

DISERTASI

OSTEOBLASTOGENESIS PADA SEL PUNCA MESENKIMAL ADIPOSA PASIEN PENYAKIT GINJAL KRONIK YANG MENJALANI HEMODIALISIS



ARTARIA TJEMPAKASARI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

DISERTASI

**OSTEOBLASTOGENESIS PADA SEL PUNCA MESENKIMAL
ADIPOSA PASIEN PENYAKIT GINJAL KRONIK YANG
MENJALANI HEMODIALISIS**

ARTARIA TJEMPAKASARI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**OSTEOBLASTOGENESIS PADA SEL PUNCA MESENKIMAL
ADIPOSA PASIEN PENYAKIT GINJAL KRONIK YANG
MENJALANI HEMODIALISIS**

DISERTAS

Untuk Memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
Pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
dan dipertahankan di hadapan Panitia
Ujian Akhir Tahap 2 (Terbuka)

Pada hari : Kamis
Tanggal : 10 Februari 2022
Pukul : 10.00 – 12.00

Oleh :

**ARTARIA TJEMPAKASARI
011417017329**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

OSTEOBLASTOGENESIS PADA SEL PUNCA MESENKIMAL ADIPOSA
PASIEEN PENYAKIT GINJAL KRONIK YANG MENJALANI
HEMODIALISIS

TELAH DISETUJUI

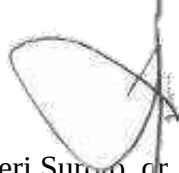
PADA TANGGAL : 10 FEBRUARI 2022

Oleh :
Promotor



Prof. Djoko Santoso, dr., Ph.D., SpPD., K-GH., FINASIM
NIP. 196104261986111001

Ko Promotor



Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K)
NIP. 196306171989021005

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Tahap 2 (Terbuka)
pada Tanggal 10 Februari 2022**

\

Panitia penguji:

- Ketua : 1. Dr. Achmad C. Romdhoni, dr., Sp.THT-KL (K), FICS
Anggota : 2. Prof. Djoko Santoso, dr., Ph.D., Sp.PD., K-GH., FINASIM
3. Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K)
4. Dr. Pamudji Utomo, dr., Sp.OT (K)
5. Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK (K)
6. Prof. Dr. Ami Ashariati, dr., Sp.PD., K-HOM., FINASIM
7. Prof. Dr. S. Ugroseno Yudho Bintoro, dr., Sp.PD.,
K-HOM.,FINASIM
8. Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT (K)
9. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, DVM., M.Sc

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 64/UN3.1.1/HK/2022
Tanggal 10 Februari 2022

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : Artaria Tjempakasari, dr., Sp.PD., K-GH
NIM : 011417017329
Program Studi : Ilmu Kedokteran
Alamat / No. Telp : Royal Ketintang Regency B-01 Surabaya/ 08123268590

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Disertasi saya ini adalah asli dan benar-benar hasil karya sendiri, dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatas namakan saya, serta bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (plagiatism) dari hasil karya orang lain. Disertasi belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik baik di Universitas Airlangga, maupun di Perguruan Tinggi lainnya;
2. Dalam Disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar kepustakaan;
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pemyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh. Karena karya tulis Disertasi ini, serta sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Surabaya, 20 Mei 2022

Yang membuat pernyataan,



Artaria Tjempakasari, dr., Sp.PD., K-GH

NIM. 011417017329

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji hanya milik Allah SWT semata, Tuhan Pencipta dan Pemelihara seluruh alam, Yang Maha Pengasih, yang menganugerahkan segala macam karunia, sehingga penyusun dapat menyelesaikan disertasi dengan judul “Osteoblastogenesis pada Sel Punca Mesenkimal Adiposa Pasien Penyakit Ginjal Kronik yang Menjalani Hemodialisis”

Disertasi ini dapat diselesaikan karena dorongan, bimbingan, saran dan perbaikan dari Promotor, Ko-Promotor dan Tim Penguji. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati perkenankanlah saya menghaturkan ucapan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Prof. Djoko Santoso, dr., Ph.D., Sp.PD., K-GH, FINASIM sebagai promotor yang penuh pengertian, perhatian dan kesabaran, serta banyak memberikan dukungan mental, semangat, motivasi, memberikan banyak solusi, dan berbagai kemudahan, meluangkan waktu untuk menerima konsultasi , memberikan arahan dan masukan selama menempuh Pendidikan Jenjang Doktor ini hingga disertasi ini terselesaikan dengan baik. Perkenankanlah saya menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya.

Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K) sebagai ko-promotor yang diantara kegiatan yang sangat padat, beliau menyempatkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan ide-ide dalam penelitian serta membantu kelancaran pelaksanaan penelitian dan penyusunan disertasi ini. Perkenankan saya menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya.

Prof. Dr. Moch. Nasih, SE., MT., Ak sebagai Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Fasichul Lisan, Apt sebagai mantan Rektor Universitas Airlangga atas

kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Pendidikan Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor.

Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG (K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U (K) dan Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes, SpPD., K-EMD, FINASIM sebagai mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, beserta jajaran dekanat atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan ini.

Dr. Joni Wahyuadi, dr., Sp.BS (K) sebagai Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Harsono, dr. dan Dodo Anando, dr., MPH., sebagai mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya beserta jajaran direksi dan staf yang telah memberikan dukungan dan fasilitas selama mengikuti Pendidikan Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG (K) sebagai Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor, Prof. Dr. Joewono Soeroso, dr., MSc., Sp.PD., K-R, FINASIM dan Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A (K) selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah banyak memberikan asuhan akademik dan bimbingan selama Pendidikan.

Prof. Djoko Santoso, dr., Ph.D., Sp.PD., K-GH, FINASIM, Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K), Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, DVM., M.Sc, Prof. Mochammad Thaha, dr., Ph.D., Sp.PD., K-GH, Prof. Dr. Haerani Rasyid, dr., MS., Sp.PD., K-GH., Sp.GK., FINASIM, Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes, Dr. Nurwasis, dr., Sp.M (K), Dr. Yetti Hendraningsih, dr., Sp.PK (K) selaku para penguji yang memberikan arahan, saran, dan perbaikan untuk disertasi saya ini.

Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K) sebagai Kepala Instalasi Bank Jaringan RSUD Dr. Soetomo yang telah memberikan bantuan dan fasilitas penelitian. Kepada Annas Prasetyo Adi, M.Si, Tri Rahayu, M.Si, Zahrotul Hasanah, S.Si, Dina Ayu Pratiwi, S.Si serta seluruh staf Instalasi Bank Jaringan yang banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.

Dr. Purwati, dr., Sp.PD., K-PTI, FINASIM sebagai Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan bantuan dan fasilitas penelitian. Kepada Deya Karsari, drh., M.Si dan Eryk Hendrianto, S.Si., M.Si serta seluruh staf laboratorium di Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga Surabaya yang banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.

Kepada seluruh staf pengajar pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga: Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS., Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D, Prof. Dr. Haryanto JM, dr., AIFM (Alm), Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D, Prof. Dr. Indri Safitri, dr., MS, Prof. Kuntoro, dr., MPH., Dr.PH, Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., Sp.BK, Prof. Dr. H. Muhammad Zainuddin, Apt, Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si, Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS, Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp. Par (K)., FIAC, Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, DVM., M.Sc, Widodo Jatim Pudjirahardjo, dr., MS., MPH., Ph.D, Dr. Florentina Sustini, dr., MS, Dr. Sunarjo, dr., MS., M.Sc, Dr. Susilowati Andajani, dr., MS, Dr. H. Budi Utomo, dr., MS, Siti Pariani, dr., MS., Ph.D, Dr. Phil. Toetik Koesbardiati, Dra., DFM, Dr. FM. Judajana, dr., Sp.PK (K-Im), Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes, Dr.

