

**EFEK PROTEKTIF GLUTAMIN TERHADAP TERJADINYA
APOPTOSIS SEL EPITEL TUBULUS PROKSIMAL GINJAL PADA
PEMBERIAN CISPLATIN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Wistar



GUNAWAN WIDODO

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2013**

DISERTASI

**EFEK PROTEKTIF GLUTAMIN TERHADAP TERJADINYA
APOPTOSIS SEL EPITEL TUBULUS PROKSIMAL GINJAL PADA
PEMBERIAN CISPLATIN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Wistar



**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2013**

DISERTASI

**EFEK PROTEKTIF GLUTAMIN TERHADAP TERJADINYA
APOPTOSIS SEL EPITEL TUBULUS PROKSIMAL GINJAL PADA
PEMBERIAN CISPLATIN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Wistar

**Untuk Memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
Dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Akhir Tahap II (Terbuka)**

The logo of Universitas Airlangga is a circular emblem. It features a central figure, likely a Garuda or a similar mythical creature, with its wings spread. The figure is surrounded by a decorative border containing the university's name in Indonesian and English. The logo is rendered in a light blue and yellow color scheme.

**GUNAWAN WIDODO
NIM. 090970126 D**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2013**

Lembar Pengesahan

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI

Pada tanggal : 10 Juli 2013

Oleh



Promotor

Prof.Dr.Rochmad Romdoni,dr,SpPD,SpJP(K),FIHA
NIP. 130610744

Ko Promotor

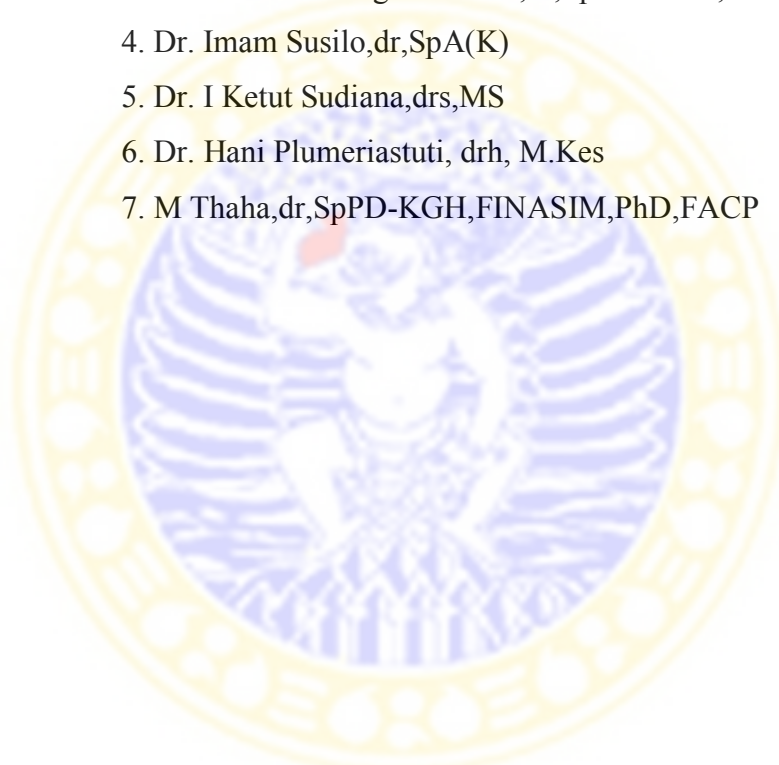
Prof.H.R Moh Yogiantoro,SpPD-KGH,FINASIM
NIP 19420321 196705 1 00 1

Disertasi telah diuji pada Ujian Akhir Tahap I (Tertutup) tanggal 25 Juni 2012

Panitia Penguji :

Ketua : Widodo J Pudjihardjo, dr MS, MPH, DrPH

Anggota : 1. Prof.Dr.Rochmad Romdoni, dr, SpPD, SpJP(K), FIHA
2. Prof HR Moh.Yogiantoro, dr, SpPD-KGH, FINASIM
3. Prof.Dr. Bambang Purwanto, dr, SpPD-KGH, FINASIM
4. Dr. Imam Susilo, dr, SpA(K)
5. Dr. I Ketut Suidiana, drs, MS
6. Dr. Hani Plumeriastuti, drh, M.Kes
7. M Thaha, dr, SpPD-KGH, FINASIM, PhD, FACP



Diterbitkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Nomor : 246/UN3.1.1/KD/2013
Tanggal : 21 Juni 2013

