

# Peran Nrf2 Dalam Patogenesis Stres Oksidatif dan Inflamasi pada Penyakit Ginjal Kronik

Kamalia Layal<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang

## Abstrak

Penyakit ginjal kronik (PGK) merupakan masalah kesehatan serius yang dapat membatasi usia harapan hidup dan meningkatkan biaya kesehatan. PGK ditandai dengan penurunan fungsi dan kerusakan struktur ginjal serta dapat mengalami komplikasi kardiovaskular ataupun berkembang menjadi penyakit ginjal stadium akhir. Stres oksidatif dan inflamasi diketahui berperan dalam patogenesis PGK. Ketidakseimbangan reactive oxygen spesies (ROS) dan pertahanan antioksidan mencetuskan keadaan ini. Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) merupakan faktor transkripsi yang dapat meningkatkan transkripsi berbagai antioksidan dan enzim-enzim detoksifikasi. Gen-gen protektif ini akan dengan cepat menetralkan ROS. Akan tetapi, pada PGK terjadi gangguan aktivasi dari Nrf2.

**Kata kunci:** Penyakit ginjal kronik , oxidative stress, Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) , inflamasi

## Abstract

Chronic kidney disease (CKD) is a serious health problem which is limit life span and increase health costs. Chronic kidney disease is characterized by deterioration of renal function and structural damage, and ultimately leads to end-stage renal disease (ESDR). Oxidative stress and inflammation play a key role in pathogenesis of chronic kidney disease, which is stimulated by an imbalance of reactive oxygen spesies (ROS) production and antioxidant defenses. Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) is a transcription factor involved in cell defense mechanism against oxidative stress, it increases transcription of several antioxidant and detoxification enzymes, but in chronic kidney disease there is disruption of Nrf2 activation.

**Kata kunci:** chronic kidney disease, oxidative stress, Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) , inflammation

## Pendahuluan

Penyakit ginjal kronik merupakan masalah kesehatan serius di seluruh dunia. PGK dapat membatasi usia harapan hidup dan meningkatkan sistem biaya kesehatan.<sup>1,2,3,4</sup> Stres oksidatif dan inflamasi mempunyai peran penting dalam patogenesis dan progresivitas PGK dan memiliki keterkaitan yang saling mempengaruhi.<sup>5,6,7</sup> Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara peningkatan produksi radikal bebas dan penurunan kapasitas dari antioksidan.<sup>2,5</sup> Penurunan antioksidan terutama disebabkan oleh gangguan aktivasi dari *nuclear factor-erythroid-2 related factor 2* (Nrf2), faktor transkripsi yang mengatur gen yang mengkode antioksidan dan enzim detoksifikasi. Pada kondisi fisiologis, stres oksidatif akan memicu *up regulation* dari antioksidan endogen dan protein sitoprotektif untuk mencegah atau membatasi kerusakan jaringan. Proses ini diperantarai oleh aktivasi Nrf2 yang akan mengaktifkan laju transkripsi berbagai gen antioksidan dan enzim detoksifikasi.<sup>5,6</sup>

Regulasi antioksidan seluler dan antiinflamasi oleh Nrf2 berperan dalam pertahanan melawan stres oksidatif. Gangguan aktivasi Nrf2 pada hewan coba dapat melemahkan induksi gen yang mengkode antioksidan. Stres oksidatif seharusnya menyebabkan peningkatan aktivasi Nrf2, namun pada hewan coba dengan penyakit ginjal kronik menunjukkan bahwa aktivitas dan ekspresi Nrf2 mengalami penurunan.<sup>6</sup>

## Penyakit Ginjal Kronik

Penyakit ginjal kronik adalah kondisi terjadinya kerusakan ginjal yang berlangsung lebih dari 3 bulan dan ditandai dengan adanya abnormalitas struktur dan fungsi ginjal dengan atau tanpa penurunan *glomerular filtration rate* (GFR) dengan manifestasi berupa kelainan patologi dan tanda-tanda kerusakan ginjal termasuk abnormalitas kimia darah dan urin atau GFR < 60 ml/menit per 1.73 m<sup>2</sup> selama lebih dari 3 bulan.<sup>1</sup> Pasien dengan PGK mempunyai risiko tinggi mengalami kematian akibat stroke atau serangan jantung dan dapat juga berkembang menjadi gagal ginjal total yang permanen (*end stage renal disease*, ESRD).<sup>2</sup>