Ferdiansyah, dr.,Sp.OT, Dr. Yetti Hernaningsih, dr., Sp.PK (K) yang banyak memberikan ilmu dan wawasan dalam Pendidikan Doktor yang saya tempuh.

Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes selaku konsultan di bidang metodologi penelitian dan statistika yang sudah dengan sabar membimbing saya dalam mengembangkan dan memperkaya pemahaman saya tentang metodologi penelitian, Analisa statistiK serta aplikasi dalam penelitian saya.

Prof. Dr. Ugroseno Yudho Bintoro, dr., Sp.PD., K-HOM, FINASIM dan Jongky Hendro Prajitno, dr., Sp.PD., K-EMD sebagai Ketua dan Sekretaris Departemen Ilmu Penyakit Dalam, serta seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Widodo, dr., Sp.PD., K-GH selaku Ketua Divisi Ginjal dan Hipertensi Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga serta seluruh Staf Divisi Ginjal dan Hipertensi Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yaitu Pranawa, dr., Sp.PD., K-GH, Nunuk Mardiana, dr., Sp.PD., K-GH, Prof. Djoko Santoso, dr., Ph.D., Sp.PD., K-GH., FINASIM, Prof. Mochammad Thaha, dr., Ph.D., K-GH, Widodo, dr., Sp.PD., K-GH, Aditiawardana, dr., Sp.PD., K-GH, Ardhany,dr., Sp.PD, Satriyo Dwi Suryantoro, dr., SpPD, Dana Pramudya, dr., Sp.PD, Decsa Medika Hertanto, dr., Sp.PD, juga kepada Chandra Irwanadi Mohani, dr., Sp.PD., K-GH saya mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas bantuan, dorongan semangat, pengertian dan kerjasamanya selama saya menjalani Pendidikan Doktor ini.

Penghargaan yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada Prof. Moh Yogiantoro, dr., Sp.PD., K-GH (alm) selaku pembimbing akademik saya, yang

telah banyak memberikan bimbingan, dukungan, bantuan dan arahan sehingga saya dapat menyelesaikan Pendidikan Doktor ini.

Kepada Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si dan Dr. Reny I'thisom, S.Pi., M.Si serta tim kesekretariatan S3 yaitu Mbak Adhriyati, A.Md, Mbak Pramita Kurniasari, A.Md, Mbak Fitriyah Diah Isnaini, A. Md dan Mas Sobkhi Mafakir atas segala bantuan yang diberikan sejak awal masuk hingga menyelesaikan Pendidikan Jenjang Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Kepada Dr. Hanik Badriyah Hidayati, dr., Sp.S(K) yang membantu saya dalam memotivasi untuk segera menyelesaikan Pendidikan Doktor ini.

Kepada seluruh teman seperjuangan, senasib dan sepenanggungan Peserta Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Angkatan 2014, Dr. Awalia, dr., Sp.PD., K-R, Dr. Hermina Novida, dr., Sp.PD., K-EMD, Jongky Hendro Prajitno, dr., Sp.PD., K-EMD, Novira Widajanti, dr., Sp.PD., K-Ger, Lita Diah Rahmawati, dr., Sp.PD., K-R, Deasy Fetarayani, dr., Sp.PD., K-AI yang saling menemani, memotivasi, bekerja sama, saling mendukung dan mengingatkan serta memberi masukan. Terima kasih atas kerjasama, keakraban dan kekompakan yang terjalin selama ini.

Kepada seluruh staf dan tenaga pendidikan di Divisi Ginjal dan Hipertensi yang sudah banyak membantu saya, Mbak Aciek, Mbak Nuke, Mbak Rahma, Mbak Neni, Mbak Mariatul dan Mas Pandy Pranata, seluruh staf dan tenaga pendidikan di Departemen Penyakit Dalam Mbak Arinil, Mbak Rossy, Mbak Restu, Mbak Indah, Mbak Siti, Mbak Lily, Mbak Ulil, Mbak Lies, Mbak Suci, Mbak Jum, Mas Japar, Mas Leman, kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan yang diberikan kepada saya.

Akhirnya pada kesempatan ini, saya sampaikan rasa hormat, kasih sayang dan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

Ayah dan Ibu yang saya cintai Bapak Marlan, BA dan Ibu Astoetiati yang dengan segenap cinta, kasih sayang dan perjuangan dalam membesarkan, mendidik, memberikan suri tauladan, memberikan kebaikan dan doa sepanjang hidupnya untuk saya. Juga kepada Ayah dan Ibu Mertua saya Drs. Waloejo dan Ibu Rr. Soebandijah yang memberikan segenap cinta, kasih sayang, suri tauladan dan doa kepada saya.

Terima kasih yang tulus untuk suami saya Dr. Christrijogo Sumartono Waloejo, dr., Sp.An., KAR., KIC atas segala dorongan semangat dan dukungan baik moral maupun material, juga waktu dan motivasi yang diberikan sehingga saya bisa menyelesaikan Pendidikan Doktor ini.

Kepada saudara-saudara saya Aida Roosmawarni, Dra, Slamet Agus Wietjaksono, Aries Bramono, Drs, Lukito Mahendra, Ir, Artarika Pudaksari, Dra, juga saudara-saudara ipar Muharno, Theresia Novianingrum, Luki Wahyuningsih, Noery Aminah, juga saudara-saudara suami saya Yanik Nurasih, Prof. Dr. Budi Sugiarto, Ir, Dewi Susilowati, Dra, Edi Sudarmawan, Drs, Hera Lukitawati, Dra., Apt, Soni Wibisono, Drh, Frida Sulistyowati, Dra, terima kasih atas segala dukungan dan semangat yang diberikan.

Kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu- per- satu, terima kasih atas segala bantuan yang diberikan sehingga disertasi ini bisa diselesaikan. Mohon ma'af atas segala kesalahan dan kekhilafan yang pernah saya lakukan.

Semoga penelitian ini membawa manfaat bagi umat manusia dan bagi kemajuan Ilmu Kedokteran khususnya di bidang Ginjal dan Hipertensi. Semoga

Allah SWT senantiasa melimpahkan keberkahan dan hidayahNya kepada semua pihak yang telah berjasa besar dalam penyelesaian disertasi ini.

Januari, 2022

Penulis

RINGKASAN

Osteoblastogenesis pada Sel Punca Mesenkimal Adiposa Pasien Penyakit Ginjal Kronik yang Menjalani Hemodialisis

Penyakit ginjal kronik (PGK) merupakan masalah kesehatan yang mencakup 5-10% populasi dunia. Penyakit Ginjal Kronik dikaitkan dengan tingkat kematian yang tinggi, tantangan tampaknya tidak hanya mencegah timbulnya dan berkembangnya penyakit tetapi juga mengurangi morbiditas dan mortalitas. Kematian pada pasien dengan PGK, juga dapat dikaitkan dengan faktor risiko gangguan metabolisme mineral dan tulang yang terkait dengan PGK (GMT-PGK). Istilah GMT-PGK pertama kali diperkenalkan pada tahun 2006 oleh *Kidney Disease Improvement Global Outcomes* (KDIGO), dimana gangguan mineral dan tulang ini berhubungan dengan risiko penyakit kardiovaskular, dan patah tulang.

