosis ginjal.
- c. Mengurangi biaya pengobatan penderita fibrosis ginjal dengan memanfaatkan teknologi yang dapat dikembangkan lebih sustain dengan memanfaatkan laboratorium biomolekuler yang ada di Indonesia.

F. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini difokuskan pada pengkajian efek SH-MSCs yang diprekondisikan dalam kondisi hipoksia terhadap mekanisme patofisiologis utama yang terlibat dalam progresi gagal ginjal kronik, khususnya stres oksidatif, respons inflamasi, dan fibrosis ginjal. Model penelitian menggunakan tikus Wistar dengan gagal ginjal yang diinduksi melalui prosedur subtotal nephrectomy sebagai representasi cedera ginjal kronik progresif. Intervensi yang diberikan berupa SH-MSCs dan secretome MSC normoksia dengan dosis 500 μ L secara intravena, yang kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan dan kelompok sham sebagai kontrol fisiologis.

Ruang lingkup analisis mencakup evaluasi ekspresi gen dan protein penanda kunci pada jaringan ginjal, yaitu NRF2 dan superoksida dismutase (SOD) sebagai indikator sistem pertahanan antioksidan, TNF- α dan IL-10 sebagai representasi keseimbangan respons inflamasi, serta TGF- β , α -smooth muscle actin (α -SMA), dan

Snail sebagai penanda aktivasi fibrogenik dan proses epithelial-to-mesenchymal transition (EMT). Selain itu, tingkat fibrosis jaringan ginjal dievaluasi secara histopatologis melalui analisis densitas kolagen menggunakan pewarnaan Masson trichrome. Penelitian ini tidak mencakup analisis toksisitas jangka panjang, karakterisasi rinci komponen secretome, maupun uji translasi klinis, sehingga temuan yang dihasilkan dibatasi pada konteks eksperimental in vivo dan mekanisme biologis dasar.

G. Nilai Kebaharuan Penelitian

Nilai kebaruan penelitian ini terletak pada optimalisasi proses dan pemanfaatan secretome mesenchymal stem cells (MSC) yang dipre-kondisikan dalam kondisi hipoksia sebagai pendekatan terapeutik berbasis parakrin untuk menghambat progresi fibrosis ginjal pada model gagal ginjal kronik akibat *subtotal nephrectomy*. Berbeda dengan sebagian besar penelitian terdahulu yang memanfaatkan secretome MSC sebagai produk terapeutik tanpa penekanan khusus pada optimalisasi proses produksinya, penelitian ini menekankan bahwa efektivitas terapeutik secretome ditentukan secara signifikan oleh kondisi kultur dan mikro lingkungan sel selama proses pembentukan secretome. Dalam konteks ini, kondisi hipoksia diterapkan sebagai strategi rekayasa biologis yang terkontrol untuk memodulasi profil sekretorik MSC, sehingga menghasilkan secretome dengan kualitas dan potensi biologis yang lebih unggul. Pendekatan ini diharapkan mampu meningkatkan efek protektif ginjal secara lebih optimal dibandingkan secretome yang dihasilkan pada kondisi normoksia.

Selain itu, penelitian ini menghadirkan kebaruan melalui pendekatan analisis yang terintegrasi dan komprehensif dengan mengaitkan modulasi jalur stres oksidatif (NRF2 dan SOD), keseimbangan respons inflamasi (TNF- α dan IL-10), serta penghambatan jalur fibrogenik dan *epithelial–mesenchymal transition* (TGF- β , α -SMA, dan SNAIL), yang diperkuat oleh bukti histopatologis berupa penurunan deposisi kolagen pada jaringan ginjal. Integrasi temuan molekuler dan histologis ini memberikan pemahaman mekanistik yang lebih utuh mengenai peran secretome SH-MSC khususnya, dalam mengendalikan kondisi gagal ginjal yang dapat sekaligus dibandingkan dengan SN-MSC. Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah baru dalam pengembangan terapi regeneratif berbasis secretome yang lebih aman, aplikatif, dan berpotensi dikembangkan sebagai strategi alternatif dalam penatalaksanaan gagal ginjal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Gagal Ginjal

a. Definisi dan Patomekanisme

Gagal ginjal didefinisikan sebagai adanya kelainan pada struktur atau fungsi ginjal yang berlangsung selama lebih dari 3 bulan. Ini termasuk 1 atau lebih dari berikut ini: (1) GFR kurang dari 60 mL/menit/1,73 m²; (2) albuminuria (yaitu, albumin urin ≥ 30 mg per 24 jam atau rasio albumin terhadap kreatinin urin [ACR] ≥ 30 mg/g); (3) kelainan pada sedimen urin, histologi, atau pencitraan yang menunjukkan kerusakan ginjal; (4) gangguan tubulus ginjal; atau (5) riwayat transplantasi ginjal. Jika durasi penyakit ginjal tidak jelas, penilaian ulang harus dilakukan untuk membedakan CKD dari cedera ginjal akut (perubahan fungsi ginjal yang terjadi dalam 2–7 hari) dan penyakit ginjal akut (kerusakan ginjal atau penurunan fungsi ginjal yang terjadi selama ≤ 3 bulan). (Rongshuang Huang, Ping Fu, Liang Ma, 2023).

Klasifikasi gagal ginjal memberikan panduan untuk tata kelola, termasuk stratifikasi risiko progresivitas dan komplikasi gagal ginjal. Stratifikasi risiko digunakan untuk tata kelola yang tepat kepada pasien dan jangka waktu monitor. Definisi progresivitas dari gagal ginjal berdasarkan salah satu dari beberapa keadaan berikut ini:

1. Penurunan kategori GFR (≥ 90 [G1], 60–89 [G2], 45–59 [G3a], 30–44 [G3b], 15–29 [G4], ≤ 15 [G5] ml/mnt/1,73m²). Penurunan eGFR tertentu didefinisikan sebagai penurunan kategori GFR yang disertai dengan penurunan eGFR 25% atau lebih dari *baseline*.
2. Progresivitas yang cepat didefinisikan sebagai penurunan berkelanjutan dalam eGFR lebih dari 5 ml/menit/1,73 m²/tahun.
3. Keyakinan dalam menilai perkembangan meningkat seiring dengan peningkatan kadar kreatinin serum dan durasi kontrol. (KDIGO, 2024).

Panduan Frekuensi Pemantauan (berapa kali per tahun) menurut Kategori GFR dan Albuminuria				Kategori Albuminuria Persisten (Deskripsi dan kisaran)		
				A1	A2	A3
				Normal hingga sedikit meningkat	Cukup meningkat	Sangat meningkat
				<30 mg/g <3 mg/mmol	30–300 mg/g 3–30 mg/mmol	>300 mg/g >30mg/mmol
Kategori GFR (ml/menit/1,73m ²) (Deskripsi dan kisaran)	G1	Normal atau tinggi	≥ 90	1 if CKD	1	2
	G2	Sedikit menurun	60–89	1 if CKD	1	2
	G3a	Sedikit hingga cukup menurun	45–59	1	2	3
	G3b	Sedang sampai sangat menurun	30–44	2	3	3
	G4	Sangat menurun	15–29	3	3	4+
	G5	Gagal ginjal	<15	4+	4+	4+

Gambar 2.1. Klasifikasi Penyakit Ginjal berdasarkan hasil eGFR dan kadar albuminuria. eGFR dan kadar albuminuria menggambarkan risiko perkembangan berdasarkan intensitas pewarnaan (hijau, kuning, oranye, merah, merah tua). Angka- angka dalam kotak merupakan panduan frekuensi minimal pemantauan (berapa kali per tahun).

Gangguan ginjal merupakan suatu penyakit multifasik yang saat ini

menjadi perhatian di dunia. Onset dari gangguan ginjal akut meningkatkan risiko berkembangnya Penyakit Ginjal Kronik (gagal ginjal). Saat ini insidens dan prevalensi gagal ginjal terus berkembang. Penyakit ginjal terdiri dari beragam etiologi, yaitu imunologi, mekanik, metabolik dan toksik. Hal tersebut mempengaruhi tiga kompartemen fungsional ginjal: pembuluh darah, glomerulus dan tubulointerstisium. Kompartemen tersebut yang secara kolektif bertanggungjawab terhadap penyaluran darah, filtrasi plasma dan modifikasi dari filtrasi glomerular secara berurutan (W. Lv et al., 2018a).

Terlepas dari etiologi tersebut, semua pasien dengan penyakit ginjal kronik menunjukkan penurunan fungsi ginjal seiring waktu. Proses tersebut bersifat ireversibel, dan kemudian akan berkembang menjadi penyakit ginjal stadium akhir, yang merupakan suatu kondisi yang membutuhkan dialisis seumur hidup atau transplantasi ginjal. Secara histologis, penyakit ginjal stadium akhir menunjukkan lesi fibrotik yang mempengaruhi setiap kompartemen: glomerulosklerosis, sklerosis vaskular dan fibrosis tubulointerstisial (Guan et al., 2019).

Gagal ginjal ditandai dengan hilangnya nefron secara progresif dan tidak dapat dipulihkan, kerusakan mikrovaskular, penurunan kapasitas regeneratif, inflamasi, stres oksidatif, dan perubahan metabolik, yang pada akhirnya menyebabkan fibrosis ginjal. Dampak gagal ginjal terhadap morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia meningkat pesat, yang menunjukkan kekurangan obat

terapeutik saat ini. (Sara panizo, Laura, Cristina et, al 2021).