Penyakit ginjal kronik dengan risiko kardiovaskular yang tinggi tidak hanya disebabkan oleh faktor kardiovaskular tradisional seperti diabetes, hipertensi, ataupun hiperlipidemia. Namun faktor risiko nontradisional juga ikut berperan, antara lain uremia, proteinuria, peningkatan aktivitas sistem renin angiotensin, infeksi, inflamasi dan stres oksidatif.<sup>8,9</sup>

Penurunan fungsi ginjal seringkali berhubungan dengan stres oksidatif. Hal itu tampak dari ditemukannya peningkatan penanda stres oksidatif termasuk produk oksidasi protein, malondialdehid, LDL teroksidasi pada pasien dengan penyakit ginjal.<sup>8</sup>

Penelitian akhir-akhir ini menunjukkan bahwa pasien dengan PGK, kadar hidroperoksida lipid plasma dan

LDL teroksidasi lebih tinggi dari subjek normal dan tidak ada perbedaan kapasitas antioksidan total plasma. Hal itu menunjukkan bahwa terjadi perubahan status stres oksidatif pada pasien PGK. Selain itu dilaporkan juga adanya peningkatan beberapa marker inflamasi seperti *C-reactive protein*, IL-6, TNF  $\alpha$  pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal.<sup>8</sup> Meskipun mekanisme yang tepat yang berkontribusi terhadap tingginya inflamasi pada penyakit ginjal kronik tidak diketahui dengan baik, ROS merupakan kontributor potensial dalam terjadinya inflamasi ketika fungsi ginjal mengalami penurunan.<sup>8</sup>

### **Stres Oksidatif dan Disfungsi Mitokondria**

Stres oksidatif merupakan suatu kondisi dimana pembentukan ROS melebihi kapasitas sistem pertahanan antioksidan. Hal tersebut terjadi akibat peningkatan produksi ROS, penurunan pertahanan antioksidan ataupun keduanya. Ketidakseimbangan ini mengakibatkan oksidasi biomolekul, perubahan struktur dan fungsi molekul. ROS utama yang dihasilkan oleh tubuh adalah superoxide anion ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $OH^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ).<sup>2,5,10</sup>

Produksi ROS umumnya terjadi di mitokondria. Di mitokondria dihasilkan anion superoxide ( $O_2^-$ ) dalam level yang tinggi sebagai hasil fosforilasi oksidatif dan akan diubah menjadi menjadi senyawa  $H_2O_2$  yang stabil oleh mangan superoxide

dismutase. Selain itu, ROS juga dihasilkan di retikulum endoplasma, peroksisom dan lisosom. 1-3% molekul oksigen diubah menjadi  $O_2^-$  yang juga dapat bertindak sebagai prekursor  $H_2O_2$ . Pada sel normal,  $H_2O_2$  akan diubah menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  oleh katalase atau glutathion peroksidase. Namun  $H_2O_2$  berpotensi untuk berinteraksi dengan berbagai molekul dan menimbulkan kerusakan, terutama dengan adanya ion logam  $Fe^{2+}$ . Interaksi tersebut akan memecah  $H_2O_2$  menjadi  $OH^-$ , suatu molekul reaktif (Gambar1). Studi menunjukkan bahwa disfungsi mitokondria terlibat dalam patogenesis transisi epitel mesenkim pada sel epitel tubulus proksimal ginjal yang berdampak pada fibrosis ginjal. Selain itu pada model hewan obstruksi ureter unilateral menunjukkan terjadinya penurunan protein mitokondria pada stadium awal fibrosis ginjal.<sup>2,5,11</sup>

Pada sel normal, biogenesis mitokondria dan degradasi (mitophagy) terjadi secara harmonis, ketidakseimbangan proses tersebut berkontribusi terhadap terjadinya stres oksidatif dan penurunan metabolisme seluler. Mitophagy terjadi secara autophagy, suatu mekanisme regulasi sel nonselektif untuk mendegradasi organel sel yang sudah tidak berfungsi oleh sistem lisosom.