Remodelling tulang diperlukan untuk memperbaiki tulang lama yang rusak. *Remodelling* ini memerlukan komunikasi secara langsung dari sel-sel dari turunan osteoblas (osteoblas, osteosit, dan turunan sel-sel tulang) dan sel-sel resorpsi tulang (osteoklas). Osteoblas berasal dari sel punca mesenkim pada stroma sumsum tulang dan berperan terhadap sintesis matriks tulang dan selanjutnya mineralisasi. Diferensiasi osteoblas juga dikenal sebagai osteoblastogenesis, diatur oleh beberapa jalur sinyal dan faktor transkripsi.

Sel progenitor garis keturunan osteoblas mengalami tiga tahap perkembangan, yaitu proliferasi sel, sekresi matriks ekstraseluler (ECM) dan pematangan matriks serta mineralisasi matriks. Pre-osteoblas mengalami proliferasi aktif dan mengekspresikan kolagen, fibronektin, osteopontin (OPN) dan reseptor 1 *transforming growth factor*- β (TGF- β). Pada tahap kedua, proliferasi sel diturunkan regulasinya, dan osteoblas imatur berdiferensiasi menjadi osteoblas matur yang mensekresi *collagen type 1 alpha 1 chain* (COL1A1) sebagai konstituen utama matriks ekstraseluler (ECM) dan mengekspresikan alkali fosfatase (ALP) untuk mematangkan ECM. Mineralisasi matriks terjadi dalam proses yang sangat teratur melalui ekspresi berbagai penanda osteoblastogenik, seperti OPN, osteokalsin, dan *bone sialoprotein* (BSP), dengan ekspresi lanjutan dari ALP dan COL1A1. Osteokalsin mengatur metabolisme kalsium dan mendorong pengendapan mineral dalam ECM, OPN mendorong pembentukan dan mineralisasi tulang, dan BSP mendorong mineralisasi yang mengatur pembentukan kristal hidroksiapatit.

Osteoblastogenesis diatur oleh beberapa jalur sinyal, termasuk Wnt, PTH, BMP, TGF- β , *fibroblast growth factor* (FGF), dan *hedgehog* (Hh). Jalur sinyal Wnt memainkan peran penting dalam mendorong diferensiasi, proliferasi, dan pematangan osteoblas. BMP termasuk dalam superfamili TGF- β dan dilaporkan sebagai faktor osteoblastogenik. BMP-2 adalah penginduksi osteoblastogenesis yang poten dengan mengaktifkan jalur sinyal Smad. BMPs mengikat serin/treonin kinase reseptor II dan mengaktifkan reseptor I untuk mengirimkan sinyal melalui Smad1/5/8. Smad1/5/8 yang dikomplekskan dengan Smad4 ditranslokasi ke nukleus untuk mengaktifkan RunX2, yang mengarah pada peningkatan ekspresi penanda osteoblastogenik. TGF- β dapat secara langsung menginduksi

osteoblastogenesis dari sel progenitor osteoblas. Kemampuan TGF- β untuk meningkatkan proliferasi osteoblas, menghambat apoptosis osteoblas, merekrut prekursor osteoblas ke tempat pembentukan tulang dan menghasilkan ECM selama osteoblastogenesis telah didokumentasikan dengan baik. Pengikatan TGF- β ke TGF β RI dan TGF β RII memicu sinyal hilir melalui Smad2/3. Smad2/3 yang teraktivasi membentuk kompleks dengan Smad4 dan mengalami translokasi nukleus untuk menginduksi ekspresi gen osteoblastogenik yang dimediasi.

Kerusakan ginjal akan menyebabkan penurunan jumlah nefron yang berfungsi, sehingga terdapat gangguan ekskresi fosfat. Gangguan ekskresi ini akan menyebabkan retensi fosfat yang menimbulkan respon peningkatan kadar *Parathyroid Hormone* (PTH) dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF23) di sirkulasi. FGF-23 mengurangi konsentrasi fosfat dalam darah dengan dua mekanisme: mengurangi reabsorpsi fosfat oleh sel tubulus proksimal di ginjal dan menghambat enzim 1 *alfa-hidroksilase* di ginjal, sehingga mengurangi sintesis kalsitriol.

Penurunan kalsitriol menyebabkan berkurangnya penyerapan kalsium dari usus dan tubulus proksimal, sehingga menyebabkan kecenderungan hipokalsemia yang diimbangi dengan peningkatan produksi dan sekresi PTH. Efek akhirnya adalah hiperparatiroidisme sekunder, yang selanjutnya memperburuk hiperfosfatemia (umpan balik positif). Hiperparatiroidisme sekunder menyebabkan peningkatan mobilisasi kalsium dari tulang sehingga terjadi kelemahan tulang dan kecenderungan patah tulang. Kualitas dan kuantitas tulang yang tidak normal dapat menyebabkan peningkatan risiko patah tulang pada pasien PGK.

Toksin uremik yang berakumulasi di dalam darah pasien PGK menyebabkan penurunan sinyal Wnt/ β -catenin di osteoblas dan peningkatan ekspresi penghambat sinyal Wnt seperti sclerostin dan Dickkopf-1 (Dkk1). Jalur Wnt/ β -catenin telah dikenal sebagai pengatur utama pembentukan tulang. Kadar TGF- β plasma lebih tinggi secara signifikan pada pasien hemodialisis dan pada pasien dengan osteodistrofi renal.

Penyakit Ginjal Kronik berbagi banyak kesamaan fenotipik dengan penuaan ginjal, seperti sklerosis glomerulus, fibrosis interstisial, atrofi tubulus, hilangnya kemampuan perbaikan, dan penipisan vaskular, juga menunjukkan fenotipe geriatri sistemik, misalnya kalsifikasi vaskular, inflamasi uremik persisten, disfungsi kognitif, pengecilan otot, osteoporosis, dan kelemahan. Kita dapat berspekulasi bahwa PGK berkorelasi erat dengan penuaan seluler berdasar penemuan tersebut.

Penelitian sel punca mesenkimal in vitro telah meningkat selama beberapa tahun terakhir. Semua perkembangan penelitian in vitro memungkinkan untuk lebih memahami mekanisme bagaimana sel beroperasi di bawah kondisi eksperimental.

Penelitian ini menggunakan sel punca mesenkimal yang berasal dari jaringan adiposa orang sehat dan pasien Penyakit Ginjal Kronik yang menjalani hemodialisis (PGK-5D) untuk menganalisis penanda osteoblastogenesis pada pasien PGK-5D. Osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa ditandai dengan terdapatnya TGF- β 1, BMP-2 yang berperan pada jalur sinyal, Dkk-1 yang berperan sebagai penghambat jalur sinyal Wnt/ β -catenin, Smad3 sebagai sinyal hilir dari TGF- β , RunX2 sebagai faktor transkripsi dan regulator utama

osteoblastogenesis, alkali fosfatase, osteokalsin, dan deposit kalsium sebagai penanda adanya matriks termineralisasi sebagai hasil dari diferensiasi osteoblas. Pada penelitian ini juga akan memeriksa kadar β -galactosidase sebagai penanda penuaan sel. Konsentrasi parameter pada penelitian diukur dengan metode Elisa pada hari ke 4,7,14 dan 21.

