

---

# Hubungan Kadar Serum Metabolit Nitrit Oksida dan Gangguan Fungsi Ginjal pada Sepsis

*Jose M. Mandei, Ronald Chandra, Rocky Wilar, Ari L. Runtunuwu, Jeanette I. Ch. Manoppo, Adrian Umbob*

Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado

**Latar belakang.** Sepsis adalah respons sistemik terhadap infeksi dengan salah satu komplikasinya berupa gagal organ ginjal. Peran nitrit oksida (NO) sebagai mediator yang terlibat dalam mekanisme gagal organ ginjal kasus sepsis masih bersifat kontroversi.

**Tujuan.** Mengevaluasi hubungan antara kadar serum NO dan gangguan fungsi ginjal pada sepsis anak.

**Metode.** Desain penelitian potong lintang secara konsekutif dilaksanakan sejak bulan Juni sampai November 2012 dengan sampel anak usia satu bulan sampai lima tahun yang didiagnosis sepsis. Pemeriksaan kadar serum kreatinin mencerminkan fungsi ginjal dan kadar serum metabolit NO (nitrat dan nitrit) mencerminkan kadar NO endogen. Uji korelasi menggunakan uji korelasi Spearman, dinyatakan bermakna apabila  $p < 0,05$ . Data diolah menggunakan piranti lunak SPSS 19.00

**Hasil.** Diperoleh 40 subjek dengan median usia 8,5 bulan (2 sampai 70 bulan) dan 22 di antaranya anak laki-laki. Kadar metabolit NO ditemukan berhubungan dengan kadar serum kreatinin ( $r_s = 0,33$ ;  $p = 0,041$ ).

**Kesimpulan.** Terdapat hubungan antara peningkatan kadar serum NO dan terjadinya gangguan fungsi ginjal pada anak dengan sepsis. **Sari Pediatri** 2013;15(4):259-63.

**Kata kunci.** Sepsis, nitrit oksida, kreatinin, fungsi ginjal.

Sepsis adalah respons sistemik terhadap infeksi yang merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada anak dengan perkiraan 42.000 kasus per tahun di Amerika Serikat dan

rerata mortalitas 10%.<sup>1-3</sup> Salah satu komplikasi sepsis yang paling serius adalah gangguan ginjal akut. Hal ini disebabkan karena gangguan ginjal akut berhubungan dengan keparahan sepsis dan peningkatan biaya rawatan rumah sakit.<sup>4</sup>

Patofisiologi sepsis sampai saat ini masih belum diketahui dengan pasti.<sup>5</sup> Teori yang banyak dianut sampai saat ini adalah respons inflamasi yang tidak terkontrol dengan kehilangan homeostasis normal antara respons inflamasi sistemik dan anti-inflamasi.<sup>2</sup> Kegagalan organ sebagai kelanjutan dari perjalanan

---

## Alamat korespondensi:

Dr. Jose M. Mandei, Sp.A. Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi/ RSUP Prof. R.D. Kandou. Jl. Raya Tanawangko, Malalayang Manado. Telp. (0431) 821652. Fax. (0431) 859091. E-mai: [jose\\_mandei@idai.or.id](mailto:jose_mandei@idai.or.id)

sepsis banyak dilaporkan berhubungan dengan produksi nitrit oksida (NO) yang berlebihan, depleksi antioksidan, penurunan konsentrasi ATP, dan disfungsi mitokondria.<sup>6</sup>

Nitrit oksida merupakan salah satu gas radikal bebas yang sering dihubungkan dengan patofisiologi kegagalan sirkulasi dan disfungsi organ pada sepsis.<sup>7</sup> Walaupun demikian, hubungan NO dan gangguan fungsi ginjal pada pasien sepsis sampai saat ini masih kontroversi. Sebagian peneliti melaporkan terdapat hubungan antara NO dan fungsi ginjal,<sup>8-10</sup> tetapi peneliti lain melaporkan hal yang bertentangan.<sup>11-13</sup> Atas dasar tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk menganalisis hubungan antara kadar serum NO dan fungsi ginjal dengan hipotesis semakin tinggi kadar serum NO semakin besar kemungkinan terjadinya gangguan fungsi ginjal.