Fibrosis ginjal adalah jenis patologis yang umum dan manifestasi akhir dari gagal ginjal, yang karakteristik morfologisnya meliputi glomerulosklerosis, atrofi tubulus, inflamasi kronis interstisial, dan fibrogenesis, serta berkurangnya pembuluh darah. Fibrosis terjadi ketika penyembuhan luka tidak teratur, yang mengarah pada akumulasi protein matriks ekstraseluler yang berlebihan seperti fibronectin dan kolagen. Ketika ginjal cedera, fibroblas lokal dan perisit diaktifkan, meningkatkan kontraktilitasnya, mengeluarkan mediator inflamasi, dan mensintesis komponen matriks ekstraseluler, yang memicu penyembuhan luka. Namun, jika kerusakan berulang atau parah, protein matriks ekstraseluler secara terus-menerus menumpuk di ginjal, mengakibatkan gangguan jaringan, disfungsi ginjal, dan akhirnya kegagalan organ. Meskipun suatu kemajuan besar dalam memahami mekanisme fibrosis ginjal, namun masih ada hambatan translasi dari identifikasi target obat terapeutik antifibrotik yang ditemukan hingga transformasi pengetahuan ini menjadi aplikasi klinis untuk kesehatan manusia. (Rongshuang Huang, Ping Fu, Liang Ma, et al., 2023).

Organ ginjal terdiri dari beberapa segmen yang secara anatomis dan fungsional berbeda, di mana berbagai jenis sel dengan mekanisme spesifik yang berperan dalam terjadinya dan perkembangan fibrosis ginjal. Secara khusus, teknologi yang berkembang pesat seperti transkriptomik spasial dan sel tunggal

dapat memfasilitasi pemahaman tentang pemrograman genetik, jalur sinyal, dan mekanisme interaksi antar sel yang mendasari fungsi ginjal dalam kondisi fisiologis, serta disfungsi dalam kondisi fibrotik. (Sara panizo, Laura, Cristina et, al, 2021).

Epigenetik mengontrol ekspresi gen tanpa mengubah susunan DNA dan mempengaruhi interaksi antara gen dan hantaran sinyalnya. Regulasi epigenetik memainkan peran fundamental dan penting dalam biologi sel ginjal melalui aksi metilasi DNA, modifikasi kromatin melalui faktor epigenetik dan interaksi dengan faktor transkripsi, serta tanpa pengkodean RNA. Temuan baru dalam epigenetik dapat mendorong pengembangan tidak hanya mekanisme fibrosis ginjal, tetapi juga biomarker dan obat-obatan yang ditargetkan untuk diagnosis, prognosis, dan terapi gagal ginjal. (Sara panizo, Laura, Cristina et, al, 2021).

Dalam ulasan ini, kami memperbarui kemajuan terbaru dalam mekanisme fibrosis ginjal dari perspektif baru dan merangkum biomarker baru yang menjanjikan serta pengobatan antifibrotik untuk pasien dengan penyakit ginjal fibrotik. (Sara panizo, Laura, Cristina et, al, 2021).

b. Penyakit Gagal Ginjal dan Fibrosis

Fibrosis ginjal terjadi jika struktur jaringan normal secara perlahan tergantikan oleh matriks ekstraseluler. Fibrosis baik dari glomerular dan kompartemen tubulointerstitial berkorelasi dengan penurunan fungsi ginjal pada

seluruh bentuk penyakit diabetik dan non diabetik glomerular yang progresif, dan secara luas dipertimbangkan sebagai mekanisme umum yang menjadi dasar terjadinya penyakit ginjal stadium akhir (Tang et al., 2021).

Fibrosis ginjal merupakan pembentukan jaringan parut di dalam parenkim. Deposisi dari matriks fibrotik setelah kerusakan jaringan pada awal mulanya dapat membantu proses perbaikan jaringan, dan setelah kerusakan ringan, kemudian matriks tersebut diserap selama proses perbaikan. Namun, selama proses kerusakan kronik yang terjadi pada gagal ginjal, deposisi matriks fibrotik tidak dapat dikendalikan, yang akhirnya menghancurkan struktur organ, menurunkan suplai darah, dan mengganggu fungsi organ. Fibrosis menurunkan kemampuan perbaikan jaringan dan akhirnya menyebabkan kegagalan ginjal. (Sara panizo, Laura, Cristina et, al, 2021).

Prosesnya terdiri dari akumulasi jaringan ikat berlebihan yang sebagian besar dihasilkan oleh miofibroblas yaitu gabungan dari sel-sel otot polos dan fibroblas. Fibrotik mempengaruhi semua kompartemen ginjal, dimulai di area tubulointerstitial dan meluas ke pembuluh darah dan glomerulus, menyebabkan arteriosklerosis dan glomerulosklerosis, yang merupakan jalur patologis umum yang diikuti oleh hampir semua nefropati kronis. (Sara panizo, Laura, Cristina et, al, 2021).

Tahap awal dari proses fibrotik ditandai dengan inflamasi kompleks yang melibatkan kekebalan bawaan dan adaptif. Fase inflamasi awal dari respons penyembuhan luka bergantung pada makrofag M1 dan makrofag reparatif M2. Berbeda dengan reaksi inflamasi akut ini, pada fase awal kerusakan organ, fibrotik biasanya terjadi akibat inflamasi kronis sebagai dampak dari respons imun yang berlangsung selama beberapa bulan, dimana inflamasi, perubahan bentuk jaringan, dan proses perbaikan terjadi secara bersamaan. Oleh karena itu, inflamasi kronis, yang merupakan karakteristik dari Gagal ginjal, sering menjadi pemicu proses fibrotik. Proses inflamasi ini ditransmisikan melalui sel epitel dan endotel, yang menghasilkan mediator inflamasi termasuk sitokin dan kemokin dan menyebabkan aktifnya sel inflamasi : limfosit, leukosit polimorfonuklear, eosinofil, basofil, sel mast, dan makrofag. Sel-sel inflamasi ini melepaskan *transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1)*, faktor fibrogenik kuat yang menginduksi aktivasi fibroblas, meningkatkan sintesis protein matriks ekstraseluler (MES). (Sara panizo, Laura, Cristina et, al, 2021).

Telah dipahami dengan baik bahwa inflamasi pada ginjal adalah pemicu untuk inisiasi fibrotik ginjal. Pada gagal ginjal akut dan kronis, pelepasan sitokin, infiltrasi sel inflamasi, dan transisi epitelial ke mesenkimal (TEM) yang terjadi setelahnya mengarah pada fibrotik ginjal dan gagal ginjal. Mekanisme perbaikan tubulus melibatkan aktivasi reseptor faktor pertumbuhan epitelial (RFPE).

Meskipun aktivasi akutnya bermanfaat pada tahap awal gagal ginjal, aktivasi kronisnya menyebabkan fibrotik ginjal. Aktivasi ini meningkatkan ekspresi TGF- β 1, yang merangsang proliferasi miofibroblas interstitial, menginduksi sekresi kolagen dan protein MES lainnya, yang mengarah pada fibrotik interstitial dan kegagalan fungsional nefron. (Sara panizo, Laura, Cristina et al, 2021). Namun, mekanisme yang mendasari fibrosis ginjal progresif ini masih belum dapat dimengerti dan terapi antifibrotik yang efektif masih belum banyak tersedia saat ini (Gao et al., 2022; L. Wu et al., 2021).

c. Mekanisme Fibrosis Ginjal

Fibrosis ginjal dikaitkan dengan terbentuknya jaringan parut yang merupakan hasil dari gagal ginjal akut dan progresifitas dari penyakit ginjal kronik. Fungsi ginjal juga turut menurun seiring dengan progresi dari fibrosis ginjal. Terdapat beberapa stimuli yang dapat menginduksi dan menginisiasi proses fibrosis seperti trauma, infeksi, gangguan metabolik, inflamasi dan autoimun (Guan et al., 2019; Martínez-Klimova et al., 2019).

Terdapat empat respon selular kompleks yang sangat penting dalam terjadinya fibrosis ginjal: (1) Respon inflamasi interstitial, (2) Produksi miofibroblas, yang terutama berasal dari sel stroma ginjal (fibroblas dan perisit), yang merupakan sumber utama dari berbagai protein matriks ekstraselular yang membentuk jaringan parut di interstitial, (3) Sel epitel tubular yang memiliki

variable dan peranan yang bergantung dengan waktu sebagai responden awal terhadap kerusakan dan kemudian terdampak oleh karena hilangnya kemampuan regenerative, (4) Hilangnya integritas kapiler interstisial yang mengganggu proses penghantaran oksigen dan menghasilkan kaskade stress oksidan-hipoksia yang mendorong terjadinya kerusakan dan fibrosis (W. Lv et al., 2018a). Sel epitel tubular ginjal mengalami transisi parsial epitelial ke mesenkimal setelah terjadinya kerusakan, yang mengganggu perbaikan dan regenerasi tubular, menginduksi tertahannya siklus sel, dan memicu aktivasi fibroblas interstisial. Fibrosis ginjal berhubungan dengan defek pada metabolisme sel dan disfungsi mitokondrial pada sel epitel tubular ginjal (Varga et al., n.d.).