Tabel 1. Beberapa spesies reaktif<sup>2</sup>

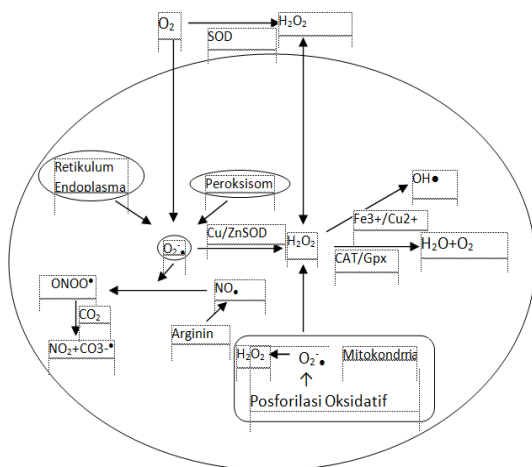
	Free radicals	Non-radicals
<b>Reactive oxygen species</b>	Superoxide ( $O_2^-$ )	Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )
	Hydroxyl ( $OH^\bullet$ )	Organic peroxides (R-OOH) e.g. lipid peroxides
	Peroxyl ( $R-O^\bullet$ )	Hypochlorous acid (HOCl)
<b>Reactive nitrogen species</b>	Nitric oxide (NO)	Peroxynitrite ( $ONOO^-$ )
	Nitrogen dioxide ( $NO_2$ )	

Respon ini ditingkatkan oleh penurunan produksi ATP akibat disfungsi mitokondria, dan diregulasi oleh adenosine monophosphate-activated protein kinase. Peningkatan biogenesis mitokondria merupakan mekanisme untuk mengurangi kerusakan metabolik sel. Namun, meningkatnya jumlah mitokondria dapat memperburuk atau mengakibatkan hipoksia jaringan karena peningkatan konsumsi oksigen.<sup>2</sup>

**Sistem Pertahanan Alami: Antioksidan Endogen**

Produksi ROS biasanya diimbangi dengan ketersediaan enzim antioksidan seluler seperti superoksid dismutase, katalase, glutathion peroksidase. Studi in vivo menemukan kerusakan oksidatif terjadi akibat penurunan level dari antioksidan endogen ini dibandingkan dengan peningkatan produksi ROS. Akan tetapi, bagaimanapun keduanya terlibat dalam fungsi normal sel.<sup>2</sup>

Berdasarkan cara kerjanya antioksidan diklasifikasikan menjadi tiga kelompok yaitu; antioksidan primer: mencegah pembentukan radikal baru, antioksidan sekunder: menangkap radikal bebas, antioksidan tersier: memperbaiki molekul yang teroksidasi akibat aktivitas radikal bebas. Berdasarkan sumbernya dikelompokkan menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Selain itu antioksidan juga dapat dibagi dalam kelompok antioksidan enzimatik antara lain superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase, glutathion reduktase



Gambar 1. Produksi dan metabolisme radikal bebas

dan nonenzimatik termasuk glutation, vitamin E dan vitamin C.<sup>12</sup>

### **Stres Oksidatif dan Inflamasi Pada Penyakit Ginjal Kronik**

Stres oksidatif dan inflamasi merupakan karakteristik penyakit ginjal, keduanya berperan dalam patogenesis dan progresivitas penyakit ginjal kronik serta timbulnya komplikasi. Faktor yang berperan dalam menginduksi stres oksidatif pada penyakit ginjal kronik antara lain pembentukan radikal bebas di mitokondria.<sup>5,6,13</sup> Proses ini terjadi selama metabolisme oksigen ketika sejumlah elektron melewati rantai transport elektron dan secara langsung dapat mengakibatkan reduksi molekul oksigen menjadi anion superoksida.<sup>2,9</sup> yang selanjutnya akan menimbulkan reaksi rantai radikal. Ginjal merupakan organ yang sangat energik, karena itu sangat bergantung pada metabolisme aerobik untuk produksi ATP. Reduksi molekul oksigen selama rantai transpor elektron dalam mitokondria sangat penting untuk fungsi selular ginjal.<sup>2</sup> Reaksi rantai radikal yang dihasilkan pada saat metabolisme tersebut dan berpotensi merusak ini dapat dilawan oleh antioksidan enzimatis dan nonenzimatik. Namun, pada penyakit ginjal kronik keseimbangan redoks tidak terjadi sehingga menimbulkan disregulasi proses seluler dan berakhir pada kerusakan jaringan.

