

PENGARUH STRES OKSIDATIF PADA GINJAL TERHADAP KADAR KLOTHO

Endah Purnamasari¹, Endang Purwaningsih², Diniwati Mukhtar³, Astuti Giantini⁴

¹Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi, Jl. Let. Jend. Suprpto, DKI Jakarta

²Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi, Jl. Let. Jend. Suprpto, DKI Jakarta

³Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi, Jl. Let. Jend. Suprpto, DKI Jakarta

⁴Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, DKI Jakarta

*Corresponding author: Telp 082125490223, email: endah.purnamasari@yarsi.ac.id

ABSTRAK

Pada stres oksidatif terjadi peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan penurunan antioksidan. Akumulasi ROS dan ketidakseimbangan redoks menyebabkan disregulasi dan atau oksidasi protein, asam nukleat, karbohidrat, dan lipid yang semuanya berkontribusi terhadap apoptosis dan nekrosis sel. Stres oksidatif pada ginjal dapat menyebabkan disregulasi yang berlanjut menjadi kerusakan sel tubulus ginjal, terlibat dalam patofisiologi kerusakan ginjal akut maupun kronis, serta bertanggungjawab terhadap progresifitas penyakit ginjal. Klotho adalah protein transmembran single-pass yang diekspresikan terutama di tubulus distal dan sedikit di tubulus proksimal ginjal. Setelah dipecah oleh protease, Klotho dapat ditemukan di dalam darah dan urin. Klotho mempunyai peran perlindungan yang potensial melalui mekanisme anti inflamasi, aktivasi autofagi, meredam stress oksidatif, dan melindungi fungsi mitokondria. Bila sel tubulus ginjal mengalami stres oksidatif, maka kadar Klotho di darah dan urin menurun secara signifikan.

Kata Kunci: Stress Oksidatif, antioksidan, Klotho

ABSTRACT

In oxidative stress there is an increase in the production of reactive oxygen species (ROS) and a decrease in antioxidants. ROS accumulation and redox imbalance lead to dysregulation and/or oxidation of proteins, nucleic acids, carbohydrates, and lipids which all contribute to cell apoptosis and necrosis. Oxidative stress in the kidneys can cause dysregulation that leads to damage to renal tubular cells, is involved in the pathophysiology of acute and chronic kidney damage, and is responsible for the progression of kidney disease. Klotho is a single-pass transmembrane protein expressed mainly in the distal tubule and to a lesser extent in the proximal tubule of the kidney. After being broken down by proteases, Klotho can be found in the blood and urine. Klotho has a potential protective role through anti-inflammatory mechanisms, activating autophagy, reducing oxidative stress, and protecting mitochondrial function. When kidney tubule cells experience oxidative stress, Klotho levels in the blood and urine decrease significantly.

Keywords: Oxidative Stress, antioxidant, Klotho

PENDAHULUAN

Prevalensi nefropati diabetik, cedera ginjal akut (*Acute Kidney Injury* = AKI), dan penyakit ginjal kronis (*Chronic Kidney Disease* = CKD) meningkat pesat di seluruh dunia dan diprediksi akan terus meningkat menjadi penyebab kematian nomor lima pada tahun 2040, seiring dengan kejadian penyakit ginjal stadium akhir (*End Stage Renal Disease/ESRD*) yang tinggi. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya mekanisme multifaktorial yang belum dapat ditentukan secara klinis dan rinci yang bertanggung jawab atas kerusakan ginjal tersebut, diantaranya adalah adanya stres oksidatif pada ginjal.¹⁻⁴

Stres oksidatif didefinisikan sebagai peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan secara bersamaan terjadi penurunan pada sistem pertahanan antioksidan. Akumulasi ROS dan ketidakseimbangan redoks menyebabkan disregulasi dan atau oksidasi protein, asam nukleat, karbohidrat, dan lipid yang semuanya berkontribusi terhadap apoptosis sel dan nekrosis. Disregulasi yang disebabkan oleh stres oksidatif pada akhirnya menyebabkan kerusakan jaringan, terlibat dalam patofisiologi berbagai penyakit termasuk kerusakan ginjal akut dan kronis, serta bertanggungjawab terhadap progresifitas penyakit ginjal. Adanya stress oksidatif yang mengakibatkan peningkatan pembentukan ROS ini sudah terjadi sejak tahap awal kelainan ginjal.¹