KATA PENGANTAR

Alhammdulillahirobbil'alamiin, segala puji syukur peneliti panjatkan kehadirat ALLAH Subhanahu wa ta'ala atas segala rahmat, hidayah dan inayahNYA yang dilimpahkan kepada peneliti, sehingga dapat menyelesaikan disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini, maka dengan rasa syukur peneliti sampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Prof. Dr. Rochmad Romdoni, dr, SpPD, SpJP(K), FIHA selaku Promotor, mantan direktur RSUD Haji Surabaya, beliau yang telah mendorong dan menghantarkan peneliti dalam melewati jenjang pendidikan tertinggi. Dari beliau peneliti mendapatkan wawasan keilmuan yang luas dan senantiasa menekankan bagaimana seharusnya seorang ilmuwan bersikap dan mengamalkan ilmunya sesuai dengan tanggung jawabnya kepada ALLAH Sang Pencipta dan Pemilik Segala Ilmu. Sebagai promotor beliau senantiasa menyediakan waktunya untuk membimbing dengan segala kesabaran dan senantiasa mendorong semangat serta meningkatkan rasa percaya diri peneliti. Peneliti sangat bersyukur telah menjadi anak bimbing beliau. Semoga ALLAH SWT melimpahkan rahmat dan hidayahNYA serta melipat gandakan pahalaNYA untuk beliau, sehingga sukses bahagia dunia akhirat sekeluarga turun temurun.

Prof.HR.Moh.Yogiantoro,dr,SpPD-KGH,FINASIM, guru besar Ilmu Penyakit Dalam Universitas Airlangga, selaku Ko-Promotor membimbing peneliti sampai selesai disertasi peneliti. Beliau selalu memberikan masukan hal-hal yang baru dan ilmunya yang luas beliau senantiasa memberikan wawasan perkembangan keilmuan untuk menyempurnakan disertasi peneliti semoga ALLAH SWT membalas beliau dengan pahala yang berlipat ganda.

Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Departemen Pendidikan Nasional, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mengikuti Program Pendidikan Pascasarjana

Rektor Universitas Airlangga Prof.Dr. Fasichul Lisan, Apt, yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof.Dr.Agung Pranoto,dr, M.Kes,SpPD K-EMD,FINASIM dan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof,Dr. Hj. Sri Hayati,SH,MS serta seluruh jajaran yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada peneliti untuk menyelesaikan pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga Surabaya.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr, SpA(K),SpJP, AKK dan mantan ketua Petua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. Harijanto JM, dr, AIFM yang telah memberi dukungan dalam membantu memperlancar proses akademik serta perhatian dan nasehat yang diberikan kepada peneliti selama mengikuti program pendidikan Doktor.

Sdr.Widodo Pudjirahardjo, dr, MS, MPH, DrPH sebagai konsultan bidang metodologi penelitian sekaligus pengampu MKPD peneliti yang telah dengan sabar membimbing dan memperkaya pemahaman tentang metode penelitian dan logika penelitian sehingga peneliti dapat menyelesaikan disertasi ini. Semoga ALLAH SWT membalas beliau dengan pahala yang berlipat ganda.

Dr. Imam Susilo, dr., SpPA(K) sebagai konsultan pemeriksaan imunohistokimia, ucapan terima kasih yang tak terhingga atas bimbingan, dorongan, perhatian, kesabaran yang tidak pernah berhenti. Semoga amal ibadahnya mendapat balasan pahala yang berlipat ganda dari ALLAH SWT.

Dr. Windhu Purnomo,dr.M.S yang banyak membantu dalam memberikan konsultasi metodologi dan analisis penelitian sehingga penelitian ini dapat diselesaikan, peneliti sampaikan terima kasih yang tidak terhingga semoga ALLAH SWT berkenan memberikan pahala yang berlipat ganda.

Dr. Wijiati, drh, MSi, peneliti sampaikan terima kasih yang sebanyak banyaknya atas bimbingan, pengarahan, bantuan dan fasilitas yang diberikan.

Semoga amal ibadahnya mendapat balasan pahala yang berlipat ganda dari ALLAH SWT.

Prof. Dr. Bambang Purwanto, dr., SpPD-KGH FINASIM peneliti sampaikan terima kasih yang setinggi tingginya atas perhatian, dorongan dalam menempuh Pendidikan Doktor, semoga mendapat pahala ALLAH SWT yang berlipat ganda.

Dr. I Ketut Sudiana, drs, MS peneliti sampaikan terima kasih yang setinggi tingginya atas perhatian, dorongan, dan bimbingan yang sangat berguna dalam mempelajari Patogenesis sampai ke tingkat Biomolekuler sehingga sangat membantu dalam proses Pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Semoga mendapat balasan sebesar-besarnya dari Tuhan Yang Maha Esa.