## Metode

Desain penelitian potong lintang dilaksanakan sejak bulan Juni 2012 sampai Nopember 2012 dengan pengambilan sampel secara konsekutif dari anak usia satu bulan sampai lima tahun yang didiagnosis sepsis di Instalasi Ruang Darurat Anak RSUP Prof. Dr. R.D. Kandou, Manado. Diagnosis sepsis ditegakkan

berdasarkan kriteria *International Pediatric Sepsis Consensus Conference*, 2005.<sup>3</sup> Seluruh orangtua yang ikut dalam penelitian menyetujui keikutsertaan anaknya setelah mendengar penjelasan dan menandatangani persetujuan penelitian (*informed consent*). Kriteria eksklusi penelitian adalah anak dengan diagnosis dehidrasi berat, gizi buruk atau obesitas, trauma, luka bakar, defisiensi sistim imun, pankreatitis akut, dan anak yang memiliki riwayat penyakit ginjal dalam enam bulan terakhir. Besar sampel dihitung berdasarkan rumus korelasi dan diperoleh jumlah sampel minimal 38 subjek. Penelitian ini telah disetujui Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi/ RSUP Prof. Dr. R.D. Kandou, Manado.

Data diperoleh dari anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan laboratorium pada saat di Instalasi Ruang Darurat Anak RSUP Prof. Dr. R.D. Kandou, Manado. Pemeriksaan fungsi ginjal dilakukan melalui pemeriksaan kadar serum kreatinin sedangkan kadar serum NO dilakukan melalui pemeriksaan kadar serum metabolit NO yaitu nitrat dan nitrit. Sampel darah untuk pemeriksaan kadar serum metabolit NO disentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 15 menit dan serum yang diperoleh disimpan pada suhu -20°C sebelum dikirim ke *Laboratory Research and Esoteric Testing* Laboratorium Klinik Prodia Jakarta. Pemeriksaan kadar serum metabolit NO menggunakan

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	Satuan
Jumlah, (n)	40
Jenis kelamin, (n)	
Laki-laki	22
Perempuan	18
Usia, median (rentang), bulan	8,5 (2 - 70)
Status gizi (n, <i>Z score</i> )	
Gizi lebih	1
Gizi normal	28
Gizi kurang	11
Penyakit dasar, (n)	
Bronkopneumonia	33
Meningoensefalitis	11
Diare akut	11
Kadar leukosit, rerata (SB), /mm <sup>3</sup>	16.964,25 (8.134,24)
Kadar serum kreatinin, median (rentang), mg/dL	0,65 (0,2 - 2,5)
Kadar serum metabolit NO, median (rentang), µM	12,05 (3,3 - 72,6)
Kultur darah, (n)	
<i>S.pneumoniae</i>	1
<i>E. aerogenes</i>	1

metode kalorimetri. Hasil kadar serum kreatinin dalam mg/dL dan kadar serum metabolit NO dalam satuan  $\mu\text{M}$ .

Analisis statistik dilakukan dengan uji Kolmogorov Smirnov untuk mengetahui distribusi data dan uji korelasi dilakukan dengan uji korelasi Spearman. Data distribusi normal dinyatakan dalam rerata dan simpangan baku (SB) sedangkan distribusi tidak normal dinyatakan dalam median dan rentang. Hubungan bermakna apabila nilai  $p < 0,05$ . Analisis data menggunakan piranti lunak SPSS 19.00.