Hasil penelitian diuji dengan uji T 2 kelompok bebas untuk menentukan perbedaan pada 2 kelompok. Pada hasil didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat, pada parameter TGF- β 1 meningkat pada hari ke 4, menurun pada hari ke 14, BMP-2 meningkat pada hari ke 7, Dkk-1 meningkat pada hari ke 7, Smad3 meningkat pada hari ke 7, RunX2 meningkat pada hari ke 7, alkali fosfatase meningkat pada hari ke 14, 21, osteokalsin meningkat pada hari ke 4, menurun pada hari ke 7 dan 14, deposit kalsium fosfat menurun pada hari ke 14,21 dan penuaan sel meningkat pada hari ke 7.

Osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D berbeda dibanding orang sehat. Analisis jalur menunjukkan terdapat hubungan antara Smad3 dan RunX2, dimana terdapat peningkatan konsentrasi Smad3 dan RunX2 yang seharusnya RunX2 menurun pada fase maturasi. Osteoblas mengalami kegagalan dalam maturasi dan menyebabkan kegagalan dalam mineralisasi matriks.

SUMMARY

Osteoblastogenesis in Adipose Mesenchymal Stem Cells in Chronic Kidney Disease Patient undergoing Hemodialysis

Chronic kidney disease (CKD) is a health problem covering 5-10% of the world's population. As CKD is associated with high mortality rates, the challenge appears to be preventing the onset and progression of the disease and reducing morbidity and mortality. Death in patients with CKD can also be associated with risk factors for bone and mineral metabolism disorders associated with CKD (GMT-CKD). The term GMT-PGK was first introduced in 2006 by Kidney Disease Improvement Global Outcomes (KDIGO), where mineral and bone disorders are associated with the risk of cardiovascular disease and fractures.

Bone remodeling is needed to repair old bones damaged. This remodeling requires direct communication of cells of the osteoblast lineage (osteoblasts, osteocytes, and bone-derived cells) and bone resorption cells (osteoclasts). Osteoblasts originate from mesenchymal stem cells in the bone marrow stroma and play a role in bone matrix synthesis and subsequent mineralization. Osteoblast differentiation, also known as osteoblastogenesis, is regulated by several signaling pathways and transcription factors.

Osteoblast lineage progenitor cells undergo three developmental stages: cell proliferation, extracellular matrix (ECM) secretion and matrix maturation, and matrix mineralization. Pre-osteoblasts undergo active proliferation and express collagen, fibronectin, osteopontin (OPN), and receptor 1 transforming growth factor- β (TGF- β). In the second stage, cell proliferation is downregulated, and immature osteoblasts differentiate into mature osteoblasts that secrete collagen type 1 alpha one chain (COL1A1) as a significant constituent of the extracellular matrix (ECM) and express alkaline phosphatase (ALP) for maturation of the ECM. Matrix mineralization occurs in a highly regulated process with various osteoclastogenic markers, such as OPN, osteocalcin (OCN), bone sialoprotein (BSP), with continued expression of ALP and COL1A1. Osteocalcin regulates calcium metabolism and promotes mineral deposition in the ECM. OPN encourages bone formation and mineralization, and BSP promotes mineralization, regulating hydroxyapatite crystal formation.

Osteoblastogenesis is regulated by several signaling pathways, including Wnt, PTH, BMP, TGF- β , fibroblast growth factor (FGF), and hedgehog (Hh). The Wnt signaling pathway plays an essential role in promoting osteoblasts' differentiation, proliferation, and maturation. BMP belongs to the TGF- β superfamily and is reported as an osteoclastogenic factor. BMP-2 is a potent inducer of osteoblastogenesis by activating the Smad signaling pathway. BMPs bind to serine/threonine kinase receptor II and activate receptor I to transmit signals via Smad1/5/8. Smad1/5/8 complexed with Smad4 was translocated to the nucleus to activate RunX2, leading to increased expression of osteoclastogenic markers. TGF- β can directly induce osteoblastogenesis of osteoblast progenitor cells. The ability of TGF- to increase osteoblast proliferation, inhibit osteoblast apoptosis, recruit osteoblast precursors to bone formation sites and generate ECM during osteoblastogenesis has been well documented. The binding of TGF- β to TGF β RI

and TGF β RII triggers downstream signals via Smad2/3. Activated Smad2/3 complexes with Smad4 undergo nuclear translocation to induce osteoclastogenic-mediated gene expression.

Kidney damage will cause a decrease in the number of functioning nephrons, resulting in impaired phosphate excretion. Impaired excretion will cause phosphate retention, which causes a response to increased levels of Parathyroid Hormone (PTH) and Fibroblast Growth Factor (FGF23) in the circulation. FGF-23 reduces phosphate concentration in the blood by two mechanisms: it reduces the reabsorption of phosphate by proximal tubular cells in the kidney. It inhibits the enzyme 1 α -hydroxylase in the kidney, thereby reducing calcitriol synthesis.

Reduction of calcitriol shows the decrease of calcium absorption from the intestine and proximal tubule. This reduction tendency toward hypocalcemia is offset by increased production and secretion of PTH. The net effect is secondary hyperparathyroidism, further exacerbating hyperphosphatemia (positive feedback). Secondary hyperparathyroidism causes increased calcium mobilization from the bones, resulting in bone weakness and a tendency to fracture. Abnormal bone quality and quantity can increase fracture risk in CKD patients.

Uremic toxins accumulate in the blood of CKD patients, such as indoxyl sulfate, cause decreased Wnt/ β -catenin signaling in osteoblasts and increased expression of Wnt signaling inhibitors such as sclerostin and Dickkopf-1 (Dkk1). The Wnt/ β -catenin pathway has been recognized as a primary regulator of bone formation.

Chronic Kidney Disease shares many phenotypic similarities with renal aging, such as glomerular sclerosis, interstitial fibrosis, tubular atrophy, loss of reparability, and vascular thinning. It exhibits systemic geriatric phenotypes, e.g., vascular calcification, persistent uremic inflammation, cognitive dysfunction, wasting: muscle tone, osteoporosis, and weakness. Based on these findings, we can speculate that CKD is closely correlated with cellular senescence.

In vitro mesenchymal stem cell research has increased over the past few years. All these developments in vitro research make it possible to understand better the mechanisms by which cells operate under experimental conditions.

This study used mesenchymal stem cells derived from adipose tissue of healthy individuals and Chronic Kidney Disease patients undergoing hemodialysis (CKD-5D) to analyze markers of osteoblastogenesis in CKD-5D patients. The presence of TGF- β 1 characterizes osteoblastogenesis in adipose mesenchymal stem cells, BMP-2 which plays a role in the signaling pathway, Dkk-1 which acts as an inhibitor of the Wnt/ β -catenin signaling pathway, Smad3 as downstream signaling of TGF- β , RunX2 as a transcription factor and significant osteoblastogenesis regulators, alkaline phosphatase, osteocalcin, and calcium deposits as markers of the presence of mineralized matrix as a result of osteoblast differentiation. This study will also examine the levels of β -galactosidase as a marker of cell aging. The concentration of parameters in the study was measured by the Elisa method on days 4, 7, 14, and 21.

An independent group T-test tested the study results to determine differences in the two groups. In the results, there was a significant difference ($p < 0.05$) in CKD-5D patients compared to healthy people, on the parameter TGF- β 1, increased on day 4, decreased on day 14, BMP-2 increased on day 7, Dkk- 1

increased on day 7, Smad3 increased on day 7, RunX2 increased on day 7, alkaline phosphatase increased on day 14, 21, osteocalcin increased on day 4, decreased on day 7 and 14, decreased calcium phosphate deposits on day 14,21 and cell aging increased on day 7.