Sdr. M Thaha, dr, SpPD-KGH, FINASIM, Ph-D,FACP, peneliti sampaikan rasa terimakasih yang setinggi tingginya atas dorongan,perhatian, dan masukan-masukan yang sangat membangun. Semoga ALLAH SWT memberi pahala yang berlipat ganda.

Sdri Restu Kurnia Tjahyani, dr, M.Kes, Sdr. Budiarto,dr SpB dan Sdr Sukamto,dr SpOG selaku Direktur dan mantan Direktur RSU Haji Surabaya, atas dorongan, bantuan dan fasilitas yang diberikan sehingga peneliti dapat menyelesaikan pendidikan Doktor. Semoga amal ibadahnya mendapat balasan pahala yang berlipat dari ALLAH SWT.

Semua teman sejawat Spesialis Penyakit Dalam RSU Haji Surabaya atas pengertian, dorongan, kerjasama dan bantuannya selama peneliti mengambil pendidikan Doktor hingga selesai. Semoga ALLAH SWT memberi kemudahan bagi sejawat semua dalam mengambil jenjang pendidikan lanjutan.

Semua guru - guru peneliti sejak TK, SD, SMA, FK sampai Pendidikan Spesialis Penyakit Dalam, peneliti sampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi tingginya atas didikan dan bimbingan yang telah diberikan kepada peneliti. Semoga ALLAH SWT memberi pahala yang berlipat.

Teman-teman peserta didik Program Doktor Universitas Airlangga angkatan tahun 2009/2010 peneliti sampaikan rasa terimakasih yang tidak

terhingga atas segala kerjasama, kekompakan serta saling mendukung dalam suka dan duka selama bersama sama menjalani pendidikan.

Ungkapan terima kasih dan penghargaan yang tiada tara, peneliti haturkan kepada ayah peneliti Almarhum H Soemandar dan ibu peneliti Almarhumah Hj Dalimah yang telah mengandung, melahirkan, menyusui, membesarkan, mendidik, mensupport, mendoakan dan membentuk kepribadian peneliti. Kepada ayah dan ibu peneliti semoga ALLAH SWT mengampuni segala dosanya dan menempatkan beliau di tempat yang mulia di sisi-NYA. Demikian juga kepada ayah mertua Almarhum H Achmad Ridwan, Drs dan ibu Hj Lamyati yang senantiasa menasehati dan mendoakan peneliti sekeluarga untuk mencapai kebahagiaan dunia akhirat. Semoga ALLAH SWT mengampuni segala dosanya dan menempatkan beliau di tempat yang mulia disisi-NYA.

Kepada yang tercinta istri peneliti Hj Nurfajri Yuliasuti, Ssi yang telah merelakan, mendorong, mensupport peneliti dalam mengikuti Pendidikan Doktor, yang senantiasa mendoakan peneliti, tidak ada kata yang dapat peneliti sampaikan selain syukur kehadiran-NYA. Semoga ALLAH SWT senantiasa melimpahkan rahmat, petunjuk, hidayah dan inayah-NYA. Semua ini telah menjadi kekuatan bagi peneliti untuk menyelesaikan Pendidikan Doktor. Kepada anak peneliti Prima Bhinneka Widiastuti, Swastika Dyah Permatasari dan Oktorina Dyah Primayanti kalian adalah amanah karunia ALLAH Yang Maha Besar kepada bapak ibu, sikap, dorongan dan doa kalian selama ini telah menjadikan semangat, kekuatan bagi bapak untuk menyelesaikan Pendidikan Doktor dan tetap melangkah kedepan. Doa bapak semoga kalian menjadi anak yang sholehah, sukses, bahagia dunia akhirat kelak dapat mengikuti jejak bapak mencapai jenjang pendidikan tertinggi. Semoga ALLAH SWT senantiasa melimpahkan hidayahNYA bagi kita sekeluarga.

Akhirnya kepada semua pihak, teman sejawat yang tidak sempat peneliti sebutkan satu persatu yang telah membantu selama masa pendidikan peneliti sampaikan terima kasih yang sebesar besarnya semoga ALLAH SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan karuniaNYA. Amien Ya Robbal'alamin

RINGKASAN

Efek Protektif Glutamin Terhadap Terjadinya Apoptosis Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal pada Pemberian Cisplatin