## Hasil

Empatpuluh subjek dilibatkan dengan median usia 8,5 bulan (dua sampai 70 bulan), terdiri dari 22 subjek laki-laki. Dua puluh delapan subjek penelitian memiliki status gizi normal. Penyakit dasar sebagai penyebab sepsis didominasi bronkopneumonia (33/40), sedangkan meningoensefalitis dan diare akut memiliki proporsi yang sama (11/40). Hasil median kadar serum kreatinin subjek penelitian adalah 0,65 mg/dL dengan rentang 0,2 sampai 2,5 mg/dL sedangkan median kadar serum metabolit NO adalah 12,05  $\mu\text{M}$  dengan rentang 3,3 sampai 72,6  $\mu\text{M}$ . Karakteristik subjek penelitian tertera pada Tabel 1. Diperoleh hubungan antara kadar serum metabolit NO dan kadar serum kreatinin pada pasien sepsis ( $P=0,041$ ,  $rs=0,33$ ) (Tabel 2).

Tabel 2. Hubungan antara kadar serum metabolit NO dan kadar serum kreatinin

Kadar dalam serum	Koefisien korelasi (rs)	p
Metabolit NO ( $\mu\text{M}$ )	0,33	0,041
Kreatinin (mg/dL)		

## Pembahasan

Gangguan ginjal akut merupakan komplikasi sepsis paling sering ditemukan dengan mortalitas yang tinggi.<sup>14-17</sup> Berbagai mekanisme diduga sebagai penyebab kegagalan organ pada sepsis, seperti penurunan perfusi organ yang berhubungan dengan hipotensi sistemik, apoptosis, akumulasi leukosit dan inflamasi, dan deposisi fibrin.<sup>14</sup> Secara klasik, mekanisme gangguan ginjal akut akibat sepsis diduga melalui hipoperfusi dengan penurunan aliran darah ginjal (proses iskemik) dan vasokonstriksi ginjal,<sup>15</sup> tetapi penelitian pada hewan percobaan melaporkan

bahwa lipopolisakarida (LPS) dapat menyebabkan cedera ginjal tanpa penurunan tekanan darah sistemik atau aliran darah ke ginjal yang signifikan.<sup>18</sup>

Salah satu mediator yang menarik perhatian akibat keterlibatannya dalam hipotensi dan kegagalan organ pada pasien sepsis adalah NO. Nitrit oksida disintesis oleh tiga isoenzim NOS, yakni *inducible* (iNOS), serta *endothelial* (eNOS) dan *neuronal* (nNOS) yang sering disebut juga dengan *constitutive* (cNOS) yang turut berpartisipasi dalam mempertahankan tonus pembuluh darah normal. Di sisi lain, iNOS diinduksi dalam berbagai tipe sel (sel otot polos pembuluh darah dan makrofag) sebagai respons stimulasi dari LPS, sitokin (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) atau hipoksia.<sup>14</sup> Ekspresi iNOS di ginjal terdapat pada glomerulus, tubulus proksimal, loop of henle, tubulus distal dan *collecting duct*.<sup>19</sup>

Peran NO pada ginjal sangat kompleks karena dapat mengurangi dan mengeksaserbasi cedera ginjal bergantung pada keseimbangan antara efek yang menguntungkan hemodinamik dan efek sitotoksik. Pada rentang di bawah kadar ambang, NO penting dalam mempertahankan aliran darah ginjal (pada tingkat arteri afferent), namun bila produksi NO melebihi kadar ambang akan terjadi penghambatan rantai oksidasi fosforilasi dan pengurangan konsumsi oksigen.<sup>16</sup> Nitrit oksida akan berinteraksi dengan ROS membentuk peroksinitrit. Peroksinitrit selanjutnya akan menginduksi reaksi nitrasi, merusak protein dan lemak, depresi enzim mitokondria, deplesi

glutathion dan merusak DNA sehingga terjadi peningkatan permeabilitas mitokondria.<sup>16,20</sup> Peningkatan permeabilitas mitokondria berhubungan dengan penurunan *gradient* elektrokimiawi dan sintesa ATP, serta mengaktifasi proses apoptosis.<sup>16</sup> Peningkatan konsentrasi serum NO akibat stimulasi iNOS juga mengurangi regulasi arterioler aferen dan eferen oleh eNOS di ginjal melalui autoinhibisi aktivasi eNOS<sup>18</sup> yang turut memberikan kontribusi terhadap vasokonstriksi dan trombosis glomerulus.<sup>17</sup>