Osteoblastogenesis in adipose mesenchymal stem cells in CKD-5D patient differs from that in healthy individual. Path analysis showed that there was a relationship between Smad3 and RunX2, where there was an increase in the concentration of Smad3 and RunX2 which should have decreased in the maturation phase of RunX2. Osteoblasts fail to mature and cause failure in matrix mineralization.

ABSTRAK

Osteoblastogenesis pada Sel Punca Mesenkimal Adiposa Pasien Penyakit Ginjal Kronik yang menjalani Hemodialisis

Artaria Tjempakasari

Latar belakang: Penyakit ginjal kronik (PGK) merupakan masalah kesehatan yang dikaitkan dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Gangguan mineral dan tulang merupakan komplikasi pada PGK dengan risiko patah tulang dan penyakit kardiovaskuler. Sel punca mesenkimal mampu berdiferensiasi menjadi osteoblas dan regulasinya diatur oleh jaringan sitokin dan faktor transkripsi.

Tujuan: Membuktikan terdapatnya perbedaan osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibanding orang sehat.

Metode: Sampel penelitian adalah sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK yang menjalani hemodialisis (PGK-5D) dan orang sehat. Osteoblastogenesis yang terjadi dinilai dengan mengukur konsentrasi TGF- β 1, BMP-2, Dkk-1, Smad3, RunX2, Alkali fosfatase, osteokalsin, deposit kalsium dan penuaan sel pada media kultur. Konsentrasi parameter tersebut diukur dengan metode Elisa pada hari ke 4,7,14 dan 21.

Hasil: Pada uji T 2 kelompok bebas didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada pasien PGK-5D, pada parameter TGF- β 1 meningkat pada hari ke 4, menurun pada hari ke 14, BMP-2 meningkat pada hari ke 7, Dkk-1 meningkat pada hari ke 7, Smad3 meningkat pada hari ke 7, RunX2 meningkat pada hari ke 7, alkali fosfatase meningkat pada hari ke 14, 21, osteokalsin meningkat pada hari ke 4, menurun pada hari ke 7 dan 14, deposit kalsium fosfat menurun pada hari ke 14,21 dan penuaan sel meningkat pada hari ke 7.

Kesimpulan: Osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D berbeda dibanding orang sehat. Osteoblas mengalami kegagalan dalam maturasi dan menyebabkan kegagalan dalam mineralisasi matriks.

Kata kunci: sel punca mesenkimal adiposa, osteoblastogenesis, penyakit ginjal kronik, gangguan mineral tulang pada PGK

ABSTRACT

Osteoblastogenesis in Adipose Mesenchymal Stem Cells in Chronic Kidney Disease Patient undergoing Hemodialysis

Artaria Tjempakasari

Background: Chronic kidney disease (CKD) is a health problem that is associated with high morbidity and mortality. Mineral and bone disorders are complications of CKD with a risk of fractures and cardiovascular disease. Its pathophysiology is not fully understood. Osteoblasts play an important role in remodeling. Mesenchymal stem cells are capable of differentiation into osteoblasts and their regulation is regulated by a network of cytokines and transcription factors.

Objective: To prove that there are differences in osteoblastogenesis in adipose mesenchymal stem cells in CKD-5D patients compared to healthy people.

Methods: The research sample was adipose mesenchymal stem cells from CKD patients undergoing hemodialysis (PGK-5D) and healthy people. Osteoblastogenesis was assessed by measuring the concentrations of TGF- β 1, BMP-2, Dkk-1, Smad3, RunX2, alkaline phosphatase, osteocalcin, calcium deposits and cell aging on culture media. The concentration of these parameters was measured by the Elisa method on days 4,7,14 and 21.

Results: In the independent group T test, there was a significant difference ($p < 0.05$) in CKD-5D patients, on the parameter TGF- β 1 increased on day 4, decreased on day 14, BMP-2 increased on day 7, Dkk-1 increased on day 7, Smad3 increased on day 7, RunX2 increased on day 7, alkaline phosphatase increased on day 14, 21, osteocalcin increased on day 4, decreased on day 7 and 14, calcium phosphate deposits decreased on day 14,21 and cell aging increased on day 7.

Conclusions: Osteoblastogenesis in adipose mesenchymal stem cells in PGK-5D patient is different from that in healthy people. Osteoblasts fail to mature and cause failure in matrix mineralization

Keywords: adipose mesenchymal stem cells, osteoblastogenesis, chronic kidney disease, bone mineral disorders in CKD

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Halaman Awal	iii
Halaman Prasyarat Gelar Doktor pada Ujian Akhir Tahap 2	iv
Lembar Pengesahan	v
Penetapan Panitia Penguji	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
RINGKASAN	xiv
SUMMARY	xvii
ABSTRAK	xx
ABSTRACT	xxi
DAFTAR ISI	xxi
DAFTAR TABEL	xxvii
DAFTAR GAMBAR	xxvii
DAFTAR LAMPIRAN	xxxi
DAFTAR ARTI / LAMBANG / SINGKATAN / ISTILAH	xxxii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	6
1.3 Tujuan penelitian	7
1.3.1 Tujuan penelitian umum	7
1.3.2 Tujuan penelitian khusus	7
1.4 Manfaat penelitian	8
1.4.1 Manfaat teoritis	8
1.4.2 Manfaat ilmu pengetahuan	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Penyakit Ginjal Kronik	9
2.1.1 Definisi	9
2.1.2 Klasifikasi Penyakit Ginjal Kronis	9
2.1.3 Epidemiologi	11
2.1.4 Patofisiologi	12
2.1.5 Presentasi Klinis, Tanda, dan Gejala Toksin Uremik	13
2.1.6 Deteksi dan Diagnosis	13

2.1.7 Komplikasi	14
2.1.8 Tatalaksana	14
2.1.9 Terapi Pengganti Ginjal	15
2.2 Tulang dan Remodelling Tulang	15
2.2.1 Regulasi sistemik pada remodelling tulang	16
2.2.2 Regulasi growth factor dari remodelling tulang	22
2.2.3 Osteoblastogenesis	27
2.2.4 Diferensiasi dan Fungsi Osteoblas	28
2.2.5 Faktor yang memediasi diferensiasi osteoblastik	29
2.2.6 Jalur Sinyal dalam Osteoblastogenesis	31
2.3 Gangguan Mineral Tulang pada PGK (GMT-PGK)	35
2.3.1 Definisi	35
2.3.2 Epidemiologi	36
2.3.3 Patofisiologi GMT-PGK	39
2.3.3.1 Abnormalitas metabolisme mineral	39
2.3.3.2 Abnormalitas dari <i>turnover</i> , mineralisasi, volume, pertumbuhan linear, atau kekuatan tulang	45
2.3.3.3 Klasifikasi Ekstraskeletal	48
2.3.3.4 Efek toksin uremik – indoksil sulfat pada sistem tulang rangka	49
2.3.3.5 Peran Penghambat Wnt pada GMT-PGK	51
2.3.3.6 Peran TGF- β pada GMT-PGK	53
2.3.4 Gejala Klinis	54
2.3.5 Diagnosis	55
2.3.6 Tatalaksana	60
2.4 Sel Punca Mesenkimal	63
2.4.1 Diferensiasi Sel Punca Mesenkimal	65
2.4.2 Penuaan pada Sel Punca Mesenkimal	68
2.4.3 Jaringan Adiposa: Asal, Tipe, dan Distribusi	70
2.4.4 Jaringan Adiposa sebagai Sumber Sel Punca	71
2.4.5 Proses dalam Kultur ASC	73
2.4.6 Proses dalam Diferensiasi Sel Punca	74
2.4.7 Jaringan Adiposa Pasien PGK yang Menjalani Hemodialisis	77
2.4.8 Sekretom Sel Punca	79
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	82
3.1 Kerangka Konseptual	82
3.2 Hipotesis Penelitian	85