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Wistar

Gunawan Widodo

Cisplatin adalah suatu obat kemoterapi yang sudah lama diketahui, rejimen kombinasi kemoterapi berbasis cisplatin sampai saat ini masih banyak dipakai untuk pengobatan kanker seperti kanker testis, kanker kepala dan leher, sarkoma, *small-cell* karsinoma, limfoma, juga kanker ovarium. Efek terapi cisplatin secara signifikan ditingkatkan dengan dosis eskalasi, namun demikian dosis terapi selalu dibatasi oleh efek samping, diantaranya neurotoksik maupun nefrotoksik. Cisplatin menyebabkan apoptosis maupun nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal melalui mekanisme yang beragam diantaranya melalui terbentuknya *stress oxidative*, ekspresi TNF α , ekspresi P53, maupun aktivasi kaspase. Dengan demikian untuk menghambat efek nefrotoksik Cisplatin diperlukan obat yang dapat menghambat jalur terjadinya apoptosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal. Glutamin adalah suatu asam amino non esensial dimana tubuh dapat menghasilkan sendiri dalam bentuk glutamat. Banyak penelitian telah membuktikan bila glutamin mempunyai kemampuan anti apoptosis dengan pembentukan *glutathione* (GSH), menghambat ekspresi TNF α , menurunkan p38 MAPK, fosforilasi JNK dan p53 serta menghambat ekspresi kaspase 3.

Metode penelitian ini adalah *true experimental* dengan menggunakan tehnik analisis data manova, uji korelasi dan regresi. Hewan coba yang digunakan adalah Tikus *Rattus Norvegicus*, strain *Wistar* jantan umur 2,5-3 bulan, berat 150 - 200 gram dan telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Sebanyak 50 ekor tikus strain Wistar dibagi dalam tiga kelompok, kelompok P1 dan P2 masing masing 20 ekor dan kelompok kontrol 10 ekor. Pada kelompok P2 selama 6 hari sebelum pemberian cisplatin diinjeksi 100 mg/kg BB glutamin intravena melalui vena ekor 1 kali sehari, dan pada hari ke-7 diinjeksi 20 mg/kg BB cisplatin intraperitoneal dengan 100 mg/kgBB glutamin intra vena melalui ekor. Sedangkan pada kelompok P1 diinjeksi 20 mg/kg BB cisplatin intra peritoneal. Kelompok kontrol mendapat 0,2 cc NaCl fisiologis intra peritoneal. Setelah 12 jam, sebanyak 30 tikus dikorbankan (masing-masing kelompok 10 ekor) dengan cara dislokasi cervical setelah dilakukan anestesi dengan eter. Jaringan ginjal diambil untuk dibuat sediaan histokimia dan imunohistokimia. Setelah 72 jam sebanyak, 20 tikus lainnya juga dikorbankan dan dilakukan pemeriksaan seperti di atas.

Hasil pemeriksaan dengan tehnik imunohistokimia, tidak terdapat perbedaan jumlah rata-rata kejadian apoptosis antara kelompok hewan coba yang diberi cisplatin (P1) dan kelompok hewan coba yang diberi cisplatin dan glutamine (P2) setelah 12 jam pengamatan ($p=0,116$). namun, setelah dilakukan

observasi selama 72 jam, terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,001$) jumlah rata-rata kejadian apoptosis pada kelompok hewan coba yang diberi cisplatin (P1) dan kelompok hewan coba yang diberi cisplatin dan glutamin (P2).

Kesimpulan dari penelitian ini adalah glutamin dapat menghambat terjadinya apoptosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal pada pemberian cisplatin pada pengamatan 72 jam.

Diharapkan penelitian ini dapat dikembangkan lebih lanjut dengan memberikan glutamin pada obat-obat yang bersifat nefrotoksik.



SUMMARY

The Effect of Protective Glutamine on The Apoptosis of Proximal Tubular Epithelial Cells (PTECs) of Kidney due to Cisplatin Administration

Laboratory Experimental Study on Wistar Rats

Gunawan Widodo

Cisplatin has been known for along time as chemotherapy drug and up to now the combination of regiment cisplatin based chemotherapy is still widely used for cancer treatment such as testicular cancer, head and neck cancer, sarcoma, small cell carcinoma, lymphoma and Ovarian cancer. The effect of cisplatin therapy is significantly increased by escalation dosage, however, therapeutic dosage is always limited by the side effect such as either neurotoxic or nephrotoxic. Cisplatin can induce the occurrence of either apoptosis or necrosis proximal tubular epithelial cells of kidney through various mechanism such as oxidative stress, TNF α and P53 expression as well as caspase activation, therefore to inhibit the effect of nephrotoxic cisplatin, special drug is needed to inhibit the process of apoptosis proximal tubular epithelial cells of kidney. Glutamine is non essential amino acid in which the body can produce by it's self in the form of glutamate. Many studies suggested that if glutamine has the capacity of anti apoptosis through glutathione (GSH) formation, it will inhibit TNF α decrease p38 MAPK, phosphorylation JNK and p53 as well as inhibit caspase 3 expression.