Interaksi stres oksidatif dan inflamasi memiliki hubungan yang tidak dapat dipisahkan, stres oksidatif dapat memicu proses inflamasi melalui aktivasi

NF- $\kappa$ B dan sebaliknya inflamasi dapat melepaskan ROS.<sup>6</sup> Inflamasi merupakan mekanisme yang sensitif redoks, stres oksidatif dapat mengaktifkan faktor transkripsi seperti NF- $\kappa$ B, yang meregulasi ekspresi gen mediator inflamasi. NF- $\kappa$ B merupakan faktor dimer yang dipertahankan dalam keadaan inaktif dalam sitoplasma dengan berikatan pada protein inhibitor (anggota family I- $\kappa$ B). Fosforilasi, ubiquinasi dan proteolisis akan melepaskan dan mentransfer NF- $\kappa$ B ke dalam nukleus dan mengaktifasi gen-gen spesifik yang berperan dalam proses inflamasi antara lain sitokin, chemokines.<sup>8</sup> Komponen sistem NF- $\kappa$ B terekspreasi tinggi pada pasien penyakit ginjal kronik, yang memperantarai patogenesis inflamasi kronik.<sup>14</sup>

### **Peran Gangguan Aktivasi Nrf2 Terhadap Patogenesis Stres Oksidatif dan Inflamasi**

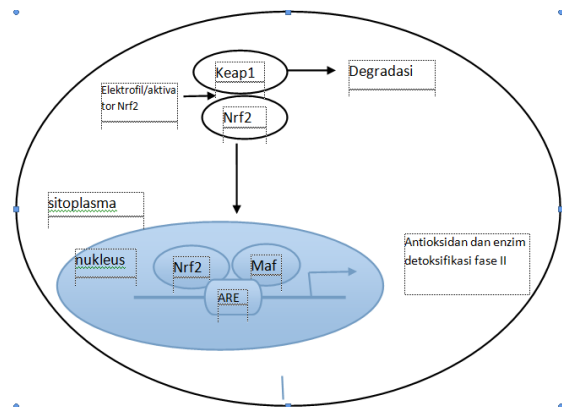
Telah diuraikan bahwa stres oksidatif dan inflamasi berperan penting dalam patogenesis dan progresivitas PGK. Peningkatan produksi ROS menimbulkan kerusakan dan disfungsi jaringan dengan menyerang, mendenaturasi dan memodifikasi struktur dan fungsi molekul dan mengaktifkan faktor transkripsi yang sensitif redoks dan jalur transduksi sinyal. Hal ini akan memicu terjadinya nekrosis, apoptosis, inflamasi, fibrosis. Sistem redoks termasuk enzim antioksidan dan enzim detoksifikasi fase 2 akan melindungi jaringan dari kerusakan yang diakibatkan oleh ROS. Nrf2 berperan penting dalam

aktivitas basal dan menginduksi gen-gen yang mengkode beberapa antioksidan dan enzim detoksifikasi fase 2.<sup>15</sup>

Nrf2 adalah faktor transkripsi sitoprotektif penting. Nrf2 akan diaktifkan dengan adanya oksidan, elektrofil, ataupun stres retikulum endoplasma. Nrf2 terdiri dari 6 domain yaitu: Neh1 merupakan domain yang mengandung struktur bZIP yang dibutuhkan untuk berikatan dengan DNA dan membentuk dimer. Neh2 sisi yang berinteraksi dengan Keap1. Neh3,4,5 memperlantai aktivitas transaktivasi Nrf2 dengan berikatan pada CREB binding protein (CBP) dan domain Neh6 yang berperan dalam regulasi negatif.<sup>16, 17</sup>