BAB 4 METODE PENELITIAN.....	87
4.1 Rancangan penelitian.....	87
4.2 Subjek dan sampel penelitian	89
4.2.1 Subjek penelitian.....	89
4.2.2 Sampel penelitian.....	89
4.2.3 Kriteria untuk pasien PGK-5D.....	90
4.2.4 Kriteria untuk orang sehat	91
4.3 Besar sampel.....	91
4.4 Variabel penelitian.....	92
4.4.1 Klasifikasi variabel	92
4.5 Definisi operasional.....	92
4.6 Bahan penelitian dan tata cara perlakuan	96
4.6.1 Isolasi dan kultur jaringan adiposa	96
4.6.2 Evaluasi dan diferensiasi osteogenik	96
4.6.3 Pemeriksaan imunofluoresens	97
4.6.4 <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>	98
4.6.5 Pewarnaan Alizarin Red	98
4.6.6 Penuaan sel.....	99
4.7 Lokasi dan waktu penelitian.....	99
4.8 Prosedur pengambilan data.....	99
4.9 Cara pengolahan data dan analisis data	99
4.10 Alur penelitian	101
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS.....	102
5.1 Data Penelitian	102
5.1.1 Karakteristik subjek penelitian	102
5.1.2 Isolasi dan kultur jaringan serta karakterisasi sel punca	102
5.1.3 Pewarnaan Alizarin red untuk deposit kalsium	111
5.1.4 Analisis deskriptif penanda osteoblastogenesis	115
5.2 Analisis dan hasil penelitian	118
5.2.1 Perbandingan konsentrasi TGF- β 1 sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	118
5.2.2 Perbandingan konsentrasi BMP-2 sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	121
5.2.3 Perbandingan konsentrasi Dickkopf-1 sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat.....	124
5.2.4 Perbandingan konsentrasi Smad3 sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	127

5.2.5 Perbandingan konsentrasi RunX2 sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	130
5.2.6 Perbandingan konsentrasi alkali fosfatase sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5 terhadap orang sehat.....	133
5.2.7 Perbandingan konsentrasi Osteokalsin sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat.....	136
5.2.8 Perbandingan konsentrasi deposit kalsium fosfat sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	139
5.2.9 Perbandingan konsentrasi sel menua pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat.....	141
5.2.10 Mekanisme osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D.....	144
BAB 6 PEMBAHASAN	149
6.1 Data Penelitian.....	149
6.1.1 Karakteristik subjek penelitian	149
6.1.2 Isolasi dan kultur jaringan serta karakteristik sel punca.....	152
6.1.3 Pewarnaan Alizarin red untuk deposit kalsium	155
6.2 Analisis hasil penelitian.....	155
6.2.1 Perbandingan konsentrasi TGF- β 1 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	155
6.2.2 Perbandingan konsentrasi BMP-2 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	161
6.2.3 Perbandingan konsentrasi Dkk-1 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	162
6.2.4 Perbandingan konsentrasi Smad3 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	164
6.2.5 Perbandingan konsentrasi RunX2 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	165
6.2.6 Perbandingan konsentrasi alkali fosfatase pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	166
6.2.7 Perbandingan konsentrasi osteokalsin sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	167
6.2.8 Perbandingan konsentrasi deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	169
6.2.9 Perbandingan konsentrasi sel menua pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat	169
6.2.10 Mekanisme osteoblastogenesis sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D terhadap orang sehat.....	171
6.3 Temuan Akademis Baru	175
6.4 Keterbatasan Penelitian	177

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	178
7.1 Kesimpulan.....	178
7.2 Saran	180
DAFTAR PUSTAKA	181
LAMPIRAN.....	193

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi penyakit ginjal kronis berdasar NKF-K/DOQI.....	9
Tabel 2.2	Kategori laju filtrasi glomerulus pada pasien PGK berdasar KDIGO	10
Tabel 2.3	Kategori albuminuria pada PGK berdasar KDIGO.....	10
Tabel 2.4	Penyederhanaan klasifikasi PGK berdasar penyebab	11
Tabel 4.1	Definisi operasional variabel penelitian.....	93
Tabel 5.1	Karakteristik subjek penelitian.....	102
Tabel 5.2	Hasil analisis deskriptif penanda osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa.....	116
Tabel 5.3	Hasil uji normalitas konsentrasi TGF- β 1 pada sel punca mesenkimal adiposa	119
Tabel 5.4	Hasil Uji <i>Posthoc</i> (LSD) (TGF- β 1).....	121
Tabel 5.5	Hasil uji normalitas konsentrasi BMP-2 pada sel punca mesenkimal adiposa	122
Tabel 5.6	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) (BMP2)	124
Tabel 5.7	Hasil uji normalitas konsentrasi Dickpoff-1 pada sel punca mesenkimal adiposa	125
Tabel 5.8	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) (<i>Dickkpof1</i>)	127
Tabel 5.9	Hasil uji normalitas konsentrasi Smad3 pada sel punca mesenkimal adiposa	128
Tabel 5.10	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) (Smad3)	130
Tabel 5.11	Hasil uji normalitas konsentrasi RunX2 pada sel punca mesenkimal adiposa	131
Tabel 5.12	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) (Runx2).....	133
Tabel 5.13	Hasil uji normalitas konsentrasi alkali fosfatase pada sel punca mesenkimal adiposa	134
Tabel 5.14	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) (<i>ALP</i>)	136
Tabel 5.15	Hasil uji normalitas konsentrasi Osteokalsin pada sel punca mesenkimal adiposa	137
Tabel 5.16	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) (Osteokalsin).....	139
Tabel 5.17	Hasil uji normalitas konsentrasi deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa.....	140
Tabel 5.18	Uji <i>Posthoc</i> (<i>Games-Howell</i>) deposit kalsium fosfat.....	141
Tabel 5.19	Hasil uji normalitas konsentrasi deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa.....	142
Tabel 5.20	Uji <i>Posthoc</i> (LSD) sel menua.....	143
Tabel 5.21	Hasil analisis jalur pada pasien PGK-5D	147