The method of this study was true experimental using manova data analysis, correlation and regression test. The experimental animals were *Rattus norvegicus*, male strain *Wistar* aged 2,5-3 months, weight 150-200 gram and approved by Research Ethic Commission of Veterinary Faculty of Airlangga University. 50 *Wistar* rats were classified in to 3 groups consisting of group P1 and P2 with 20 rats of each group and control group with 10 rats. In a six day period before being given cisplatin group 2 was intravenously injected glutamine 100 mg/kg body weight via *tail-vein* once per day. On day 7, it was continued by intraperitoneal injection cisplatin 20 mg/kg body weight with intravenous glutamine 100 mg/kg body wight via *tail-vein*. Meanwhile group P1 was intraperitoneally injected cisplatin 20 mg/kg body weight. Control group was given 0,2 cc physiological NaCl solution intraperitoneally. After 12 hours, 30 rats (10 of each group were sacrificed through cervical dislocation after being given ether's anesthetic, followed by kidney tissue removal for histochemical and imunohistochemical preparation. After 72 hours the other 20 rats were also sacrificed in the same procedure.

The result of the study using imunohistochemical technic showed that there was no mean difference of apoptosis episode among the experimental animals which were given cisplatin (P1) and glutamine (P2) after 12 hour period

of observation ($p=0,116$). However after 72 hours there was significant mean difference of apoptosis difference ($p=0,001$) of apoptosis episode in experimental animal which were given cisplatin (P1) and cisplatin plus glutamine (P2).

The conclusion of this study is glutamine can inhibit the occurrence of apoptosis in proximal tubular epithelial cells of kidney due to cisplatin administration in 72 hour period of observation.

This study is expected to be developed futher to provide glutamine to drugs that are nephrotoxic.



ABSTRAK**Efek Protektif Glutamin Terhadap Terjadinya Apoptosis Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal pada Pemberian Cisplatin pada Tikus****Gunawan Widodo**

Salah satu penyebab AKI adalah akibat pemakaian beberapa obat yang bersifat nefrotoksik, diantaranya pemakaian kemoterapi cisplatin. Kurang lebih 20% penderita yang mendapat pengobatan cisplatin mengalami gangguan fungsi ginjal. Nefrotoksik diawali dengan terjadinya apoptosis pada sel-sel tubulus proksimal yang bila berlanjut akan menjadi gangguan fungsi ginjal sebagai *Acute Kidney Injury*. Cisplatin menyebabkan apoptosis maupun nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal melalui mekanisme yang beragam diantaranya melalui terbentuknya *stress oxidative*, ekspresi TNF α , ekspresi P53, maupun aktivasi kaspase. Dengan demikian untuk menghambat efek nefrotoksik Cisplatin diperlukan obat yang dapat menghambat jalur terjadinya apoptosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal. Glutamin adalah suatu asam amino non esensial dimana tubuh dapat menghasilkan sendiri dalam bentuk glutamat. Banyak penelitian telah membuktikan bila glutamin mempunyai kemampuan anti apoptosis dengan pembentukan *glutathione* (GSH), menghambat ekspresi TNF α , menurunkan p38 MAPK, fosforilasi JNK dan p53 serta menghambat ekspresi kaspase 3. Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan efek protektif glutamin terhadap terjadinya apoptosis sel epitel tubulus proksimal ginjal pada pemberian cisplatin pada hewan coba tikus *Rattus Norvegicus*. Metode penelitian ini adalah *true experimental* dengan menggunakan teknik analisis data manova, uji korelasi dan regresi. Sebanyak 50 ekor tikus *Rattus Norvegicus* dibagi dalam tiga kelompok, Kelompok P1, P2 dan kelompok kontrol. Hasil pemeriksaan dengan teknik imunohistokimia menunjukkan bahwa setelah dilakukan observasi selama 72 jam, terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi HSP 72, P53, Kaspase 3 dan kejadian apoptosis pada kelompok hewan coba yang diberi cisplatin (P1) dan kelompok hewan coba yang diberi cisplatin dan glutamin (P2). Kesimpulan dari penelitian ini adalah glutamin dapat menghambat terjadinya apoptosis sel epitel tubulus proksimal ginjal pada pemberian cisplatin pada pengamatan 72 jam.