Banyak hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar α Klotho (selanjutnya disebut Klotho), suatu protein transmembran single-pass yang terutama diekspresikan pada ginjal normal, terkait dengan stres oksidatif. Pada penelitian dengan percobaan sel tikus, stres oksidatif menurunkan ekspresi mRNA Klotho di

duktus koledokus, di sisi lain defisiensi Klotho terbukti meningkatkan pembentukan ROS endogen dan menimbulkan stres oksidatif. Kadar tinggi dari Klotho mengurangi jumlah sel apoptosis setelah adanya cedera akibat stres oksidatif.¹

Pembuatan tulisan ini dimaksudkan untuk menjelaskan mekanisme patogenesis stres oksidatif pada ginjal terhadap kadar Klotho, sehingga diharapkan dapat meningkatkan pemahaman selanjutnya dalam mencegah perburukan kelainan ginjal.

PROTEIN KLOTHO

Klotho adalah protein transmembran single-pass yang terutama diekspresikan pada ginjal normal dan mulai diidentifikasi sebagai protein antiaging hampir dua dekade lalu. Klotho banyak terdapat di tubulus distal dan sedikit di tubulus proksimal, serta bertindak sebagai koreseptor untuk *Fibroblast Growth Faktor23* (FGF23) yang memainkan peran penting dalam regulasi homeostasis fosfat dan kalsium dan dalam sintesis kalsitriol (bentuk aktif vitamin D). Di luar ginjal, Klotho juga diekspresikan pada kadar yang lebih rendah di otak, kelenjar paratiroid, sel darah tepi, dan jaringan pembuluh darah. Klotho transmembran mengalami pemecahan oleh protease ADAM10 dan ADAM17. Setelah dipecah, Klotho dikeluarkan ke dalam darah dan disebut Klotho terlarut. Di dalam tubulus ginjal, Klotho tidak difiltrasi oleh glomerulus, tetapi diekskresikan ke dalam urin. Oleh karena itu, Klotho terlarut dapat dideteksi di dalam darah, urin, dan cairan serebrospinal. Klotho terlarut bertindak sebagai faktor endokrin atau parakrin yang memberikan efek antiaging pada banyak organ termasuk ginjal, tulang, otak,

jantung, paru, dan endotel dengan cara menekan sinyal faktor pertumbuhan, menekan stress oksidatif, dan meregulasi beberapa mekanisme ion. Pada ginjal, Klotho mempunyai peran perlindungan yang potensial melalui mekanisme anti inflamasi, aktivasi autofagi, meredam stress oksidatif, dan melindungi fungsi mitokondria.^{1,2,5}

Pada penelitian dengan hewan percobaan tikus, defisiensi Klotho mengakibatkan masa hidup yang lebih pendek dan menimbulkan berbagai fenotipe yang menyerupai penuaan dini pada manusia, misalnya kalsifikasi pembuluh darah, infertilitas, emfisema, osteoporosis, atrofi kulit, rambut rontok, involusi timus, osteopenia, neuron motorik dan hipokampus degenerasi, dan gangguan kognitif. Sebaliknya, ekspresi tinggi dari Klotho memperpanjang masa hidup tikus, menekan sinyal insulin, dan memberikan resistensi terhadap stres oksidatif. Pada manusia, kadar Klotho didapatkan semakin menurun seiring bertambahnya usia. Penurunan kadar Klotho dikaitkan dengan penurunan fungsi ginjal, hipertensi, kanker, diabetes, dan penyakit kardiovaskular.¹

