

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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. Pasien dengan PGK biasanya meninggal karena kematian mendadak, aritmia jantung, infark miokard akut, insufisiensi arteri perifer, dan stroke. Kematian pada pasien dengan PGK, juga dapat dikaitkan dengan faktor risiko non-tradisional seperti inflamasi, stres oksidatif, anemia, dan 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 kematian yang tinggi, penyakit kardiovaskular, dan patah tulang (KDIGO,2009). Berdasar Sistim Data Ginjal Amerika Serikat, risiko patah tulang pinggul pada pria dan wanita berkisar 4 kali lipat pada pasien yang menjalani hemodialisis. Penelitian lain menyatakan bahwa insiden fraktur pinggul adalah 1% dan fraktur di tempat lain sebesar 2,6%, sedangkan pada populasi umum sekitar 0,07-0,22% (Miller, 2014).

Remodelling tulang diperlukan untuk memperbaiki tulang lama yang rusak dan mencegah efek penuaan serta dampaknya. *Remodelling* ini memerlukan komunikasi secara langsung dari sel-sel 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 atau yang dikenal juga dengan 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. *Bone Morphogenetics Protein* (BMP) termasuk dalam superfamili TGF- β dan dilaporkan sebagai faktor osteoblastogenik. *Bone Morphogenetics Protein-2* (BMP-2) adalah penginduksi osteoblastogenesis yang kuat dengan mengaktifkan jalur sinyal Smad. *Bone Morphogenetics Protein* mengikat *serin/treonin kinase reseptor* II dan mengaktifkan reseptor I untuk mengirimkan sinyal melalui Smad1/5/8. Smad1/5/8 yang bergabung 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 (Amarasekara *et al.*, 2021).

Regulator utama diferensiasi osteoblas adalah Runx2 (Cbfa1). Faktor pertumbuhan seperti protein morfogenetik tulang (BMP) dan molekul Wnt menyebabkan MSC mengekspresikan faktor transkripsi osteogenik *Runx2* dan *Osterix* (*Osx*) dan berdiferensiasi menjadi osteoblas pembentuk tulang. Osteoblas yang berproliferasi mensintesis matriks ekstraseluler baru, termasuk kolagen tipe I, osteokalsin, osteopontin, alkali fosfatase, dan matriks metaloprotease-13 (MMP-13), pada permukaan tulang. Sebaliknya, pada tahap diferensiasi akhir osteoblas, TGF- β menekan ekspresi gen Runx2 dan menghambat diferensiasi terminal dari osteoblast (Iwasaki *et al.*, 2018).

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 (Hruska *et al.*, 2017; Qunibi, 2019). 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 (Hruska *et al.*, 2017).

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 (Martin *et al.*, 2015).

Toksin uremik yang berakumulasi di dalam darah pasien PGK seperti indoksil sulfat 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 (Liu *et al.*, 2018).

Kadar TGF- β plasma lebih tinggi secara signifikan pada pasien hemodialisis dan pada pasien dengan osteodistrofi renal. Beberapa laporan mengungkapkan bahwa ada interaksi antara sinyal TGF- β dan Wnt pada osteoblas yang menyebabkan *high bone-turn over* pada PGK (Liu *et al.*, 2014).

Penuaan seluler merupakan tanda yang biasa terjadi pada jaringan tua dan biasanya didefinisikan sebagai proses dinamis akibat kehilangan sel dan berpengaruh pada kemampuan berproliferasi, pertumbuhan yang terhenti akibat stressor yang bervariasi. Penyakit Ginjal Kronik berbagi banyak kesamaan fenotipik dengan penuaan ginjal, seperti sklerosis glomerulus, fibrosis interstisial, atrofi tubulus dan hilangnya kemampuan perbaikan, dengan demikian dapat diartikan bahwa PGK berkorelasi erat dengan penuaan seluler. Penanda paling umum untuk mengidentifikasi penuaan seluler antara lain ekspresi yang berlebih dari β -galaktosidase terkait penuaan (Wang *et al.*, 2019).

Gangguan mineral tulang pada PGK merupakan komplikasi yang sering terjadi pada pasien PGK, patofisiologinya kompleks dan masih belum sepenuhnya dipahami. Penelitian sel punca mesenkimal *in vitro* telah meningkat beberapa tahun terakhir ini, yang digunakan untuk mempelajari aktivitas seluler sel primer

hingga sel yang diabadikan. Penelitian juga dapat menggunakan stroma/sel induk yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jaringan di bawah pengaruh berbagai rangsangan di luar organisme hidup. Penggunaan MSC secara *in vitro* berguna untuk mempelajari proses osteogenik yang dapat membantu menyederhanakan proses yang kompleks dan membantu untuk mempelajari proses-proses yang terjadi selama osteogenesis. Sebagian besar penelitian yang telah dilakukan, menggunakan model eksperimental PGK dengan mengamati hewan coba yang diberi perlakuan, penelitian lokal pada tulang serta penelitian klinis dengan memeriksa kadar penanda osteogenesis secara sistemik (Schiavi *and* Moyses., 2015).

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 PGK-5D, yang berguna untuk lebih memahami patofisiologi GMT-PGK. 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 menganalisis kadar β -galactosidase sebagai penanda penuaan sel. Sumber sel punca mesenkimal pada penelitian ini diambil dari jaringan adiposa karena relatif lebih mudah diperoleh dan dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas.

1.2 Rumusan masalah

1. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi $TGF\beta$ -1 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan orang sehat?
2. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi BMP-2 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan orang sehat?
3. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi Dkk-1 pada sel punca mesenkimal pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
4. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi Smad3 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
5. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi Runx2 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
6. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi alkali fosfatase pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
7. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi osteokalsin pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
8. Apakah terdapat perbedaan deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
9. Apakah terdapat perbedaan konsentrasi sel menua pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat?
10. Bagaimanakah mekanisme osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pada pasien PGK-5D?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan penelitian umum

Membuktikan terdapatnya perbedaan osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.

1.3.2 Tujuan penelitian khusus

1. Membuktikan perbedaan konsentrasi TGF- β 1 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
2. Membuktikan perbedaan konsentrasi BMP-2 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
3. Membuktikan perbedaan konsentrasi Dkk-1 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
4. Membuktikan perbedaan konsentrasi Smad3 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
5. Membuktikan perbedaan konsentrasi Runx2 pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
6. Membuktikan perbedaan konsentrasi alkali fosfatase pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.

7. Membuktikan perbedaan konsentrasi osteokalsin pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
8. Membuktikan perbedaan konsentrasi deposit kalsium fosfat pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
9. Membuktikan perbedaan konsentrasi sel menua pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D dibandingkan dengan orang sehat.
10. Menjelaskan mekanisme osteoblastogenesis pada sel punca mesenkimal adiposa pasien PGK-5D.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangan ilmiah pada mekanisme terjadinya gangguan mineral tulang pada PGK.

1.4.2 Manfaat ilmu pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan motivasi bagi peneliti lain untuk mengembangkan penelitian di bidang gangguan mineral tulang pada PGK.