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Representasi skema diferensiasi osteoblas	29
Gambar 2.2 Sinyal TGF- β pada pembentukan tulang.....	33
Gambar 2.3 Sinyal BMP-2 pada pemebentukan tulang	35
Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian	82
Gambar 4.1 Rancangan penelitian	88
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	101
Gambar 5.1 Sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D pada passage 3 .	103
Gambar 5.2 Sel punca mesenkimal adiposa orang sehat pada passage 0	104
Gambar 5.3 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD73 positif.....	106
Gambar 5.4 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD90 positif.....	106
Gambar 5.5 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD105 positif.....	107
Gambar 5.6 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD34 negatif.....	107
Gambar 5.7 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD45 negatif.....	108
Gambar 5.8 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD73 negatif	108
Gambar 5.9 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD90 negatif	109
Gambar 5.10 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD105 negatif	109
Gambar 5.11 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD45 negatif	110
Gambar 5.12 Karakterisasi sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dengan imunofluoresens gambar ekspresi CD34 negatif	110
Gambar 5.13 Sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dikultur pada media osteogenik pada hari ke 14 dan diperiksa dengan pewarnaan Alizarin red	111
Gambar 5.14 Deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa orang sehat yang memberikan warna merah dengan pengecatan Alizarin red pada media osteogenik hari ke 14.....	112
Gambar 5.15 Sel punca mesenkimal adiposa orang sehat dikultur pada media osteogenik pada hari ke 21 dan diperiksa dengan pewarnaan Alizarin red	112

Gambar 5.16 Deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa orang sehat (P3 pembesaran 40x & 100x) dengan pengecatan Alizarin red pada media osteogenik hari ke 21	113
Gambar 5.17 Sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dikultur pada media osteogenik pada hari ke 14 dan diperiksa dengan pewarnaan Alizarin red	113
Gambar 5.18 Sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D (P3 pembesaran 40x & 100x) yang tidak memberikan warna merah dengan pewarnaan Alizarin red pada media osteogenik hari ke 14	114
Gambar 5.19 Sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dikultur pada media osteogenik pada hari ke 21 dan diperiksa dengan pewarnaan Alizarin red	114
Gambar 5.20 Sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D (P3 pembesaran 40x & 100x) yang tidak memberikan warna merah dengan pewarnaan Alizarin red pada media osteogenik hari ke 21	115
Gambar 5.21 Perbandingan konsentrasi rerata TGF- β (ng/L) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D	120
Gambar 5.22 Perbandingan konsentrasi rerata BMP2 (ng/mL) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D	123
Gambar 5.23 Perbandingan konsentrasi rerata Dickkopf1 (ng/mL) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D	126
Gambar 5.24 Perbandingan konsentrasi rerata Smad3 (ng/mL) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D	129
Gambar 5.25 Perbandingan konsentrasi rerata Runx2 (ng/mL) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D-5D	132
Gambar 5.26 Perbandingan konsentrasi rerata ALP (IU/L) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D	135
Gambar 5.27 Perbandingan ekspresi rerata Osteokalsin (ng/mL) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D	138
Gambar 5.28 Perbandingan kuantifikasi rerata konsentrasi deposit kalsium fosfat(mM) antar kelompok orang sehat dengan pasien PGK-5D.....	140
Gambar 5.29 Perbandingan konsentrasi rerata sel menua dengan pemeriksaan Beta-galactosidase (IU/L) antar kelompok pasien sehat dengan pasien PGK-5D	143
Gambar 5.30 Bagan jalur sinyal, faktor transkripsi dan penanda osteoblastogenesis pasien PGK-5D	144
Gambar 5.31 Konsep mekanisme osteoblastogenesis.....	147
Gambar 5.32 Hasil analisis jalur pada pasien PGK-5D	137
Gambar 6.1 Sinyal TGF- β /BMP/Smad pada penyakit ginjal	159

Gambar 6.2 Skema jalur sinyal Wnt, TGF- β , target transkripsi dan mediator dan BAMBI.....	160
---	-----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik.....	193
Lampiran 2. Penjelasan informasi	197
Lampiran 3. Pernyataan persetujuan	211
Lampiran 4. Proses penelitian	213
Lampiran 5. Hasil Uji Statistik.....	215
Lampiran 6. <i>Review</i> artikel yang telah dipublikasi	231

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

ABD	= <i>Adynamic Bone Disease</i>
ACR	= <i>Albumin Creatinin Ratio</i>
ActRIIA	= <i>Activin Receptor Type IIA</i>
ADAM-10	= <i>A Disintegrin And Metalloproteinase-10</i>
ADAM-17	= <i>A Disintegrin And Metalloproteinase-17</i>
ADSC	= <i>Adipose-Derived Stem Cell</i>
AER	= <i>Albumin Excretion Rate</i>
ALK	= <i>Activin Receptor-Like Kinase</i>
ALP	= <i>Alkaline Phosphatase</i>
APC	= <i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
ARS	= <i>Alizarin Red Staining</i>
ASC	= <i>Adipose Stem Cell</i>
Asc	= <i>Ascorbic Acid</i>
Atf4	= <i>Activating Transcription Factor-4</i>
AVF	= <i>Arteriovenous Fistula</i>
BAP	= <i>Bone-specific Alkaline Phosphatase</i>
BAT	= <i>Brown Adipose Tissue</i>
BLC	= <i>Bone-Lining Cell</i>
BMD	= <i>Bone Mineral Density</i>
BMI	= <i>Body Mass Index</i>
BMP	= <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
BMPR	= <i>Bone Morphogenetic Protein Receptor</i>
BMU	= <i>Bone Multicellular Units</i>
BR-Smad	= <i>BMP and differentiation factor activated R-SMAD</i>
BSP	= <i>Bone Sialoprotein</i>
CBF-1 α	= <i>Core-Binding Factor-1α</i>
CBP	= <i>cAMP Response Element Binding Protein</i>
CD	= <i>Cluster of Differentiation</i>
CFU	= <i>Colony Forming Unit</i>
CGRP-1	= <i>Calcitonin Gene-Related Peptide-1</i>
CI	= <i>Confidence Interval</i>
CKD	= <i>Chronic Kidney Disease</i>
CKI	= <i>Casein Kinase I</i>
COOH	= <i>Asam Alkanoat</i>
COL1A1	= <i>Collagen Type 1 Alpha 1 Chain</i>
Co-Smad	= <i>Co-mediator Smad</i>
CSF	= <i>Colony Stimulating Factor</i>
CT	= <i>Calcitonin</i>
CTR	= <i>Calcitonin Receptor</i>
CYP27B1	= <i>Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1</i>
DDR	= <i>DNA Damage Response</i>
Dex	= <i>Dexamethasone</i>
Dkk1	= <i>Dickopf-1</i>
Dlx	= <i>Distal-Less Homeobox</i>
DMEM/F-12	= <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>