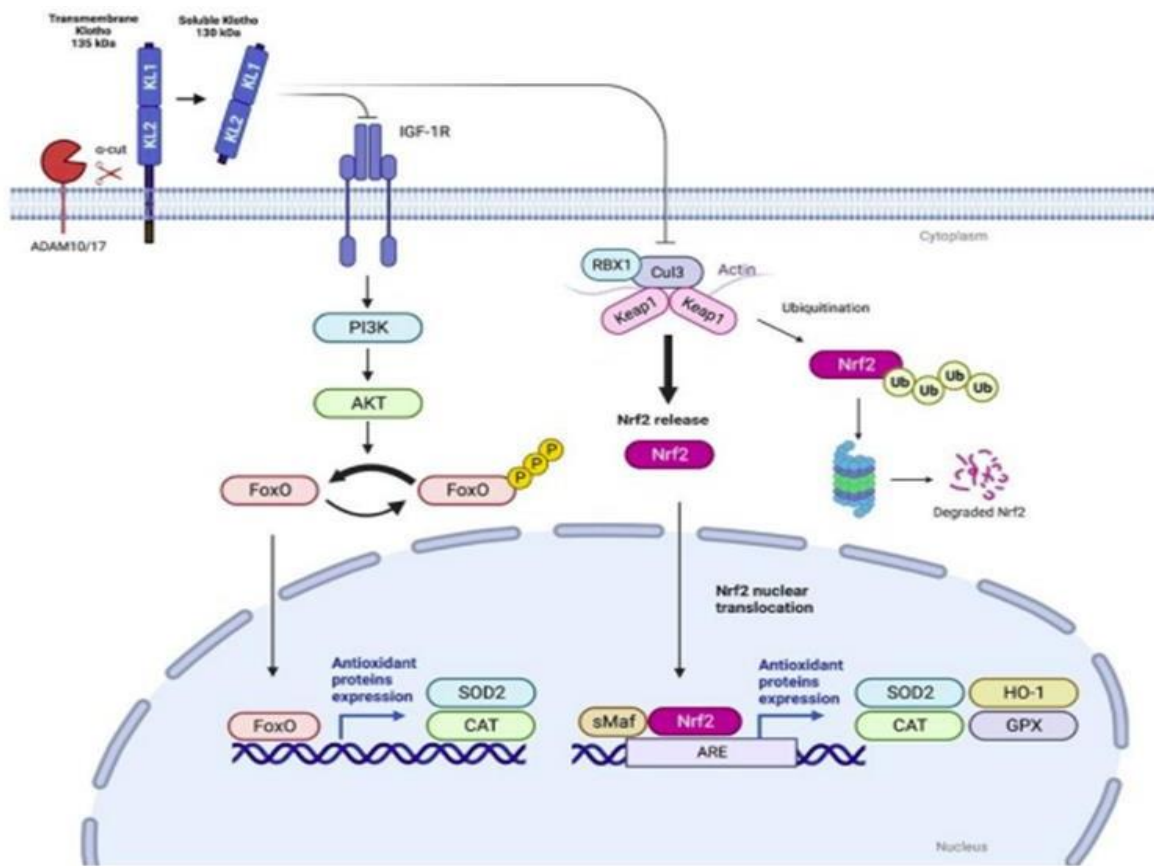
PERAN ANTIOKSIDAN DARI KLOTHO

Pertama kali penelitian yang menjelaskan mekanisme peran antioksidan Klotho dilakukan oleh Yamamoto dkk tahun 2005 menggunakan hewan percobaan tikus, di mana tikus yang mempunyai ekspresi Klotho tinggi menunjukkan resistensi terhadap stres oksidatif dengan cara menekan pensinyalan insulin, peningkatan ekspresi Mn-SOD di otot, dan berkurangnya FoxOs yang terfosforilasi. Tikus yang demikian mempunyai umur yang lebih panjang (20-30% lebih panjang) daripada tikus dengan

ekspresi klotho rendah.¹

Penelitian Mitobe dkk menemukan bahwa ekspresi tinggi dari gen Klotho mengurangi jumlah sel apoptosis setelah adanya cedera akibat stres oksidatif. Dalam penelitian menggunakan model tikus glomerulonefritis, peningkatan kadar Klotho dapat memperbaiki fungsi ginjal serta mengurangi fragmentasi mitokondria DNA dan apoptosis sel, menunjukkan bahwa Klotho dapat memperbaiki mitokondria akibat stres oksidatif.¹

Peran antioksidan Klotho diduga melibatkan pengurangan ROS melalui ekspresi protein antioksidan dan penekanan jalur sinyal stres oksidatif terkait ROS. Dalam hal ini, Klotho meningkatkan manganese-containing superoxide dismutase (Mn-SOD), catalase (CAT), heme oksigenase-1 (HO-1) dan glutathione peroxidase (GPX) melalui aktivasi protein forkhead box protein transcription factor O (FoxO) dan nuclear factor erythroid-2 related factor 2 (Nrf2). Mekanisme antioksidan yang dimediasi Klotho, tersaji pada Gambar 1 di bawah ini.¹



Gambar 1. Mekanisme antioksidan yang dimediasi Klotho terlarut.¹
Klotho menghambat jalur insulin/IGF1/PI3K/Akt/FoxO serta meningkatkan ekspresi SOD2 dan CAT.