Proses inflamasi terjadi sebagai respon protektif terhadap kerusakan ginjal luas yang bertujuan untuk mengeliminasi penyebab kerusakan dan memulai proses perbaikan, tetapi proses inflamasi yang berlangsung, terlepas dari penyebab yang mendasarinya, juga memicu terjadinya fibrosis ginjal progresif. Inflamasi awal ditandai dengan kehadiran neutrophil dan makrofag, yang diaktivasi melalui pelepasan sitokin pada jaringan yang rusak, dan kemudian mengstimulasi respon imun adaptif (Abdel Moneim et al., 2011; S. Meng et al., 2017).

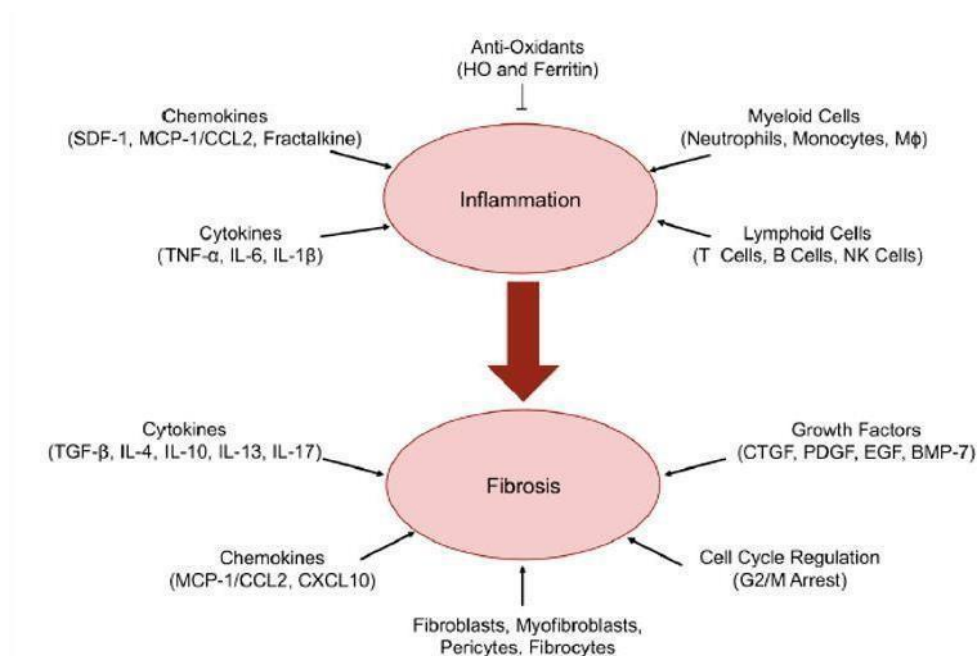
Studi lainnya juga menunjukkan bahwa selain inflamasi, stress oksidatif juga memiliki peran krusial pada proses terjadinya fibrosis ginjal. Stress oksidatif dihasilkan dari ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas yang biasanya

meningkat dari inflamasi dan disfungsi mitokondria, dan penurunan mekanisme pertahanan dari antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif juga dapat muncul secara sekunder dari proses aktivasi Transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1), yang berperan meningkatkan aktifitas nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (Nox) (W. Lv et al., 2018b; Rehman et al., 2013).

d. Inflamasi sebagai Kunci Fibrosis Ginjal

Inisiasi proses inflamasi merupakan salah satu mekanisme yang berperan sebagai respon awal terhadap kerusakan ginjal. Terjadi sekresi sitokin dan kemokin, serta aktivasi sel pro-fibrotik. Respon tersebut merupakan suatu respon yang terkontrol dan bertujuan untuk regenerasi terhadap jaringan yang rusak, namun saat proses *signaling* dari sel inflamasi dan fibrogenik tidak lengkap atau persisten dapat menyebabkan suatu fibrosis (Gambar 2.1) (Guan et al., 2019).

Fibrosis merupakan ekstensi patologis dari proses penyembuhan luka normal yang ditandai oleh kerusakan (cedera), inflamasi, migrasi dan aktivasi miofibroblas, serta perbaikan dan deposisi matriks. Prinsip patofisiologi yang mendasari terjadinya fibrosis ginjal juga terjadi pada penyakit fibrosis lainnya, seperti sirosis, kardiomiopati, dan fibrosis pulmonal idiopatik (W. Lv et al., 2018a; Varga et al., n.d.).



Gambar 2.2. Jenis sel yang berbeda, *protein signaling*, dan *growth factor* berkontribusi pada inflamasi dan fibrosis ginjal. Kerusakan ginjal menginduksi inflamasi, yang memicu fibrosis. Koordinasi dari banyak jenis sel, sitokin dan kemokin, antioksidan, *growth factor*, dan mekanisme pengaturan yang memodulasi respon tersebut. Kontrol yang tepat dari faktor tersebut dapat mendorong terjadinya perbaikan dari jaringan yang rusak; namun, jika control menjadi tidak teratur, terjadi eksaserbasi.

Terdapat dua mekanisme primer yang mengatur jalannya proses mulai dari inflamasi ginjal hingga fibrosis. Yang pertama, *fibrogenetic growth factors* yang diproduksi oleh sel inflamasi yang menghasilkan fibroblas lokal, atau sel inflamasi itu sendiri, untuk berproliferasi dan menghasilkan matriks ekstraselular. Yang kedua, sel inflamasi yang berubah menjadi fibroblas yang menghasilkan kolagen atau miofibroblas secara langsung dari matriks ekstraselular, *Endothelial-Mesenchymal*

Transition (EndoMT), perisit, fibrosit atau *Macrophage-Myofibroblast Transition* (MMT). Banyak sitokin inflamasi dan *growth factors*, seperti TGF- β , yang terlibat dalam proses inflamasi-fibrosis. Pemblokiran respon inflamasi yang berlebihan dapat menjadi tujuan utama dalam terapi untuk penyakit ginjal fibrosis (Guan et al., 2019; Ishiuchi et al., 2020b).

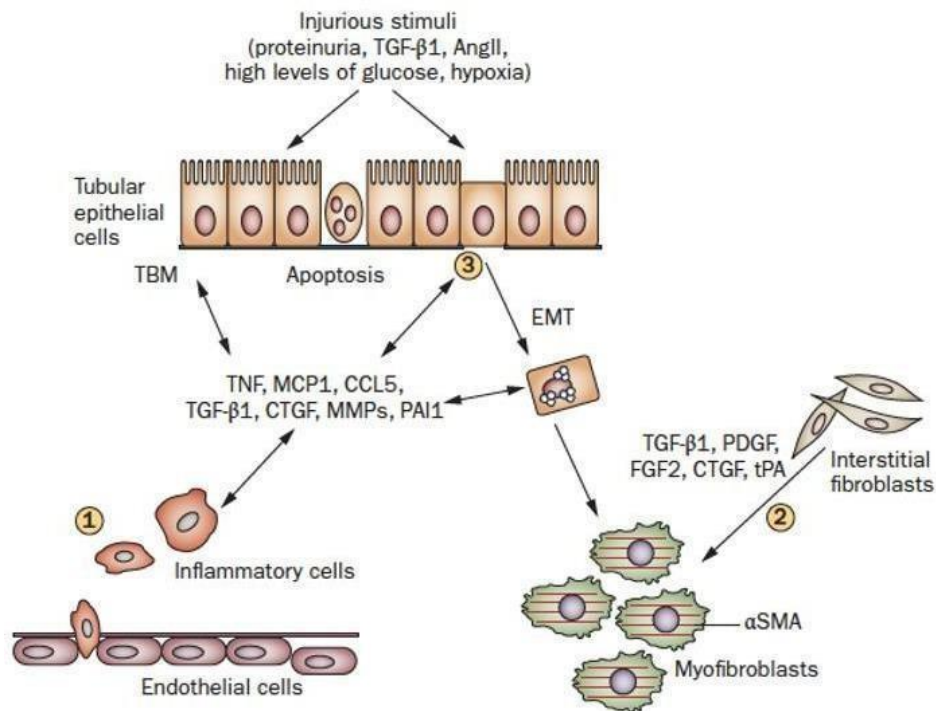
e. Konsep Mekanistik Fibrosis Ginjal

Peningkatan fibrosis interstisial renal, vaskulopati, atrofi tubular, glomerulosklerosis dan penurunan kapasitas regenerasi ginjal merupakan karakteristik dari gagal ginjal. Pada gagal ginjal, terdapat akumulasi miofibroblas yang intens di ruang interstisial, yang merupakan sel utama untuk sintesis dan deposit komponen patologis dari matriks fibrillar. Akumulasi dari matriks fibrotik ini secara progresif menghancurkan struktur jaringan ginjal yang normal melalui kontraksi dan peningkatan kekakuan, yang menyebabkan terjadinya gangguan aliran darah dan fungsi nefron, dan juga meningkatkan ruang antara vaskular dan struktur tubular. Akan tetapi, fibrosis bukan hanya sekedar matriks, namun juga sel yang membentuk matriks baru. Studi terbaru memperlihatkan bahwa miofibroblas merupakan sel inflamasi yang memiliki peran penting sendiri dalam menghasilkan jaringan kemokin dan sitokin inflamasi, maupun radikal bebas. Oleh karena itu, miofibroblas bukan hanya sel yang mendeposit matriks tetapi juga

berkontribusi langsung pada kerusakan parenkim dan mikrovaskular. (Ungur et al., 2022).

Hampir seluruh tipe sel yang terdapat di ginjal, seperti fibroblas, sel epitel tubular, perisit, sel endotel, sel otot polos vaskular, sel mesangial dan podosit, termasuk juga infiltrasi sel limfosit, makrofag dan fibrosit, seluruhnya terlibat dan berkontribusi dalam jalur pathogenesis fibrosis ginjal, yang menggambarkan kompleksitas yang sangat luas dari proses ini. (Tsuji et al., 2018).