dWAT	= <i>Dermal White Adipose Tissue</i>
Dvl	= <i>Disheveled</i>
ECM	= <i>Extracellular Matrix</i>
EGF	= <i>Epidermal Growth Factor</i>
eGFR	= <i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i>
EGFR	= <i>Epidermal Growth Factors and Receptor</i>
ELISA	= <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ER	= <i>Estrogen Receptor</i>
ERK	= <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
FCS	= <i>Fetal Calf Serum</i>
FGF	= <i>Fibroblast Growth Factor</i>
Fgfr	= <i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
FHL2	= <i>Four and a Half LIM domains protein 2</i>
FIAT	= <i>Factor Inhibiting Atf4-induced Transcription</i>
FITC	= <i>Fluorescein Isothiocyanate</i>
Frat-1	= <i>FRAT regulator of WNT signaling pathway 1</i>
Fz	= <i>Frizzled protein</i>
Fzd	= <i>Frizzled</i>
GBD	= <i>Global Burden Disease</i>
GC	= <i>Glucocorticoid</i>
GC1	= <i>Guanylate Cyclase-1</i>
GH	= <i>Growth Hormone</i>
GHBP	= <i>GH-Binding Protein</i>
GHR	= <i>Growth Hormone Receptor</i>
GIO	= <i>Glucocorticoid-Induced Osteoporosis</i>
GLP-1	= <i>Glukagon-Like Peptide Type 1</i>
GMT	= <i>Gangguan Mineral Tulang</i>
GPCR	= <i>G-Protein-Coupled Receptor</i>
GR	= <i>Glucocorticoid Receptor</i>
GSK3 β	= <i>Glycogen Synthase Kinase 3 Beta</i>
hASC	= <i>human Adipose-derived Stem Cell</i>
HCO ₃ ⁻	= <i>Bikarbonat</i>
HD	= <i>Haemodialysis</i>
HDAC	= <i>Histone Deacetylase</i>
HIF1	= <i>Hypoxia Inducible Factor-1</i>
HLA	= <i>Human Leucocyte Antigen</i>
HPT	= <i>Hiperparatiroidisme</i>
IgA	= <i>Immunoglobulin A</i>
Ihh	= <i>Indian hedgehog</i>
IGF-1	= <i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IGF-2	= <i>Insulin-like Growth Factor-2</i>
IGFBP	= <i>IGF-binding protein</i>
IL	= <i>Interleukin</i>
IL-1	= <i>Interleukin-1</i>
IL-6	= <i>Interleukin-6</i>
iPS	= <i>induced Pluripotent Stem</i>
iPTH	= <i>intact Parathyroid Hormone</i>

IS	= <i>Indoxyl Sulfate</i>
ISCT	= <i>The International Society for Cellular Therapy</i>
I-Smad	= <i>Inhibitory Smad</i>
JNK	= <i>c-Jun N-Terminal Kinase</i>
KDIGO	= <i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
KDOQI	= <i>Kidney Disease Outcomes Quality Initiative</i>
KLF4	= <i>Krüppel-Like Factor 4</i>
LCF	= <i>Lymphocyte Chemoattractant Factor</i>
Lef	= <i>Lymphoid Enhancer Factor</i>
LFG	= <i>Laju Filtrasi Glomerulus</i>
Lpr	= <i>Lipoprotein</i>
LRP5	= <i>Low-density lipoprotein receptor-related protein 5</i>
M-CSF	= <i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
MAPK	= <i>Mitogen activated protein kinase</i>
MBD	= <i>Metabolic Bone Disease</i>
MCP-1	= <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MDRD	= <i>Modified of Diet in Renal Disease</i>
MKK	= <i>MAPK kinase</i>
MKP-1	= <i>Mitogen Kinase Phosphatase-1</i>
MMP-13	= <i>Matriks Metaloprotease-13</i>
MOcy	= <i>Mature Osteocyte</i>
mRNA	= <i>messenger Ribonucleic Acid</i>
MSC	= <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
MSC-MV	= <i>Microvesicles Derived From Mesenchymal Stem Cells</i>
Myo D	= <i>Myoblast Determination</i>
NCoR	= <i>Nuclear Receptor Corepressor</i>
NH ₂	= <i>Azanide</i>
NKF	= <i>National Kidney Foundation</i>
OB	= <i>Osteoblas</i>
OCN	= <i>Osteocalcin</i>
OCT4	= <i>Octamer-Binding Transcription Factor 4</i>
Ocy	= <i>Osteosit</i>
OF	= <i>Osteitis Fibrosa</i>
ON	= <i>Osteonectin</i>
OPG	= <i>Osteoprotegerin</i>
OPN	= <i>Osteopontin</i>
OS	= <i>Osteoid</i>
Osx	= <i>Osterix</i>
PA	= <i>Proliferative Activity</i>
PBS	= <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PDT	= <i>Population Doubling Time</i>
PGK	= <i>Penyakit Ginjal Kronik</i>
PGTA	= <i>Penyakit Ginjal Tahap Akhir</i>
pH	= <i>Power of Hydrogen</i>
PI3K	= <i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
PKA	= <i>Protein Kinase A</i>
PKC	= <i>Protein Kinase C</i>
PPAR- γ	= <i>Peroxisome Proliferator Activator Receptor-γ</i>

PPR	= <i>PTH/PTH-Related Peptide Receptor</i>
PTH	= <i>Parathyroid Hormone</i>
PTHrP	= <i>Parathyroid Hormone related Peptide</i>
PTH1R	= <i>Parathyroid Hormone 1 Receptor</i>
RANK	= <i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kβ</i>
RANKL	= <i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kβ-Ligand</i>
ROD	= <i>Renal Osteodystrophy</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
Runx	= <i>Runt-related transcription factor</i>
R-Smad	= <i>Receptor-regulated Smad</i>
S	= <i>Simpangan baku gabungan</i>
SAHF	= <i>Senescence-Associated Heterochromatin Foci</i>
SASP	= <i>Senescence-Associated Secretory Phenotype</i>
SA- β -Gal	= <i>Senescence-Associated B-Galactosidase</i>
SB	= <i>Simpangan Baku</i>
SBE	= <i>Smad Binding Element</i>
SCL	= <i>Sclerostin</i>
SD	= <i>Standar Deviasi</i>
SFRP1	= <i>Secreted Frizzled-Related Protein 1</i>
SFRP4	= <i>Secreted Frizzled-Related Protein 4</i>
SHC	= <i>Src-homology/collagen protein</i>
SHPT	= <i>Secondary Hyperparathyroidism</i>
SMAD	= <i>Protein SMA dan MAD</i>
SMRT	= <i>Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor</i>
Sost	= <i>Sclerostin</i>
SOFA	= <i>Sequential Organ Failure Assesment</i>
Sox2	= <i>Sex determining region Y Box Transcription Factor 2</i>
SRC	= <i>Steroid Receptor-Coactivator</i>
SVF	= <i>Stromal Vascular Fraction</i>
sWAT	= <i>subcutaneous White Adipose Tissue</i>
S1P	= <i>Sphingosine 1-Phosphate</i>
TAK1	= <i>TGF-β-Activated Kinase 1</i>
TAZ	= <i>Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif</i>
Tcf	= <i>T-cell specific transcription factor</i>
TGF- β	= <i>Transforming Growth Factor-β</i>
TGF- β 1	= <i>Transforming Growth Factor-β1</i>
TMV	= <i>Turnover, Mineralization, and Volume</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TR	= <i>Thyroid Hormone Receptor</i>
Trap5	= <i>Tartrate-resistant acid phosphatase 5</i>
T ₃	= <i>Triiodotironin</i>
T β R	= <i>Transforming Growth Factor-β Receptor</i>
Ub	= <i>Ubiquitinated</i>
UVB	= <i>Ultraviolet B</i>
VC	= <i>Vascular Calcification</i>
VDR	= <i>Vitamin D Receptor</i>
VDRA	= <i>Vitamin D Receptor Activator</i>

VEGF	= <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
vWAT	= <i>Visceral White Adipose Tissue</i>
WAT	= <i>White Adipose Tissue</i>
WIF1	= <i>Wnt Inhibitory Factor-1</i>
WNT	= <i>Wingless Int-1</i>
X1-X2	= Selisih minimal rerata yang dianggap bermakna dari penelitian sebelumnya
Z α	= Deviat baku alfa dua arah
Z β	= Deviat baku beta
α	= <i>Alpha</i>
α MEM	= <i>Minimum Essential Medium with alpha modification</i>
β	= <i>Beta</i>
β -Gly	= <i>β-Glycerophosphate</i>
γ	= <i>Gamma</i>
μ CT	= <i>Micro-Computed Tomography</i>