Klotho transmembran dipecah oleh sekretase ADAM10/17, yang melepaskan domain ekstraseluler ke dalam ruang ekstraseluler. Klotho terlarut mengurangi stres oksidatif melalui penghambatan jalur insulin/IGF1/PI3K/Akt/FoxO serta meningkatkan ekspresi *superoksida dismutase* (SOD2) dan *catalase* (CAT). Klotho terlarut juga mengurangi stres oksidatif melalui aktivasi jalur pelindung seluler Nrf2, yang mendorong transkripsi gen yang terkait dengan pertahanan antioksidan, seperti *hemeoxygenase-1* (HO-1), SOD2, CAT, dan *glutathione peroxidase* (GPX).¹

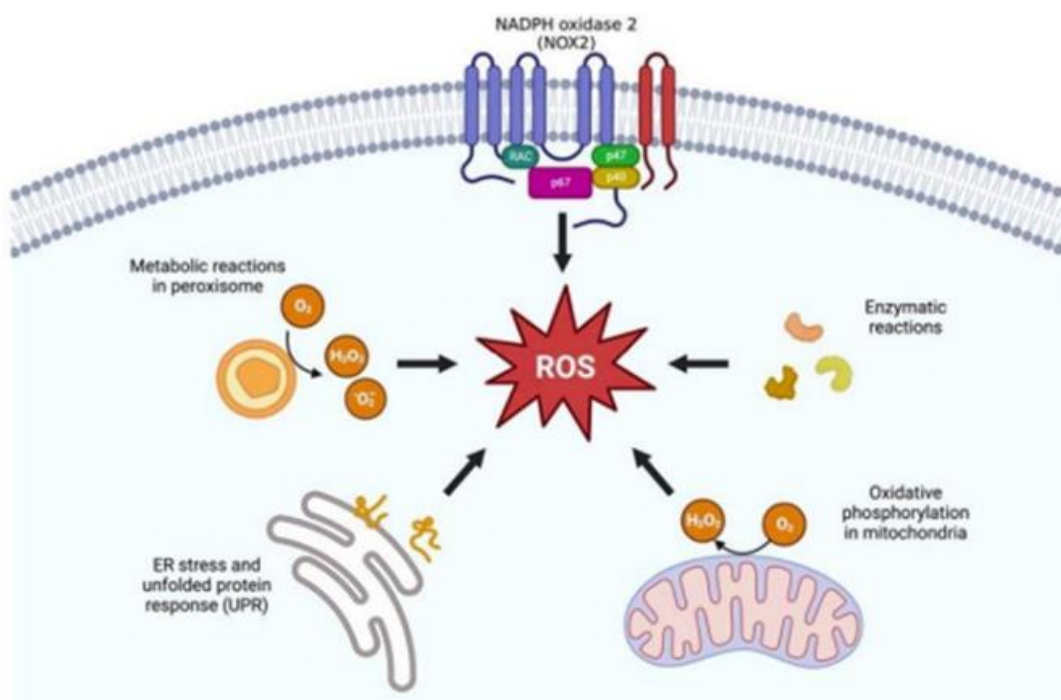
KADAR KLOTHO PADA KEADAAN STRES OKSIDATIF DI GINJAL

Ginjal adalah organ dengan metabolisme tinggi yang mengatur komposisi cairan tubuh melalui filtrasi dan reabsorpsi berbagai komponen. Di antara proses-proses tersebut, yang paling banyak membutuhkan energi adalah reabsorpsi aktif natrium, glukosa, dan ion-ion lain. Untuk melakukan fungsi utama yang penting ini, sel tubulus mengonsumsi adenosin trifosfat (ATP) dalam jumlah besar, yang dihasilkan secara eksklusif

melalui metabolisme aerobik. Hal ini menjelaskan adanya kepadatan mitokondria dan konsumsi oksigen yang tinggi di ginjal, yang menyumbang hingga 10% dari total konsumsi tubuh. Sel tubulus ginjal yang normal sangat penting untuk menjaga aktivitas fisiologis ginjal tersebut. Begitu pula sebaliknya, disfungsi sel tubulus memiliki konsekuensi berbahaya.¹