Proses seluler utama dari fibrosis tubulointerstisial yaitu: infiltrasi dari sel inflamasi; aktivasi fibroblas dan perluasan dari berbagai sumber; produksi dan deposisi komponen matriks ekstraselular dalam jumlah besar; serta atrofi tubular dan pengipisan mikrovaskular (Gambar 2.2) (Ruiz-Ortega et al., 2020). Miofibroblas menggabungkan fitur dari fibroblas dan sel otot polos, dan merupakan sel reaktif yang banyak terdapat pada kondisi cedera atau patologis seperti keganasan. Marker terbaik dari miofibroblas yaitu alpha- smooth muscle actin (α -SMA), yang membentuk kumpulan dari miofilamen yang disebut stress fibers. Stress fiber merupakan suatu hal yang penting dalam menghubungkan miofibroblas dan matriks ekstrasel, dan ketika sel saling berinteraksi, akan memicu kekuatan mekanik dari matriks, yang menyebabkan reorganisasi dan penutupan luka dalam proses penyembuhan. (Hanna et al., 2013).



Gambar 2.3. Proses utama pada fibrogenesis interstisial ginjal. (1) Infiltrasi peritubular dari sel inflamasi, terutama sel T dan makrofag, merupakan proses awal yang mengatur tahapan fibrogenesis. (2) Aktivasi miofibroblas dan perluasan dari berbagai sumber. Sebagian besar dari miofibroblas yang menghasilkan matriksa mungkin dihasilkan melalui aktivasi lokal dari fibroblast interstisial. (3) Apoptosis sel tubular dan epithelial- mesenchymal transition (EMT), mengarah ke atrofi tubular (Ruiz-Ortega et al., 2020).

Kapasitas sekretori dari miofibroblas dapat dilihat dari banyaknya retikulum endoplasma kasar dan granul sekresi kolagen. Sel ini sangat sensitif terhadap transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1), yang berperan utama dalam regulasi diferensiasi miofibroblas pada proses fibrosis (Guan et al., 2019). TGF- β utamanya berperan pada fibroblas, sel mesangial dan sel tubular. TGF- β dapat

dijumpai dalam tiga isoform (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3). TGF- β diekspresikan dan disekresi dari banyak jenis sel selama terjadi kerusakan. TGF- β juga memiliki peran tambahan yang penting pada perkembangan embrionik, diferensiasi sel punca, *signaling* sel imun, dan perbaikan jaringan. Ekspresi TGF- β sangat berlimpah pada jaringan ginjal, sama halnya dengan jumlah monosit, makrofag, limfosit dan platelet (Bellei et al., 2020).

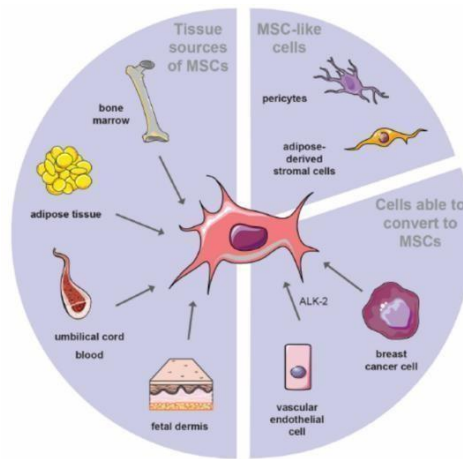
Dalam patofisiologi ginjal, ekspresi TGF- β menggerakkan proses remodeling matriks ekstraselular dan ekspansi sel pro-fibrotik seperti fibroblas dan miofibroblas. Namun, faktanya overekspresi TGF- β pada kondisi yang stagnan menyebabkan autofagi sel tubular ginjal dan kemudian menyusul terjadinya fibrosis (Bellei et al., 2020).

Interleukin berperan sebagai penanda pro inflamasi yang dapat meningkatkan kerusakan setelah cedera jaringan dan meningkatkan risiko fibrosis interstisial. Dalam prosis diferensiasi fibrosit, yang berperan adalah IL-1 β , IL-4 dan platelet-derived growth factor (PDGF) (Chan et al., 2020). IL-10 dihasilkan oleh sel mesangial dalam fisiologi ginjal normal dan ditemukan dapat berperan protektif maupun merugikan, tergantung pada keparahan dan derajat penyakit ginjal. IL-10 dan TGF- β secara Bersama-sama dapat memicu kaskade pro-inflamasi. Selain itu, IL-10 bertanggungjawab terhadap sekresi Cystatin-C, yang merupakan cystein protease inhibitor, yang saat ini digunakan secara diagnostic untuk mendeteksi

fungsi ginjal (Bhaskar et al., 2020).

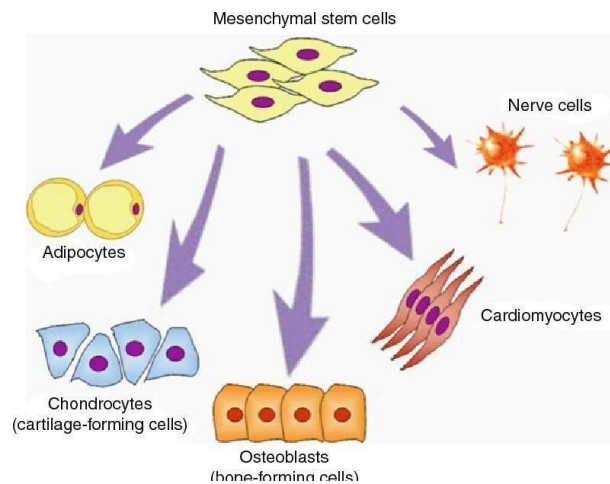
B. Mesenchymal Stem Cell

Mesenchymal stem cells (MSCs) adalah sel yang bersifat multipotensi sehingga dapat berdiferensiasi menjadi sel dewasa lain seperti osteosit, adipositas, dan neurosit. Mesenchymal stem cell dapat diisolasi dari beberapa jaringan antara lain jaringan adipose, folikel rambut, hingga *Wharton Jelly* dari tali pusat (Marino et al., 2019). Secara umum, MSCs diidentifikasi sebagai sel yang dapat menempel pada permukaan plastik dan bentuk menyerupai sel fibroblast atau jarum. Secara fenotipe, MSCs yang diisolasi dari tikus, dimana MSCs tikus tidak mengekspresikan beberapa marker spesifik antara lain CD44 dan CD29, namun mengekspresikan marker spesifik CD45 dan CD31 dan bersifat osteogenik (Schachtele et al., 2018b). MSCs dapat diperoleh dari beberapa jaringan antara lain sumsum tulang, jaringan adiposa, folikel rambut, *Wharton Jelly* dari tali pusat, dan plasenta (Marino et al., 2019).



Gambar 2.4. Sumber *mesenchymal stem cell* (MSCs) (Dittmer et al., 2011)

MSCs memiliki beberapa karakteristik antara lain memiliki kemampuan *self-renewal*, mampu berdiferensiasi menjadi beberapa sel dewasa seperti, seperti osteoblas, adiposit, kondrosit, tenosit, dan miosit (Yustianingsih et al., 2019). Selain itu MSCs juga memiliki kemampuan sebagai imunomodulator karena mampu mengeksresi beberapa sitokin baik pro atau pun anti inflamasi. Hal ini menjadikan MSCs memiliki potensi yang besar dalam regenerasi kulit (Weiss & Dahlke, 2019).



Gambar 2.5. Kemampuan diferensiasi dari MSCs (Naguib & Cui, 2014)

Secara *in-vivo*, MSCs berfungsi dalam proses regenerasi suatu jaringan. Peran MSCs dalam regenerasi jaringan berkaitan dengan kemampuan MSCs dalam berdiferensiasi dan meregulasi kondisi imun dalam tubuh. Kemampuan diferensiasi MSCs memungkinkan untuk dapat mengganti jaringan yang rusak. Sedangkan kemampuan MSCs sebagai imunoregulator berkaitan dengan kemampuan MSCs untuk berubah menjadi MSCs tipe 1 yang bersifat pro-inflamasi atau menjadi MSCs tipe 2 yang bersifat anti-inflamasi. MSCs tipe 1 berperan dalam memicu proses inflamasi yang menyebabkan beberapa komponen inflamasi segera menuju ke lokasi inflamasi. Hal ini menyebabkan proses inflamasi akan berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan kondisi normal. Ketika proses inflamasi selesai, MSCs akan berubah peran menjadi MSCs tipe 2 yang bersifat anti-inflamasi dan memiliki kemampuan dalam mengeksresikan sitokin-sitokin yang berperan dalam

menghentikan proses inflamasi (Sargent & Miller, 2016; Scuteri & Monfrini, 2018).

a. Secretome MSC

Keterbatasan waktu paruh dari sel yang ditransplantasikan dan potensi tumorigenik serta risiko MSC lainnya telah mendorong perkembangan terapi aseluler. Sementara MSC memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi dan dengan demikian dapat berkontribusi pada penggantian epitel hepatik, banyak efek MSC yang diamati lainnya terkait dengan efek parakrin yang terjadi sebagai hasil dari faktor-faktor yang disekresikan atau dilepaskan dari sel. Memang, potensi terapeutik dari MSC pada cedera hati dapat digunakan terutama melalui mekanisme parakrin yang melibatkan pelepasan protein terlarut atau EV (*Extracellular Vesicles*), yang merupakan sekretom MSC (Ferreira et al., 2018; Vizoso et al., 2017).