Kata Kunci : Sel epitel tubulus proksimal ginjal, glutamin, cisplatin, apoptosis

ABSTRACT**The Effect of Protective Glutamine on The Apoptosis of Proximal Tubular Epithelial Cells (PTECs) of Kidney due to Cisplatin Administration in Rats****Gunawan Widodo**

One of the causes of Acute Kidney Injury (AKI) is the result of some kinds of nephrotoxic drug administration such as cisplatin chemotherapy. Approximately 20% of patients with cisplatin treatment suffer from kidney function disturbance. Nephrotoxic condition is initiated by apoptosis of proximal tubular epithelial cells, if this condition continues, kidney function disturbance such as acute kidney injury will appear. Cisplatin can induce the occurrence of either apoptosis or necrosis proximal tubular epithelial cells of kidney through various mechanism such as oxidative stress, TNF α and P53 expression as well as caspase activation, therefore to inhibit the effect of nephrotoxic cisplatin, special drug is needed to inhibit the process of apoptosis proximal tubular epithelial cells of kidney. Glutamine is non essential amino acid in which the body can produce by it's self in the form of glutamate. Many studies suggested that if glutamine has the capacity of anti apoptosis through glutathione (GSH) formation, it will inhibit TNF α decrease p38 MAPK, phosphorylation JNK and p53 as well as inhibit caspase 3 expression. The purpose of this study is to explain the protective effect of glutamine to prevent the occurrence of apoptosis in proximal tubular epithelial cells of kidney due to cisplatin administration in *Rattus norvegicus* rat. The method of this study was true experimental using manova data analysis, correlation and regression test. 50 *Rattus norvegicus* rats were classified in to 3 groups consisting of group P1, P2 and control. The result of the study using imunohistochemical technic showed that after 72 hour observation showed that there was significance difference of HSP 72, P53, and caspase 3 expression while the episode of apoptosis appeared in experimental animal which were given cisplatin (P1) with group cisplatin and glutamine (P2). The conclusion of this study is glutamine can inhibit the occurrence of apoptosis in proximal tubular epithelial cells of kidney due to cisplatin administration in 72 hour period of observation

Keywords : Epithelial cells of the proximal tubule of the kidney, glutamine, cisplatin, apoptosis.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERSETUJUAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
DAFTAR ISI.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xxii
DAFTAR GAMBAR.....	xxiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxvi
DAFTAR SINGKATAN	xxvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Anatomi Ginjal.....	8
2.1.1 Tubulus ginjal	9
2.2 <i>Acute Kidney Injury</i>	11
2.2.1 Definisi <i>acute kidney injury</i>	11

2.2.2	Diagnosis <i>acute kidney injury</i>	11
2.2.3	Etiologi <i>acute kidney injury</i>	12
2.3	Cisplatin.....	19
2.3.1	Efek samping cisplatin.....	23
2.3.2	Pengaruh nefrotoksik	23
2.4	Glutamin	29
2.4.1	Fungsi glutamin	30
2.4.2	Peran glutamin sebagai antiapoptosis	33
2.5	TNF- α	35
2.6	<i>Reactive Oxygen Species</i>	39
2.7	Antioksidan.....	41
2.8	P53	41
2.9	Kaspase-3.....	45
2.10	<i>Heat Shock Protein</i>	48
2.11	<i>Heat Shock Factor</i>	52
2.12	Apoptosis	53
2.12.1	Definisi apoptosis.....	53
2.12.2	Proses apoptosis	57
BAB III	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	61
3.1	Kerangka Konseptual.....	61
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual.....	62
3.3	Hipotesis Penelitian	63
BAB IV	METODE PENELITIAN.....	64
4.1	Metode dan Rancangan Penelitian.....	64
4.2	Variabel dan Batasan Operasional.....	65
4.2.1	Variabel bebas.....	65
4.2.2	Variabel tergantung.....	65
4.2.3	Variabel terkendali.....	66
4.2.4	Batasan operasional	66

4.3	Populasi Sampel.....	69
4.3.1	Besar sampel.....	69
4.4	Tata Laksana.....	71
4.4.1	Tempat dan waktu penelitian.....	71
4.4.2	Kerangka operasional penelitian.....	72
4.4.3	Teknik pewarnaan imunohistokimia.....	74
4.4.4	Protokol pemeriksaan apoptosis dengan <i>s7101 apoptag plus peroxidase in situ apoptosis detection kit</i>	76
4.5	Pelaksanaan Penelitian.....	78
4.5.1	Persiapan penelitian.....	78
4.5.2	Pembuatan hewan model.....	79
4.6	Analisa Data.....	80
BAB V HASIL PENELITIAN.....		82
5.1	Karakteristik Subjek Penelitian.....	82
5.2	Uji Homogenitas Subjek Penelitian Berdasarkan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan Pada Hewan Coba.....	83
5.3	Uji Normalitas Data Hasil Penelitian Pada Hewan Coba.....	83
5.4	Morfologi Tubulus Proksimal Ginjal.....	85
5.5	Ekspresi HSP72 Pada Jaringan Ginjal Hewan Coba Setelah Perlakuan.....	87
5.6	Ekspresi P53 Pada Jaringan Ginjal Hewan Coba Setelah Perlakuan.....	90
5.7	Ekspresi Caspase-3 Pada Jaringan Ginjal Hewan Coba Setelah Perlakuan.....	93
5.8	Kejadian Apoptosis Pada Jaringan Ginjal Hewan Coba Setelah Perlakuan.....	96
5.9	Korelasi antara variabel HSP72 dengan P53.....	99
5.10	Analisis Pengaruh Variabel Terikat terhadap Variabel bebas.....	99
5.11	Analisis Pengaruh Antar Variabel Terikat dalam Variabel Konstruk.....	102