Pengukuran NO secara *in vivo* sangat sulit karena dalam bentuk gas dan memiliki waktu paruh yang sangat pendek.<sup>21</sup> Nitrit oksida yang dihasilkan oleh sel secara bebas berdifusi dalam interstisium. Ketika NO

ditransfer ke dalam aliran darah, NO akan dioksidasi dalam eritrosit dan membentuk produk akhir nitrit dan nitrat yang stabil.<sup>11</sup> Nitrat dan nitrit dapat diukur dalam cairan biologis dan secara *invivo* maupun *invitro* dapat digunakan secara tidak langsung sebagai pengukuran NO.<sup>8</sup>

Nitrit oksida eksogen memengaruhi kadar metabolit NO endogen. Selain NO eksogen, konsentrasi serum metabolit NO juga bergantung pada laju sintesa dan eliminasinya. Rute ekskresi dari metabolit NO secara dominan melalui ginjal, sehingga akumulasi metabolit NO dapat terjadi sebagai konsekuensi dari berkurangnya klearans ginjal.<sup>9,12</sup>

Pada penelitian kami, peningkatan kadar serum metabolit NO berhubungan dengan peningkatan kadar serum kreatinin. Hal tersebut menunjukkan semakin tinggi kadar serum metabolit NO, semakin parah gangguan fungsi ginjal meskipun kemungkinannya kecil. Temuan kami berbeda dengan beberapa penelitian yang melaporkan tidak terdapat hubungan antara kadar serum metabolit NO dan kadar serum kreatinin pada pasien infeksi *meningococcal*<sup>12</sup> dan sepsis.<sup>11,13</sup> Selain penelitian yang bertentangan dengan temuan hasil terman kami, terdapat pula beberapa penelitian yang mendukung hubungan antara kadar serum metabolit NO dan kadar serum kreatinin pada SIRS,<sup>9</sup> sakit kritis,<sup>8</sup> gagal ginjal,<sup>10</sup> dan sepsis.<sup>11</sup>

Gangguan ginjal akut pada pasien sepsis tidak berhubungan dengan influks sel inflamasi di ginjal, walaupun sel inflamasi turut menginduksi iNOS. Hal tersebut disebabkan karena sel epitel ginjal merupakan sumber utama NO yang diaktivasi iNOS dan NO yang terbentuk diduga memberikan kontribusi terhadap gangguan ginjal akut.<sup>22</sup> Dengan demikian, peningkatan kadar serum metabolit NO pada temuan kami diduga akibat dari gangguan ginjal akut yang akan menurunkan klearans ginjal.

Keterbatasan pada penelitian kami adalah 1). Pengukuran kadar serum kreatinin menggambarkan fungsi ginjal secara kasar sehingga perlu penelitian lebih lanjut dengan pengukuran mediator atau variabel lain yang lebih akurat, 2). Pengukuran kadar serum NO hanya berdasarkan kadar serum metabolit NO (nitrat dan nitrit) tanpa mengukur bioreaktif lain seperti kadar NT dan nitrosothiol. Sebagai kesimpulan, pada sepsis kadar serum NO berhubungan dengan fungsi ginjal. Semakin tinggi kadar serum NO semakin besar kemungkinan terjadinya kegagalan organ ginjal.