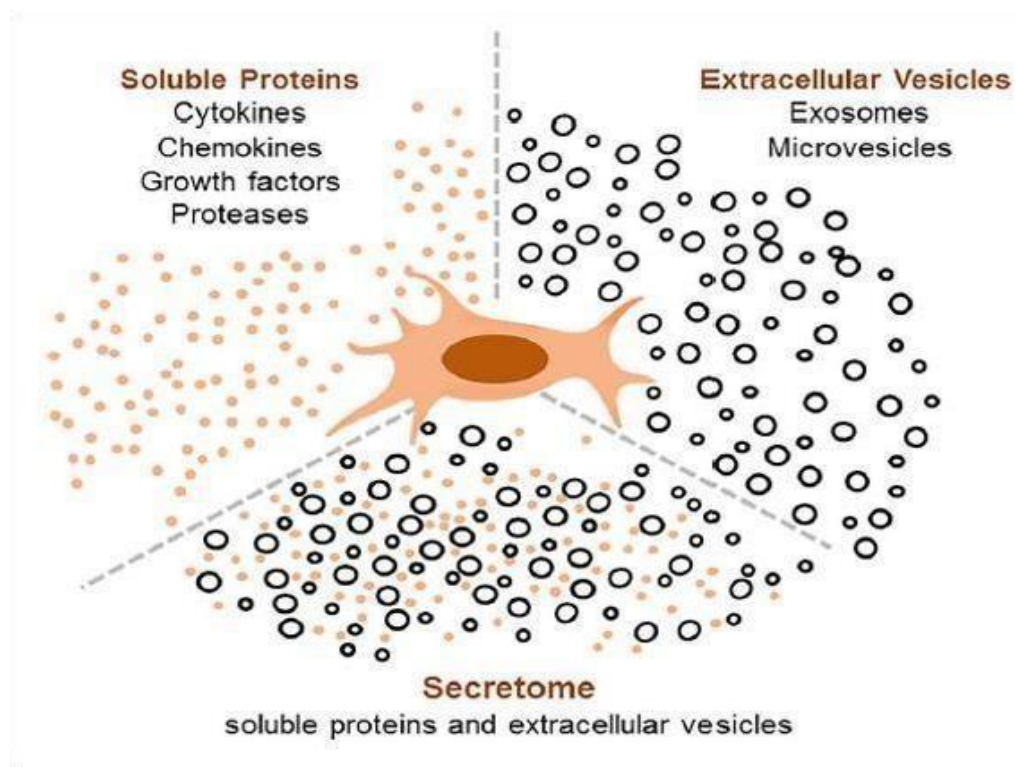
Penggunaan sekretom MSC sebagai agen terapeutik merupakan pilihan menarik yang dapat menghindari beberapa keterbatasan pendekatan berbasis sel. Sekretom MSC dapat digunakan sebagai terapi regeneratif dan reparatif aseluler untuk cedera dan penyakit hati. Ada pengakuan yang berkembang tentang kemampuan sekretom MSC untuk memodulasi lingkungan mikro imun lokal, mengurangi cedera dan untuk meningkatkan perbaikan epitel. MSC yang tidak berdiferensiasi kekurangan ekspresi molekul ko-stimulasi yang diperlukan untuk mengaktifkan sel T. Oleh karena itu, efek parakrin yang dimediasi sekretom berkontribusi penting pada efek MSC yang diamati

pada modulasi sel-sel imun (Munoz-Perez et al., 2021).

Konstituen utama sekretom MSC mencakup beragam protein larut dan EV (Gambar 2.5). Media terkondisi (CM) yang diperoleh dari MSC dalam kultur terdiri dari kombinasi EV dan protein. Efek eksperimental yang diamati dengan penggunaan CM dapat dihasilkan dari salah satu atau kedua konstituen ini. Namun, beberapa penelitian juga melaporkan efek EV yang telah diisolasi dan dipisahkan dari *secretome* (Dias et al., 2021).

Efek menguntungkan secara terapeutik menggunakan CM atau preparat EV terpisah yang berasal dari rentang MSC dari promosi perbaikan hingga perbaikan cedera. Dalam banyak penelitian, EV telah diisolasi dari supernatan kultur sel atau CM menggunakan pendekatan berbasis sentrifugasi klasik (Benavides-Castellanos et al., 2020; Jun et al., 2014; Sunarto et al., 2020).

Meskipun sebagian besar penelitian belum secara langsung mengevaluasi keberadaan protein yang disekresikan dalam sediaan EV, pendekatan isolasi diharapkan dapat menghilangkan atau secara signifikan mengencerkan kandungan protein yang disekresikan. Penggunaan pemisahan EV berbasis resin dapat menghasilkan kandungan protein yang disekresikan lebih tinggi yang perlu dipertimbangkan saat menafsirkan hasil penelitian menggunakan EV yang diisolasi menggunakan pendekatan ini (Joseph et al., 2020; Prakoeswa et al., 2019; Yew et al., 2011).



Gambar 2.6. Secretome Mesenchymal Stem Cells (MSCs)

Sekretom terdiri dari protein larut (soluble proteins) dan vesikel ekstraseluler yang disekresikan. Protein tersebut termasuk faktor- faktor biologis aktif berupa sitokin (misalnya, interleukin 10, dan *tumor necrosis factor- alfa*), kemokin (misalnya, eotaxin-3), dan berbagai faktor pertumbuhan (misalnya, *hepatocyte growth factor* dan *transforming growth factor-beta isoform 3*). Faktor-faktor vesikuler termasuk eksosom dan mikrovesikel (Patel et al., 2015).

b. Efek Fungsional Secretome MSC

Sifat reparatif atau regeneratif dari sekretom MSC dapat berkontribusi terhadap modulasi imun, perbaikan cedera, atau pengurangan fibrosis. Protein larut seperti sitokin

dan kemokin yang dilepaskan oleh MSC dapat berkontribusi terhadap beberapa respons patofisiologis yang berbeda (F. Liu et al., 2019; Sargent & Miller, 2016). Hal ini mencakup efek-efek imunomodulator karena efek langsung atau tidak langsung dari beberapa sel imun atau responsnya terhadap cedera sel atau jaringan. Faktor-faktor pertumbuhan (growth factors) dan sitokin dalam sekretom seperti transforming growth factor beta isoform 3 (TGF-beta 3), hepatocyte growth factor (HGF), IL-10, dan tumor necrosis factor alpha (TNF-alfa) dapat memodulasi proses dan sinyal sel yang terlibat dalam fibrogenesis dan dapat melemahkan fibrosis hati (F. Liu et al., 2019; Putra et al., 2020). Selain itu, efek-efek parakrin MSC yang diamati juga dapat dihasilkan dari EV yang dilepaskan dari sel-sel ini. EV ini terdiri dari kelompok vesikel yang sangat heterogen serta bervariasi dalam ukuran, biogenesis, dan isinya. EV yang berasal dari MSC dapat mengekspresikan marker permukaan MSC yang mampu memodulasi respon imun, sebagaimana tetraspannin spesifik, seperti CD63 dan CD81 (Weiss & Dahlke, 2019). EV ini terdiri dari lipid bilayers yang membungkus kargo yang terdiri dari: lipid, protein, molekul DNA dan RNA (P. Wu et al., 2018). Memang, EV yang berasal dari MSC dapat diperkaya secara selektif dengan protein-protein antifibrotik dan antiapoptosis atau dengan non-coding RNA yang spesifik (Wang et al., 2014; Zhao et al., 2020). Kemampuan untuk merekayasa produksi dan konten EV menawarkan peluang lebih lanjut untuk pengiriman konten spesifik yang ditargetkan untuk aplikasi terapeutik (P. Hu et al., 2019; Y. B. Hu et al., 2019).

c. Keunggulan Terapi Sekretom

Riset biologi molekuler terbaru membuktikan keberadaan regulasi biologis yang melibatkan komunikasi antarsel melalui zat yang disekresikannya, yakni sekretom. Sekretom adalah sekumpulan atau himpunan faktor-faktor atau molekul yang disekresikan ke ruang ekstraseluler. Faktor-faktor tersebut antara lain: protein terlarut (soluble proteins), asam nukleat bebas, vesikel-vesikel ekstraseluler dan lipid. Vesikel-vesikel ekstraseluler dapat dibagi lagi menjadi apoptotic bodies, mikropartikel, dan exosomes (Al-Azzawi et al., 2020). Sekretom sel-sel dan jaringan individu bersifat spesifik. Perubahan terjadi sebagai respons terhadap fluktuasi keadaan fisiologis atau kondisi patologis. Penggunaan terapi bebas sel seperti sekretom yang bersumber MSC dalam pengobatan regeneratif menyediakan keunggulan utama dibandingkan aplikasi berbasis stem cells: (a) penerapan secretome dapat mengatasi beberapa masalah pertimbangan keamanan terkait transplantasi sel proliferasi dan sel hidup, populasi termasuk kompatibilitas imun, tumorigenisitas, pembentukan emboli dan transmisi infeksi; (b) Sekretom yang bersumber dari MSC dapat dievaluasi keamanan, dosis dan potensi dengan cara analog dengan bahan farmasi konvensional; (c) penyimpanan dapat dilakukan tanpa aplikasi agen kriopreservatif yang berpotensi toksik dalam waktu lama tanpa kehilangan potensi produk; (d) menggunakan sekretom yang bersumber dari MSC, seperti media terkondisi (conditioned medium, CM), lebih ekonomis dan lebih praktis untuk aplikasi klinis karena menghindari prosedur pengumpulan sel invasif; (e) produksi massal dimungkinkan melalui jalur sel yang dibuat khusus di bawah kondisi laboratorium yang terkontrol, menyediakan beragam sumber faktor bioaktif yang

relevan; (f) waktu dan biaya perluasan dan pemeliharaan kultur sel punca dapat dikurangi secara drastis dan terapi sekretom "siap pakai" dapat segera dilakukan dan tersedia untuk pengobatan kondisi akut seperti iskemia serebral, infark miokard, atau trauma di kalangan militer; (g) Produk biologis yang diperoleh untuk aplikasi terapeutik dapat dimodifikasi ke efek spesifik sel yang diinginkan (Ahangar et al., 2020; Bartaula-Brevik, 2017; Harrell et al., 2019; Kim et al., 2017; Robert et al., 2019).