BAB VI PEMBAHASAN.....	103
6.1 Peran Glutamin Terhadap Ekspresi P53 Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal akibat Paparan Cisplatin.....	111
6.2 Peran Glutamin terhadap Ekspresi HSP 72 Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal akibat Paparan Cisplatin.....	114
6.3 Peran Glutamin terhadap Ekspresi Kaspase 3 Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal akibat Paparan Cisplatin.....	116
6.4 Peran Glutamin terhadap Terjadinya Apoptosis Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal akibat Paparan Cisplatin.....	119
6.5 Temuan Baru	121
6.6 Keterbatasan Penelitian	121
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	122
7.1 Kesimpulan.....	122
7.2 Saran	123
DAFTAR PUSTAKA	124
LAMPIRAN.....	134

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Beberapa Pendekatan Renoprotektif Terhadap Cisplatin Yang Telah Dilakukan.....	27
Tabel 2.2	Fungsi HSP dan Peranannya.....	52
Tabel 2.3	Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis	56
Tabel 5.1	Uji Homogenitas Subjek Penelitian Berdasarkan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	82
Tabel 5.2	Hasil Uji Normalitas Variabel Bebas Yang Diteliti Pada Subjek Penelitian	83
Tabel 5.3	Deskripsi Statistik Nilai Ekspresi HSP72 Hewan Coba Pada Setiap Kelompok Perlakuan.....	86
Tabel 5.4	Signifikansi Hasil Pengukuran Uji Beda Terhadap Peningkatan Ekspresi HSP72 Antar Kelompok Perlakuan Pada Hewan Coba.....	86
Tabel 5.5	Deskripsi Statistik Nilai Ekspresi P53 Hewan Coba Pada Setiap Kelompok Perlakuan.....	89
Tabel 5.6	Signifikansi Hasil Pengukuran Uji Beda Terhadap Peningkatan Ekspresi P53 Antar Kelompok Perlakuan Pada Hewan Coba	89
Tabel 5.7	Deskripsi Statistik Nilai Ekspresi Caspase-3 Hewan Coba Pada Setiap Kelompok Perlakuan	92
Tabel 5.8	Signifikansi Hasil Pengukuran Uji Beda Terhadap Peningkatan Ekspresi Caspase-3 Antar Kelompok Perlakuan Pada Hewan Coba.....	92
Tabel 5.9	Deskripsi Statistik Nilai Kejadian Apoptosis Hewan Coba Pada Setiap Kelompok Perlakuan	95
Tabel 5.10	Signifikansi Hasil Pengukuran Uji Beda Terhadap Nilai Kejadian Apoptosis Antar Kelompok Perlakuan Pada Hewan Coba.....	95

Tabel 5.11	Hasil Uji Korelasi HSP72 dengan P53 pada Setiap Kelompok Perlakuan	98
Tabel 5.12	Hasil Pengukuran Uji Pengaruh antar Variabel Terikat pada Subyek Kelompok pada Lama Pengukuran 12 Jam.	99
Tabel 5.13	Hasil Pengukuran Uji Pengaruh antar Variabel Terikat pada Subyek Kelompok pada Lama Pengukuran 72 Jam	100



DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Anatomi Nefron	9
Gambar 2.2	Histopatologis Tubulus Ginjal	10
Gambar 2.3	Kriteria RIFLE	12
Gambar 2.4	Mekanisme Laju Filtrasi Glomerulus	14
Gambar 2.5	Nekrosis Kortikal Akut	18
Gambar 2.6	Struktur Cisplatin	19
Gambar 2.7	Bentuk Ikatan Cisplatin dengan DNA	21
Gambar 2.8	Skema Reaksi Cisplatin Dalam Sel	22
Gambar 2.9	Mekanisme Apoptosis Karena Cisplatin	27
Gambar 2.10	Reaksi Glutamin Sintetase	30
Gambar 2.11	Skema Terbentuknya <i>Gluthation</i> dari Glutamin	31
Gambar 2.12	Skema Pembentukan Glutamin dari Glutamat	32
Gambar 2.13	Mekanisme Antiapoptosis dari Glutamin	34
Gambar 2.14	Peran Glutamin Dalam Menghambat ROS	35
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual	61
Gambar 4.1	Kerangka Operasional Penelitian	72
Gambar 5.1	Perbandingan Gambaran Tubulus Proksimal Ginjal yang Diekspresikan Sel Tubulus Proksimal Ginjal diantara Perlakuan pada Waktu yang Berbeda	85
Gambar 5.2	Nilai Rata-Rata Ekspresi HSP72 di Jaringan Ginjal pada setiap Kelompok Hewan Coba	87
Gambar 5.3	Perbandingan Gambaran Ekspresi HSP72 pada Sel Tubulus Proksimal Ginjal diantara Perlakuan pada Waktu yang Berbeda	88

Gambar 5.4	Nilai Rata-rata Ekspresi P53 di Jaringan Ginjal pada Setiap Kelompok Hewan Coba.....	90
Gambar 5.5	Perbandingan Gambaran Ekspresi P53 pada Sel Tubulus Proksimal Ginjal diantara Perlakuan pada Waktu yang Berbeda.....	91
Gambar 5.6	Nilai Rata-rata Ekspresi Caspase-3 di Jaringan Ginjal pada Setiap Kelompok Hewan Coba.....	93
Gambar 5.7	Perbandingan Gambaran Ekspresi Caspase-3 pada Sel Tubulus Proksimal Ginjal diantara Perlakuan pada Waktu Yang Berbeda	94
Gambar 5.8	Nilai Rata-rata Kejadian Apoptosis di Jaringan Ginjal Pada Setiap Kelompok Hewan Coba.....	96
Gambar 5.9	Perbandingan Gambaran Kejadian Apoptosis pada Sel Tubulus Proksimal Ginjal diantara Perlakuan pada Waktu yang Berbeda	97
Gambar 5.10	Hasil Analisis dalam Variabel Konstruk pada Lama Pengamatan 12 Jam	102
Gambar 5.11	Hasil Analisis dalam Variabel Konstruk pada Lama Pengamatan 72 Jam	102

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Output Uji Statistik	134
Lampiran 2 Kelayakan Etik	172



DAFTAR SINGKATAN

ADP	: <i>Adenosin diphosphate</i>
AIF	: <i>Apoptosis inducing factor</i>
AKI	: <i>Acute kidney injury</i>
AKIN	: <i>Acute kidney injury network</i>
ANOVA	: <i>Analisis of variance</i>
APAF-1	: <i>Apoptotic peptidase activating factor-1</i>
ARF	: <i>Acute renal failure</i>
ATP	: <i>Adenosin triphosphate</i>
CASPASE	: <i>Cysteine aspartate-specific protease</i>
DMBA	: <i>7,12-dimethylbenzaanthracene</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DISC	: <i>Death-inducing signaling complex</i>
ET-1	: <i>Endothelin - 1</i>
FADD	: <i>Fas associated death domain</i>
GgGA	: <i>Gangguan ginjal akut</i>
GGT	: <i>Gamma glutamil transpeptidase</i>
GSH	: <i>Gluthation</i>
GLN	: <i>Glutamine</i>
GLS	: <i>Phosphat-activated Glutaminase</i>
HSP	: <i>Heat Shock Protein</i>
ICAD	: <i>Initiator caspase-activated DNase</i>
I κ B	: <i>Inhibitor kappa beta</i>
LFG	: <i>Laju filtrasi glomerulus</i>
MAPK	: <i>Mitogen activated protein kinase</i>
MCP	: <i>Monocyte chematactic protein</i>
MHC	: <i>monohydrated complex</i>
NAC	: <i>N-Acetyl Cystein</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotidase phosphate</i>
NTA	: <i>Nekrosis tubular akut</i>

NFκB	: Nuclear factor kappa beta
OCT	: <i>Organic cation transporter</i>
PARP	: Poly (ADP- ribose) polymerase
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SMAC	: <i>Second mitochondria-derived activator of caspase</i>
TNF α	: Tumor necrosis factor alpha
TGF-β	: Transforming growth factor beta
TRAIL	: Tumor necrosis factor-alpha-related apoptosis inducing ligand
TNFR1	: Tumor necrosis factor receptor 1
VCAM-1	: Vascular cell adhesion molecul-1
JNK	: c-Jun NH2-terminal kinase