Dalam kondisi basal, Nrf2 berlokasi di sitoplasma dan inaktif, berikatan dengan molekul represor *kelch-like ECH association protein 1* (Keap1) membentuk kompleks Nrf2-Keap1. Keap1 terdiri dari beberapa residu sistein yang bertindak sebagai sensor terhadap status redoks intraselular. Nrf2 secara cepat akan didegradasi oleh jalur ubiquitin proteosom. Sinyal dari ROS dan elektrofil akan mengakibatkan disosiasi Nrf2 dari Keap1. Kemudian, Nrf2 akan bertranslokasi ke nukleus. Di dalam nukleus, Nrf2 terikat pada sekuens regulator yang disebut *antioxidant response element* atau *electrophile response elements* (ARE/EpRE) yang berlokasi di regio promotor dari gen yang mengkode antioksidan dan enzim detoksifikasi fase 2. Proses ini diperantarai oleh heterodimerisasi dari Nrf2 dengan faktor transkripsi lainnya, seperti small Maf, yang berada dalam nukleus. Selanjutnya, akan meningkatkan transkripsi dari berbagai

antioksidan, enzim detoksifikasi fase 2 dan protein yang berkaitan seperti katalase, superoksid dismutase, NAD(P)H quinone reductase, heme oksigenase-1, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, thioredoxin, dan lainnya. (Gambar 2)<sup>15,11,17,18</sup> Gen-gen protektif ini dengan cepat akan menetralkan, mendetoksifikasi berbagai xenobiotik yang menyerang.<sup>19</sup>



Gambar 2. Aktivasi Nrf2 (Respon terhadap ROS, Nrf2 bertranslokasi ke nukleus dan berikatan pada ARE).<sup>20</sup>

Beberapa studi menunjukkan terjadi gangguan aktivasi dari Nrf2 pada PGK, antara lain, studi yang dilakukan oleh Aminzadeh MA, dkk. Studi tersebut menunjukkan pada hewan coba model PGK yang diinduksi dengan diet yang mengandung adenine yang mengakibatkan tubule-interstitial nefropati (TIN), menghasilkan penurunan yang bermakna dari Nrf2 dalam nukleus dan peningkatan Keap1 pada jaringan ginjal. Hal ini diikuti dengan *down regulation* dari produk gen target Nrf2 termasuk katalase, Heme Oksigenase-1, dan glutamate sistein ligase pada jaringan ginjal yang mengalami TIN. Selain itu, dibandingkan dengan kelompok

kontrol, kelompok yang mengalami TIN menunjukkan peningkatan I $\kappa$ B yang mengalami fosforilasi dan aktivasi NF $\kappa$ B, serta up regulation dari siklooksigenase-2 dan 12-lipooksigenase pada jaringan ginjal. Hal tersebut sejalan dengan studi lainnya yang menggunakan tikus Imai dengan glomerulosklerosis segmental fokal progresif spontan.<sup>6</sup> Selain itu, Hyun JK dan Nosratola DV juga mengungkapkan adanya gangguan aktivasi Nrf2 yang berperan terhadap penyakit ginjal kronik pada tikus yang diinduksi dengan 5/6 nefrektomi.<sup>15</sup> Hal ini menunjukkan bahwa gangguan aktivasi Nrf2 pada PGK yang disebabkan oleh berbagai etiologi yang berbeda dapat menunjukkan perannya sebagai mediator umum dalam patogenesis stres oksidatif dan inflamasi pada PGK.

Adapun peran Nrf2 dalam proses inflamasi adalah dengan menghambat faktor transkripsi NF- $\kappa$ B sehingga terjadi penurunan proses inflamasi. Gangguan Nrf2 berakibat pada penurunan hambatan terhadap faktor transkripsi dari NF- $\kappa$ B, selanjutnya terjadi peningkatan ekspresi dari gen-gen yang mengkode mediator inflamasi.

## Simpulan

Penyakit ginjal kronik merupakan suatu kondisi terjadinya kerusakan ginjal secara progresif, ginjal akan mengalami penurunan atau tidak dapat melakukan fungsinya dengan baik. Hal tersebut ditandai dengan adanya kelainan patologi

dan tanda-tanda kerusakan ginjal berupa abnormalitas kimia darah dan urin. Berbagai faktor dapat memicu keadaan ini, baik faktor kardiovaskular tradisional seperti hipertensi, diabetes mellitus ataupun faktor nontradisional antara lain berupa stress oksidatif dan inflamasi.