d. Efek Fungsional Sekretom MSCs

Pada suatu penelitian, Rota C et al melaporkan bahwa MSC yang berasal dari cairan ketuban dapat menurunkan kerusakan ginjal yang diinduksi oleh cisplatin dan terjadi peningkatan yang cukup signifikan pada efek proteksi ginjal melalui kemampuan kapabilitas angiogenik VEGF, stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) dan insulin-like growth factor-1 (IGF-1). Studi lain yang dilaporkan oleh Takahashi et al yang menggunakan model jaringan yang mengalami iskemia, VEGF dan IGF-1 mempunyai kemampuan efek anti-apoptosis dalam meningkatkan fungsi jaringan, mengindikasikan bahwa MSC mempunyai mekanisme terapeutik yang memungkinkan dalam memperbaiki kerusakan ginjal (Ishiuchi et al., 2020b; Wolf et al., 2001).

Berdasarkan efek-efek positif parakrin yang dihasilkan oleh faktor-faktor tropik dari MSC, beberapa penelitian menggunakan sekretom MSC untuk meneliti efek-efek terapeutik dalam proses perbaikan ginjal. Abedi et al menggunakan sekretom MSC manusia melalui injeksi intraperitoneal ke ginjal yang mengalami kerusakan akibat diinduksi gentamycin dan didapatkan adanya perbaikan sebagian jaringan ginjal yang

rusak (Putra et al., 2019). Pada penelitian lain, da Silva et al mendemonstrasikan efek terapeutik sekretom MSC pada penyakit gagal ginjal kronik. Sekretom yang berasal dari MSC tikus diberikan ke model tikus yang mengalami unilateral ureteral obstruction (UUO) melalui vena cava abdomen setelah ligasi total ureter kiri (AL-Megrin et al., 2020). Pada penelitian ini, pemberian sekretom MSC meningkatkan progresi fibrosis dan faktor-faktor yang terlibat dalam apoptosis, inflamasi, proliferasi sel, dan epithelial-mesenchymal transition pada subjek tikus dengan UUO tersebut. Baru-baru ini, Liu et al melaporkan peluang sekretom manusia dalam penanganan ginjal yang mengalami UUO. Mereka mengumpulkan sekretom MSC yang berasal dari kultur tali pusat manusia (hMSC- secretome) dan diberikan melalui injeksi intravena, yang hasil akhirnya yaitu terjadi peningkatan fungsi ginjal. Mereka percaya bahwa kemanjuran efikasi terapeutik dimediasi oleh efek anti apoptosis, marker inflamasi, dan progresi fibrosis, serta peningkatan proliferasi sel-sel ginjal. 104-106 Dalam sebuah model yang menggunakan tikus yang mengalami ischemia reperfusion injury (IRI), Gatti et al. mendemonstrasikan hasil dari pengobatan MVs dari manusia BM-MSC pada peningkatan fungsi ginjal, yang mana dipercaya bahwa efek menguntungkannya disebarkan melalui transfer RNA untuk aktivasi sel ginjal. Studi lain oleh Bruno et al. menekankan mengenai transfer mRNA dan menunjukkan pelaksanaan dari MSC-yang berasal dari MVs meningkatkan tingkat kelangsungan hidup dari tikus yang diinduksi gliserol oleh AKI.

Mekanisme pengobatan ini diyakini karena pertumbuhan cepat dari tubulus sel

yang dilaksanakan oleh MVs, yang mana MV RNA dimasukkan ke dalam sel target. 97-98 Bagaimanapun juga, peniadaan MV dengan RNase membatalkan hasil perlindungan, menunjukkan efek biologis yang bergantung pada RNA. Studi ini menunjukkan bahwa transfer mRNA melalui masuknya MV ke sel target dapat dianggap sebagai metode terapi baru untuk pengobatan gagal ginjal. Menariknya, MSC-EV yang berasal dari asal sel yang berbeda memiliki isi mRNA yang heterogen. Dalam EV yang berasal dari MSC sumsum tulang manusia, mRNA untuk transkripsi (cth. TCFP2, RAX2, IRF6), regulasi siklus sel (SENP2, RBL1, CDC14B), regulasi imun (IL1RN, MT1X, CRLF1), perubahan bentuk matriks ekstraseluler (COL4A2 , IBSP), sitoskeleton (DDN, MSN, CTNNA1), diferensiasi sel (RAX2, EPX, SCNN1G) dan hematopoietin (HK3, EPX) diidentifikasi. Di sisi lain, MSCs-EVs yang diturunkan dari jaringan adiposa mengandung mRNA untuk transkripsi (misalnya, MDFIC, POU3F1), angiogenesis (misalnya, HES1, TCF4), adipogenesis (misalnya, CEBPA, KLF7), gen aparatus Golgi (ARRB1, GOLGA4), dan pensinyalan TGF- β (misalnya, TGFB1, TGFB3). Temuan ini menunjukkan bahwa pemilihan yang tepat dari EV yang diturunkan dari secretome diperlukan untuk menargetkan pengobatan kondisi tertentu.

e. Peran Mesenchymal stem cells (MSCs) pada Cedera Ginjal

Penyakit gagal ginjal kronis (CKD) merupakan masalah kesehatan global yang serius. Di Amerika Serikat, lebih dari lima belas persen penduduknya mengalami penyakit ini dan jumlah individu yang mengalami end-stage renal disease (ESRD) terus meningkat (Chan et al., 2020). Meskipun terapi dialisis telah tersedia, tetap terjadi

peningkatan kasus morbiditas dan mortalitas mencapai dua ratus per seribu pasien setiap tahunnya (Birtwistle et al., 2021). Transplantasi ginjal, terapi gold standard untuk ESRD tidak mudah didapat, sekitar lebih delapan puluh ribu orang menunggu di Amerika Serikat dengan risiko yang begitu besar. MSC dan sekretom nya memberikan solusi untuk mengatasi penyakit gagal ginjal kronis yang telah dialami oleh lebih dari jutaan orang di seluruh dunia (Dias et al, 2021).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa MSC efektif dalam mencegah berkurangnya fungsi ginjal. Bagaimanapun, penggabungan atau diferensiasi MSC ke dalam jaringan asli jarang terjadi, membutuhkan aktivasi mekanisme parakrin. Contohnya, pada tikus yang mengalami gagal ginjal akut pada kedua ginjal, Togel et al menunjukkan bahwa pemberian MSC intra carotis secara signifikan meningkatkan fungsi ginjal dalam empat puluh delapan jam setelah terjadi iskemia, meskipun sel-sel yang diberikan tersebut tidak terdeteksi setelah dua puluh empat jam di ginjal. Meskipun demikian, telah terjadi penurunan ekspresi sitokin-sitokin pro-inflamasi ($IL-1\beta$, $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$) dan terjadi peningkatan sitokin anti inflamasi ($IL-10$) pada ginjal yang telah diberikan MSC. Pada saat yang sama, terjadi peningkatan renotrophic growth factors dan anti-apoptotic proteins pada ginjal yang diterapi dengan MSC (el Agha et al, 2017; Dias et al, 2021; Putra et al, 2019).

Tampaknya lebih mungkin bahwa manfaat terapeutik MSC berasal dari sekresi langsung dari faktor-faktor regenerasi yang mengaktifkan mekanisme perbaikan bawaan. Pada model tikus yang mengalami AKI akibat diinduksi cisplatin, pemberian

MSC via IV dan IP meningkatkan fungsi ginjal, kelangsungan hidup hewan, dan parameter histologis dibandingkan dengan kelompok kontrol. Seperti contoh studi kasus sebelumnya, penulis mendemonstrasikan tidak didapatkan sel transplantasi yang tinggal di tubulus ginjal setelah dua puluh empat jam, sementara efek terapeutik bertahan selama enam hari. Perbaikan ginjal tidak bergantung pada keberadaan fisik sel punca tersebut. Meskipun kadar BUN meningkat setelah terapi MSC CCM, penulis melaporkan bahwa tidak terjadi peningkatan kreatinin, oleh karena itu sulit untuk membuat perbandingan secara langsung dengan kelompok yang diterapi dengan MSC. Namun perlu dicatat bahwa faktor-faktor parakrin yang disekresikan oleh MSC menginisiasikan proteksi ginjal dengan cepat dalam dua model gagal ginjal akut (iskemik dan sitotoksik). Efek regeneratif sekretom sel punca melibatkan jalur yang berbeda atau bahkan berasal dari sel inang itu sendiri (Ferreira et al 2018; Putra et al, 2019).