Organ yang berenergi tinggi seperti ginjal lebih rentan terhadap kerusakan yang ditimbulkan oleh stres oksidatif. Mekanisme pembentukan ROS endogen

secara ringkas ditampilkan pada Gambar 2 di bawah ini.¹



Gambar 2. Beberapa mekanisme pembentukan ROS endogen.¹

Mekanisme pembentukan ROS endogen yang memicu stress oksidatif diantaranya adalah sistem fosforilasi oksidatif di mitokondria yang merupakan sumber utama ROS endogen, stres retikulum endoplasma, reaksi metabolisme pada peroksisom, sistem NADPH oxidase 2 (NOX2), dan reaksi enzimatik. Studi terbaru menunjukkan

bahwa kelainan mitokondria terlibat dalam berbagai gangguan ginjal termasuk AKI, fibrosis ginjal, dan nefropati diabetik.^{1,2}

Beberapa penelitian telah mendukung hubungan saling ketergantungan antara peradangan dan stres oksidatif. Jika stres oksidatif muncul sebagai kelainan primer pada suatu organ,

peradangan akan berkembang dan selanjutnya akan memperburuk stres oksidatif. Sebaliknya jika peradangan adalah kelainan primer, stres oksidatif akan berkembang sebagai konsekuensinya yang selanjutnya akan memperburuk peradangan. Oleh karena itu, sangat penting dilakukan identifikasi kelainan primer secara klinis, karena pengobatan kelainan primer kemungkinan besar akan mempercepat kesembuhan. Tetapi, identifikasi kelainan primer memang tidak mudah karena stres oksidatif dan peradangan saling bergantung secara patofisiologis.^{2,6}

Sel tubulus ginjal sangat rentan terhadap stres oksidatif yang menginduksi munculnya proses penuaan. Proses penuaan pada sel kemudian memicu munculnya senescence-associated secretory phenotype (SASP) yang ditandai dengan sekresi sitokin proinflamasi, modulator imun, faktor pertumbuhan, protease, dan faktor profibrotik. Sel yang mengalami penuaan kemudian menimbulkan perubahan fisiologis, struktural, biokimia, dan molekuler yang terjadi secara progresif dan berpuncak pada penghentian pembelahan sel secara permanen. Hal ini menyebabkan timbulnya cedera ginjal akut (Acute Kidney Injury = AKI), mempercepat perubahan AKI menjadi CKD, dan perburukan CKD menjadi gagal ginjal. Pada teori lain, adanya sitokin proinflamasi seperti TNF-like weak inducer of Apoptosis (TWEAK) dan TNF α mengaktifasi mekanisme Nuclear factor-kappaB (NF-kB) yang selanjutnya memicu pembentukan ROS, stres oksidatif, dan selanjutnya menimbulkan AKI. Sel tubulus yang cedera akibat proses peradangan maupun stress oksidatif pada AKI dan CKD menurunkan ekspresi Klotho di sel tubulus dan selanjutnya menurunkan kadar Klotho terlarut di darah

dan urin.⁵⁻⁷

Pada penelitian hewan coba, hewan dengan kadar Klotho rendah memperlihatkan kerusakan ginjal dan fibrosis yang lebih parah serta risiko tinggi transisi AKI ke CKD daripada hewan dengan kadar klotho normal. Penurunan ekspresi Klotho pada CKD bukan disebabkan oleh kerusakan jaringan tubulus saja tetapi dapat disebabkan oleh hiperfosfatemia dan hipermetilasi atau deasetilasi promotor gen Klotho oleh sitokin inflamasi atau racun uremik.^{2,3,7}