Stres oksidatif dan inflamasi mempunyai peran dalam patogenesis berbagai penyakit termasuk PGK. Keduanya saling mempengaruhi dan dapat meningkatkan kejadian satu sama lain. Ketidakseimbangan produksi radikal bebas dan pertahanan oksidan mengakibatkan stres oksidatif yang akan memicu inflamasi dan sebaliknya inflamasi akan menghasilkan radikal bebas. Mekanisme tubuh untuk melawan keadaan ini adalah melalui pertahanan antioksidan. Dengan adanya radikal bebas tubuh akan menghasilkan antioksidan. Produksi antioksidan ini diatur oleh Nrf2, suatu faktor transkripsi yang dapat meningkatkan produksi dari berbagai antioksidan endogen. Akan tetapi, pada PGK, adanya stres oksidatif tidak diikuti dengan peningkatan sistem pertahanan antioksidan tubuh, hal itu disebabkan adanya gangguan aktivasi dari faktor transkripsi Nrf2.

## Daftar Pustaka

1. National Kidney Foundation. K/DOQI. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. New York: National Kidney Foundation Inc; 2008.

2. Small DM, Coombes JS, Bennet N, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrol* 2012; 17:311-321.
3. Rivera JR, Ortiz A, Egidio J. Antioxidant in kidney disease: the impact of bardoxolone methyl. *Int J Nephrol* 2012; 32:1714.
4. Quiroz Y, Ferrebuz A, Vaziri ND, Iturbe BR. Effect of chronic antioxidant therapy with superoxide dismutase-mimetic drug, tempol, on progression of renal disease in rats with renal mass reduction. *Nephron Exp Nephrol*. 2009;112:e31-e42
5. Ruiz S, Pergola PE, Zager RA, Vaziri ND. Targeting the transcription factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2013;83(6): 1029-1041
6. Aminzadeh MA, Nicholas SB, Norris KC, Vaziri ND. Role of impaired Nrf2 activation in the pathogenesis of oxidative stress and inflammation in chronic tubule-interstitial nephropathy. *Nephrol Dial transpl* 2013.
7. Soetikno V, Sari FR, Lakshmanan AP, Arumugam S, Harima M, Suzuki K, et al. Curcumin alleviate oxidative stress, inflammation, and renal fibrosis in remnant kidney through the Nrf2-keap1 pathway. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57:1649-1659.
8. Cachofeiro V, Gooicochea M, Vinuesa SG, Qubina P, Lahera P, Luno J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney International*. 2008; (suppl 111): 54-59
9. Sundaram SPM, Nagarajan S, Devi AJM. Chronic kidney disease-effect of oxidative stress. *Chinese Journal of Biology*. 2014
10. Kuo KL, Tarnag DC. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Adaptive Medicine*. 2010; 2(2): 87-94
11. Choi B, Kang KS, Kwak MK. Effect of redox modulating Nrf2 activators on chronic kidney disease. *Molecules*. 2014;19:12727-59.
12. Noori S. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. *Scientific reports*.2012; 1:413
13. Sung CC, Hsu YC, Chen CC, Lin YF, Wu CC. Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patient with chronic kidney disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013;30:1982:1-15.
14. Pedruzzi LM, Cardozo L, Dalprane JB, Stockler-Pinto MB, Monteiro EB, Leite M, et al. Inflammation and oxidative stress in hemodialysis patients are associated with downregulation of Nrf2. *J Nephrol*. 2014.
15. Kim HJ, Vaziri ND. Contribution of impaired Nrf2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298: F662-F671.
16. Kobayashi M, Yamamoto M. Molecular mechanism activating the Nrf2-keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxidant and Redox Signaling*. 2005; 7(3&4)
17. Turpaev KT. Keap1-Nrf2 signaling pathway: Mechanisms of regulation and role in protection of cells against toxicity caused by xenobiotics and electrophiles. *Biochemistry (Moscow)*. 2013;78(2):111-126.
18. Tanigawa S, Fujii M, Hou DX. Action of Nrf2 and keap 1 in ARE-mediated NQO1 expression by quercetin. *Free Radical Biology & Medicine*. 2007;42:1690-1703



19. Li W, Khor TO, Xu C, Shen G, Jeong WS, Yu S, Kong A. Activation of Nrf2-antioxidant signaling attenuate NF- $\kappa$ B inflammatory response and elicits apoptosis. *Biochem Pharmacol.* 2008; 76(11): 1485-1489
20. Joshi G, Johson JA. The Nrf2-ARE pathway: a valuable therapeutic target for the treatment of neurodegenerative disease. *Recent Pat CNS Drug Discov.* 2012; 7(3): 218-229