Van Koppen et al melakukan hipotesa bahwa MSC CCM juga dapat meningkatkan perbaikan fungsi ginjal pada tikus yang mengalami CKD setelah dilakukan nefrektomi subtotal. Setelah mengalami CKD, tikus tersebut diberikan injeksi intra vena dengan MSC CCM dan NCM dua kali sehari selama empat hari. Enam minggu setelah pemberian terapi, tikus yang diberikan terapi CCM mempunyai nilai GFR yang jauh lebih tinggi dibanding dengan yang diberikan injeksi NCM. Analisis secara histologis menunjukkan ginjal yang diberikan terapi media kontrol, tidak terpengaruh oleh sel punca, mengalami glomerulosklerosis dan kerusakan tubulus yang minimal.^{20,23,26}

Penelitian ini sejalan dengan penelitian lain pada tikus yang mengalami fibrosis ginjal yang disebabkan unilateral ureteral obstruction (UUO) setelah dilakukan ligasi ureter. Pada penelitian ini selanjutnya diberikan penyuntikan intravena MSC. Setelah empat belas hari setelah terapi, terjadi penurunan sitokin inflamasi pada ginjal, pembentukan kolagen, fibrosis dan apoptosis jaringan. Studi ini membuktikan sekretom MSC tidak hanya dapat mencegah kerusakan gagal ginjal akut, tetapi juga dapat mengatasi kerusakan akibat gagal ginjal kronik (Hamra et al, 2021; Hu et al, 2019).

f. Riset tentang MSCs terhadap Fibrosis Ginjal

Penelitian sekretom berfokus pada MSCs sebagai sumber sekretom, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa berbagai jenis sel terapeutik dapat digunakan sebagai sumber sekretom. Seperti disebutkan di atas, sel ginjal primer menunjukkan efek terapeutik pada peningkatan fungsi ginjal. Chen dkk. (2018) menunjukkan efek terapeutik dari sekretome yang diturunkan dari sel ginjal primer pada perbaikan ginjal. Mereka mengumpulkan bagian-bagian EV dari sel tubulus ginjal tikus dan secara intravena menyuntikkan EV ke dalam model iskemia ginjal pada tikus. Injeksi EV secara signifikan meningkatkan fungsi ginjal dan mengurangi kerusakan tubulus dan fibrosis. Mereka menyarankan bahwa efek terapeutik oleh terapi EV kemungkinan karena pengurangan transkriptom ginjal besar yang diamati setelah iskemia.

Sekretom yang berasal dari embryonic stem cells (ESC), dan induced pluripotent stem cell (iPSC) juga telah dipelajari. Beberapa laporan menggunakan sekretom yang diturunkan dari ESC menunjukkan imunosupresi dan kemampuan pertumbuhan sel, dan

telah menyarankan bahwa sistem ini dapat digunakan sebagai pilihan terapi untuk pengobatan ginjal.⁸⁰⁻⁸² Satu studi yang dilakukan oleh van Koppen et al. menggunakan model CKD tikus untuk memeriksa hasil terapi dari secretome yang diturunkan dari ESC. Injeksi intravena ke tikus CKD menunjukkan bahwa sekretom yang diturunkan dari MSC embrionik manusia menurunkan perkembangan CKD dan memperbaiki cedera tubulus dan glomerulus. Mereka menyarankan bahwa efek terapeutik kemungkinan karena peningkatan regenerasi sel endotel melalui perbaikan kerusakan DNA aktif. Menariknya, mereka juga menyebutkan bahwa pengobatan eksosom saja dari sekretom yang diturunkan dari MSC tidak efektif dalam peningkatan fungsi ginjal. Temuan ini menunjukkan bahwa penggabungan faktor terlarut dan EV sangat penting untuk memfasilitasi hasil terapi maksimal dari CKD (Ishiuchi et al, 2020a).

Demikian juga, secretome yang diturunkan dari iPSC telah terbukti memiliki efek antioksidan, anti-inflamasi, dan anti-apoptosis. Sebuah studi oleh Li et al. menunjukkan efek anti-inflamasi dari secretome yang diturunkan dari iPSC. Mereka menunjukkan penekanan makrofag inflamasi protein-2, malondialdehid, dan peningkatan total glutathione dan penghambatan jalur PI3K/Akt. Lebih lanjut, sekretom yang diturunkan dari iPSC secara signifikan meningkatkan penghasilan protein-10 yang diinduksi gamma interferon (IP-10) dan mRNA, mengurangi kerusakan jaringan. Hasil ini menunjukkan efek perlindungan dari secretome yang diturunkan dari iPSC melalui mekanisme pengaturan parakrin (Katagiri et al, 2017; Joseph et al, 2020).

Sesuai dengan penelitian sebelumnya, Tarng et al. telah menemukan bahwa

secretome yang diturunkan dari iPSC memfasilitasi perbaikan yang signifikan dari kondisi ginjal dan mengurangi apoptosis melalui pemberian intraperitoneal (IP). 93965 Penurunan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan ekspresi sitokin inflamasi diamati pada kelompok yang diobati dengan iPSC secretome. Mereka menyarankan bahwa peningkatan fungsi ginjal disebabkan oleh down-regulation dari jalur yang berhubungan dengan stres oksidatif pada iskemia ginjal (Ishiuchi et al, 2020b). Berdasarkan hasil yang didapatkan pada efek angiogenik sekretom MSC, ESC dan iPSC, sekretom tersebut dapat diandalkan dalam meningkatkan fungsi ginjal, endothelial progenitor cells (EPC) dapat menjadi sumber sekretom yang menjanjikan, dimana EPC telah didapatkan mampu meningkatkan angiogenesis dan neovasculogenesis (Koyano et al, 2019; Kumar et al, 2021).

Tabel 2.1. Riset MSCs pada Cidera Ginjal

Peneliti	Model Cidera	Jenis Stem Cells atau Secretome	Desain Penelitian	Kesimpulan Utama
Valizadeh Gorji A, Fakhredini F, Soltanpour F, Mansouri E, 2025	Acute Kidney Injury (AKI) akibat glycerol-induced rhabdomyolysis pada tikus	Secretome dari adult rat kidney-derived mesenchymal stem cells (KD-MSC secretome)	Studi pre-klinis in vivo pada tikus. AKI diinduksi dengan injeksi intramuskular gliserol (10 ml/kg). Secretome diberikan intravena (30 µg/kg) selama 3 hari. Evaluasi fungsi ginjal (BUN, kreatinin, albumin), histopatologi ginjal (PAS staining), serta ekspresi miR-375 dan miR-494 menggunakan qRT-PCR.	Secretome KD-MSC secara signifikan memperbaiki fungsi ginjal dan struktur histologis, ditunjukkan oleh penurunan BUN, kreatinin, dan albumin. Efek protektif dimediasi melalui regulasi miRNA (penurunan miR-375 dan miR-494) yang berperan dalam cedera ginjal akut, menunjukkan mekanisme parakrin secretome dalam perbaikan AKI.