Hal serupa juga terjadi pada nefropati diabetik, sulit untuk menentukan kelainan primer. Pada Diabetes Mellitus terdapat peningkatan kadar IL-6 dan IL-18 serum yang paralel dengan tingkat keparahan albuminuria dan berkorelasi dengan perubahan morfologi, misalnya penebalan membran basal glomerulus. IL-18 dapat menginduksi pelepasan interferon- γ (IFN- γ) dan produksi sitokin inflamasi lainnya, seperti IL-1 dan TNF- α . Peningkatan ekspresi TNF- α didapatkan pada sel epitel tubulus proksimal dan glomerulus. Melalui pensinyalan NF κ B, TNF- α dapat menginduksi transkripsi sitokin tersebut yang mempengaruhi kelangsungan hidup sel, proliferasi, adhesi, respon inflamasi, dan apoptosis. Selain itu, TNF- α berkontribusi terhadap progresifitas nefropati diabetik melalui beberapa mekanisme, antara lain penurunan GFR, vasokonstriksi akibat peningkatan produksi endothelin-1 (ET-1), penurunan laju filtrasi glomerulus, dan memberatnya proteinuria. Peningkatan produksi TNF- α juga dapat mengakibatkan stres oksidatif melalui aktivasi NADPH dalam sel mesangial. TNF- α juga diduga berperan dalam apoptosis dan efek sitotoksik pada sel glomerulus.⁴⁻⁶

Selain itu, kondisi hiperglikemik pada DM menginduksi pembentukan ROS

endogen yang memicu stres oksidatif, memicu aktivasi NF κ B dan sitokin pro inflamasi, selanjutnya menyebabkan cedera dan disfungsi sel endotel tubulus ginjal, dan akhirnya berkontribusi terhadap perburukan penyakit menjadi komplikasi serius yaitu nefropati diabetik. Sel endotel tubulus yang rusak menyebabkan ekspresi dari Klotho turun secara signifikan di plasma dan urin, sehingga kadar klotho di plasma dapat digunakan untuk memprediksi progresifitas nefropati diabetik dan penurunan kadar Klotho lebih cepat terjadi daripada penurunan laju filtrasi glomerulus. Penurunan kadar Klotho juga terlihat jelas di lingkungan uremik. Uremia meningkatkan stres oksidatif, penuaan pada sel endotel ginjal, dan selanjutnya menimbulkan penurunan kadar Klotho terlarut.^{1,5} Oleh karena itu, kadar Klotho di plasma atau urin diusulkan sebagai penanda dini cedera ginjal pada pasien DM.^{4,5}

KEPUSTAKAAN

1. Donate-Correa J, Martín-Carro B, Cannata-Andía JB, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. Klotho, Oxidative Stress, and Mitochondrial Damage in Kidney Disease. *Antioxidants*. 2023;12(2):1-19. doi:10.3390/antiox12020239
2. Neyra JA, Hu MC, Moe OW. Klotho in clinical nephrology: Diagnostic and therapeutic implications. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2021;16(1):162-176. doi:10.2215/CJN.02840320
3. EL-Fattah MEA, El-abaseri TB, Mohamed HMAE. α -Klotho as A Novel Biomarkers in Chronic Diabetic Nephropathy. *Int J Biochem* Res Rev. 2020;(December 2020):53-62. doi:10.9734/ijbcrr/2020/v29i1030237
4. Ciardullo S, Perseghin G. Soluble α -Klotho levels, glycemic control and renal function in US adults with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2022;59(6):803-809. doi:10.1007/s00592-022-01865-4
5. Typiak M, Piwkowska A. Antiinflammatory actions of klotho: Implications for therapy of diabetic nephropathy. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2):1-15. doi:10.3390/ijms22020956
6. Infante B, Conserva F, Pontrelli P, et al. Recent advances in molecular mechanisms of acute kidney injury in

KESIMPULAN

Stres oksidatif merupakan penyebab utama kondisi akut maupun kronis termasuk pada penyakit ginjal. Kondisi peradangan, hiperglikemik, dan uremik pada kerusakan ginjal seperti nefropati diabetik, AKI, dan CKD menginduksi pembentukan ROS yang memicu stress oksidatif dan selanjutnya menurunkan ekspresi Klotho secara signifikan. Pada kondisi tersebut dapat ditemukan penurunan kadar Klotho di dalam darah dan urin.

Beberapa penelitian terbaru merekomendasikan Klotho sebagai penanda dini kerusakan tubulus ginjal. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk membuktikan bahwa kadar Klotho di darah dan urin dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis dini kerusakan tubulus ginjal pada nefropati diabetik, AKI, dan CKD.

- patients with diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;13(January):1-14.
doi:10.3389/fendo.2022.903970
7. Al-Jewari K, Baban R, Manuti J. Serum and urinary soluble α -Klotho levels in patients with chronic kidney disease. *Baghdad J Biochem Appl Biol Sci*. 2021;2(01):29-38.
doi:10.47419/bjbabs.v2i01.35