## Daftar pustaka

1. Thomas NJ, Tamburro RF, Hall MW, Rajasekaran S, Venglarcik JS. Bacterial sepsis and mechanisms of microbial pathogenesis. Dalam: Nichols DG, penyunting. Rogers' Textbook of Pediatric Intensive Care. Edisi 4. United State of America: Lippincott Williams & Wilkins; 2008.h.1300-27.
2. Weighardt H, Holzmann B. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiology* 2007;212:715-22.
3. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, members of International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatrics sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6:2-8.
4. Wang Z, Holhoff JH, Seely KA, Pathak E, Spencer III HJ, Gokden N, dkk. Development of oxidative stress in the peritubular capillary microenvironment mediates sepsis-induced renal microcirculatory failure and acute kidney injury. *Am J Pathol* 2012;180:505-16.
5. Hung DT, Baden LR. A new era for sepsis treatment? Understanding sepsis as a consequence of host immune response. *Expert Opin Ther Patents* 2002;12:181-92.
6. Von-Dessauer B, Bongain J, Molina V, Quilodrán J, Castillo R, Rodrigo R. Oxidative stress as a novel target in pediatric sepsis management. *J Crit Care* 2011;26:103e1-7.
7. Hollenberg SM, Cinel I. Bench-to bedside review: Nitric oxide in critical illness-update 2008. *Crit Care* 2009;13:218.
8. Mackenzie IM, Garrard CS, Young JD. Indices of nitric oxide synthesis and outcome in critically ill patients. *Anaesthesia* 2001;56:326-30.
9. Mitaka C, Hirata Y, Yokoyama K, Wakimoto H, Hirokawa M, Nosaka T, dkk. Relationships of circulating nitrite/nitrate levels to severity and multiple organ dysfunction syndrome in systemic inflammatory response syndrome. *Shock* 2003;19:305-9.
10. Yang F, Comtois AS, Fang L, Hartman NG, Blaise G. Nitric oxide derived nitrate anion contributes to endotoxic shock and multiple organ injury/ dysfunction. *Crit Care Med* 2002;30:650-7.
11. Doughty L, Carcillo JA, Sandra K, Janine J. Plasma nitrite and nitrate concentrations and multiple organ failure in pediatric sepsis. *Crit Care Med* 1998;26:157-62.
12. Baines PB, Stanford S, Bishop-Bailey D, Sills JA, Thomson APJ, Mitchell JA, Fear SC, Hart CA, Petros AJ. Nitrite oxide production in meningococcal disease is directly related to disease severity. *Crit Care Med*

- 1999;27:1187-90.
13. Taylor BS, Geller DA. Molecular regulation of the human inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene. *Shock* 2000;13:413-24.
  14. Knotek M, Rogachev B, Wang W, Ecker T, Melnikov V, Gengaro PE, dkk. Endotoxemia renal failure in mice: role of tumor necrosis factor independent of inducible nitric oxide synthase. *Kidney International* 2001;59:2243-9.
  15. Dear JW, Yasuda H, Hu X, Hieny S, Yuen PST, Hewitt SM, dkk. Sepsis-induced organ failure is mediated by different pathways in the kidney and liver: acute renal failure is dependent on MyD88 but not renal cell apoptosis. *Kidney International* 2006;69:832-6.
  16. Regueira T, Andresen M, Mercado M, Downey P. Physiopathology of acute renal failure during sepsis. *Med Intensiva* 2011;35:424-32.
  17. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 2004;351:159-69.
  18. Yamaguchi N, Jesmin S, Zaedi S, Shimojo N, Maeda S, Gando S, dkk. Time-dependent expression of renal vaso-regulatory molecules in LPS-induced endotoxemia in rat. *Peptides* 2006;27:2258-70.
  19. Yousefipour Z, Oyekan A, Newaz M. Interaction of oxidation stress, nitric oxide and peroxisome proliferator activated receptor in acute renal failure. *Pharmacology & Therapeutics*. 2010;125:436-45.
  20. Escames G, Lopez LC, Ortiz F, Ros E, Acuna-Casroviejo D. Age dependent lipopolysaccharide-induced iNOS expression and multiorgan failure in rats: effects of melatonin treatment. *Experimental Gerontology* 2006;41:1165-73.
  21. Ho JT, Chapman MJ, O'Connor S, Lam S, Edward J, Ludbrook G, dkk. Characteristics of plasma NOx levels in severe sepsis: high interindividual variability and correlation with illness severity, but lack of correlation with cortisol levels. *Clin Endocrinol* 2010;73:413-20.
  22. Wu L, Gokden N, Mayeux PR. Evidence for the role of reactive nitrogen species in polymicrobial sepsis induced renal peritubular capillary dysfunction and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:1807-15.