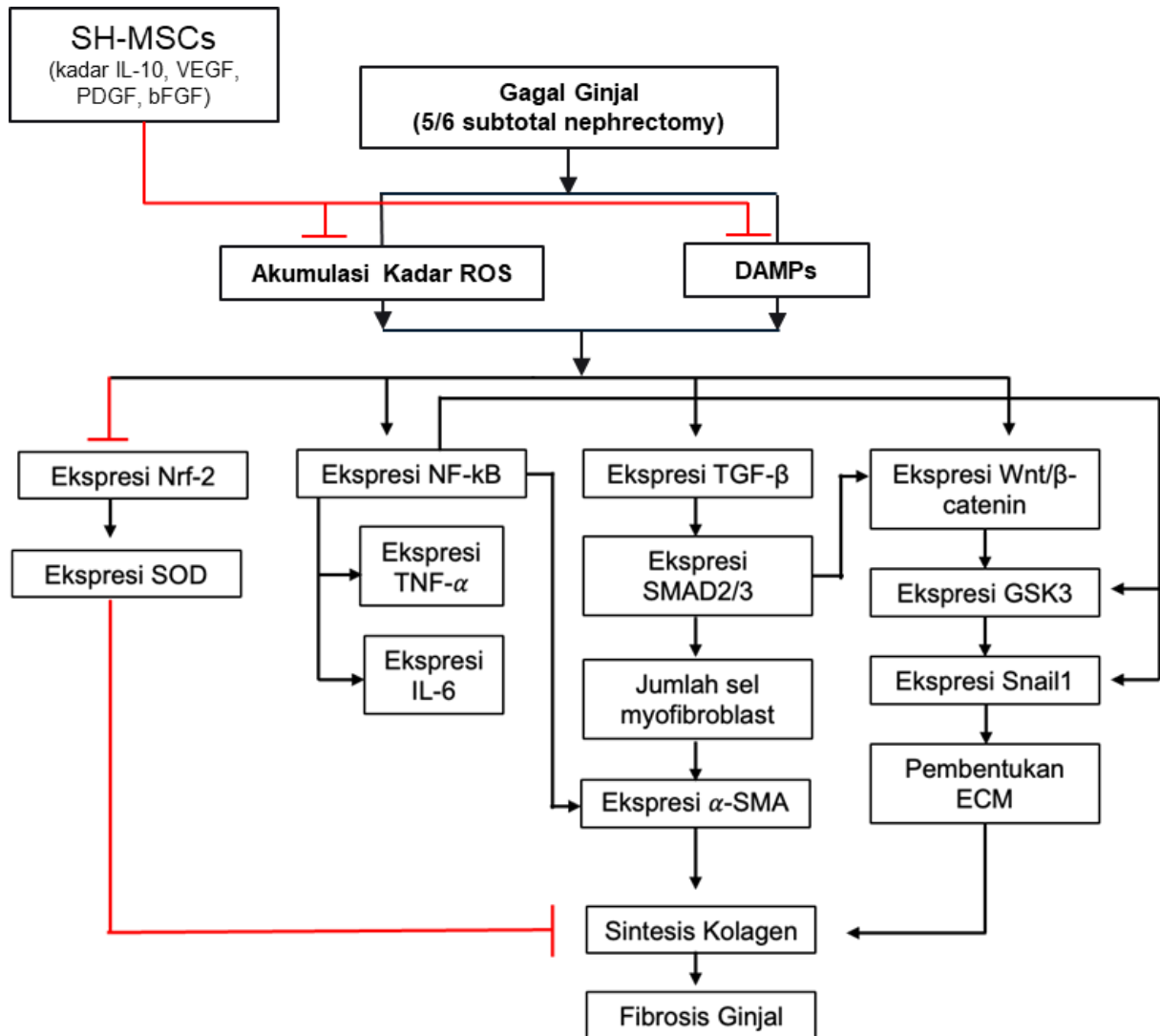
Liao et al., 2024	Cedera ginjal akut in vitro akibat hipoksia kimia (DFO-induced hypoxia) pada sel epitel tubulus ginjal	Human Umbilical Cord MSC–Conditioned Medium (UC-MSC-CM)	Studi eksperimental in vitro menggunakan sel NRK-52E (rat renal proximal tubular epithelial cells). Hipoksia dimodelkan dengan 25 μ M Deferoxamine (DFO) selama 24 jam. Sel dipretreatment dan dikultur dengan MSC-CM, lalu dianalisis viabilitas sel (CCK-8), ekspresi α -SMA, TGF- β 1, HIF-1 α , dan NCoA-1 dengan western blot dan imunofluoresensi.	MSC-CM memberikan efek protektif terhadap RTEC dengan menghambat induksi hipoksia dan transisi profibrotik, ditunjukkan oleh penurunan ekspresi HIF-1 α , NCoA-1, TGF- β 1, dan α -SMA. MSC-CM berpotensi menekan proses awal fibrosis dan kerusakan ginjal akibat hipoksia.
Ullah MM, Collett JA, Monroe JC, Traktuev D, Coleman M, March KL, Basile DP, 2024	Acute Kidney Injury (AKI) akibat bilateral renal ischemia–reperfusion (I/R) pada tikus	Secretome dari human adipose stromal cells (ASC-CS)	Studi pre-klinis in vivo dan in vitro. AKI diinduksi dengan bilateral I/R. 24 jam pasca-cedera, tikus dirandomisasi berdasarkan kadar kreatinin plasma dan diberi ASC-CS secara subkutan (2 mg protein/kg) atau vehicle. Evaluasi fungsi ginjal (plasma kreatinin), kerusakan jaringan, inflamasi, serta marker angiogenesis/inflamasi (angiopoietin-2).	Pemberian ASC-CS secara subkutan mempercepat pemulihan fungsi ginjal, terutama pada AKI berat. Efek protektif dikaitkan dengan penurunan inflamasi ginjal, kerusakan jaringan, angiopoietin-2, serta inhibisi aktivasi Th17, menunjukkan peran imunomodulator dan anti-inflamasi secretome dalam

Studi in vitro menilai perbaikan AKI.
efek ASC-CS
terhadap aktivasi
Th17 lymphocytes
dari ginjal yang
cedera.

Alasmari WA et al., 2022	Chronic Kidney Disease (CKD) pascamenopaus e pada tikus	Bone marrow– derived MSCs (BM- MSCs) dan eksosom BM-MSCs	Studi pre-klinis in vivo pada tikus betina albino usia 8 bulan. Model CKD pascamenopause dibuat dengan bilateral ovariectomy. Tikus dibagi menjadi kelompok tanpa terapi, terapi BM- MSCs (2×10^6 sel), atau eksosom BM- MSCs (100 µg) melalui injeksi vena ekor. Evaluasi dilakukan hingga 8 minggu, meliputi fungsi ginjal (kreatinin, BUN, protein urin), stres oksidatif (MDA), antioksidan (SOD, GPx, CAT), histopatologi ginjal, ekspresi KIM-1, serta gen inflamasi (TNF- α , IL-6, COX-2) dan kerusakan ginjal.	Eksosom BM- MSCs secara signifikan memperbaiki fungsi dan struktur ginjal, menurunkan stres oksidatif, meningkatkan pertahanan antioksidan (SOD, GPx, CAT), serta menekan inflamasi kronik pada CKD pascamenopause. Efek eksosom lebih kuat dibandingkan terapi sel BM- MSCs, menunjukkan potensi besar cell- free therapy dalam CKD.
--------------------------------	--	--	---	--

Tang, H., Zhang, P., Zeng, L. et al., 2021	Fibrosis ginjal / TIF pada tikus akibat adenine- induced nephropathy	Bone marrow– derived MSCs (BM- MSCs)	Studi pre-klinis in vivo dan in vitro. Model TIF diinduksi dengan adenine per oral pada tikus. BM- MSCs diberikan melalui injeksi vena ekor. Evaluasi fibrosis ginjal menggunakan Masson, Sirius Red, IHC, dan western blot. Analisis proteomik ginjal dengan iTRAQ-based mass spectrometry. Studi mekanistik lanjutan dilakukan in vitro pada sel HK-2 dengan knockdown dan overexpression galectin-3 menggunakan lentiviral vector.	MSCs memperbaiki fibrosis ginjal dengan menurunkan marker profibrotik (α -SMA, kolagen I–III, TGF- β 1, p- Smad2/3) dan inflamasi (IL-6, IL- 1 β , TNF- α). Mekanisme antifibrotik dimediasi melalui inhibisi jalur galectin- 3/Akt/GSK3 β /Snail , sehingga menekan EMT dan progresi fibrosis ginjal.
---	--	--	---	--

C. Kerangka Teori



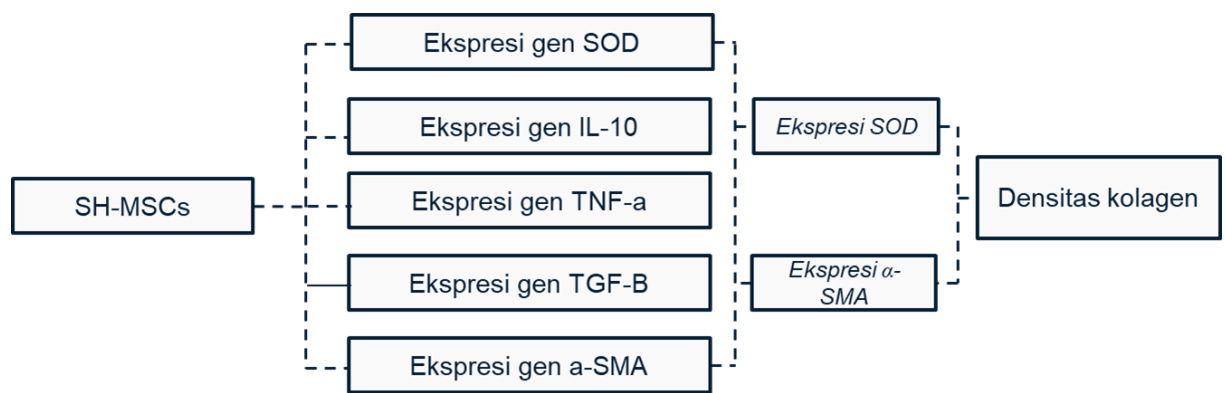
Gambar 2.7. Kerangka Teori

Keterangan :

- **SH-MSCs** : Secretome Hypoxia-conditioned Mesenchymal Stem Cells
- **IL-10** : Interleukin-10
- **PDGF** : Platelet-Derived Growth Factor
- **VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor
- **bFGF** : basic Fibroblast Growth Factor (FGF-2)
- **ROS** : Reactive Oxygen Species
- **DAMPs** : Damage-Associated Molecular Patterns

- **Nrf-2** : *Nuclear factor erythroid 2–related factor 2*
- **SOD** : *Superoxide Dismutase*
- **NF- κ B** : *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
- **TNF- α** : *Tumor Necrosis Factor-alpha*
- **IL-6** : *Interleukin-6*
- **TGF- β** : *Transforming Growth Factor-beta*
- **SMAD2/3** : *SMAD family member 2 and 3 (intracellular mediators of TGF- β signaling)*
- **α -SMA** : *Alpha-Smooth Muscle Actin*
- **Wnt/ β -catenin** : *Wingless-related integration site / beta-catenin signaling pathway*
- **GSK-3** : *Glycogen Synthase Kinase-3*
- **Snail1** : *Snail Family Transcriptional Repressor 1*
- **ECM** : *Extracellular Matrix*

D. Kerangka Konsep



Gambar 2.8. Kerangka Konsep

E. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap ekspresi gen SOD, NRF2, IL-10, α -SMA dan SNAIL pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol
2. Terdapat pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap ekspresi protein TNF- α dan TGF- β pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok kontrol.

3. Terdapat pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap densitas kolagen pada tikus model gagal ginjal yang diinduksi subtotal nephrectomy dibandingkan kelompok control.