

**KORELASI JUMLAH NETROFIL, LIMFOSIT DAN
MONOSIT DENGAN KADAR ALBUMIN URIN
PADA PASIEN DM TIPE-2 DENGAN
MIKROALBUMINURIA**

*THE CORRELATION BETWEEN NEUTROPHILS,
LIMPHOCYTE, MONOCYTE COUNTS AND URINE ALBUMIN
LEVELS IN TYPE 2 DIABETES WITH MICROALBUMINURIA*



Tesis

**untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2
dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Patologi Klinik**

Edy Purwanto

**PROGRAM PASCA SARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
dan
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1
PATOLOGI KLINIK
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2007**

TESIS

**KORELASI JUMLAH NETROFIL, LIMFOSIT DAN
MONOSIT DENGAN KADAR ALBUMIN URIN
PADA PASIEN DM TIPE-2
DENGAN MIKROALBUMINURIA**

Oleh :
Edy Purwanto
G4A002096

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 4 Desember 2007
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Banundari RH, SpPK -K
NIP. 131 803 412

Dr. Tony Suhartono, SpPD-KEMD
NIP. 130 530 277

Mengetahui,

Ketua Program Studi
Patologi Klinik Fak. Kedokteran
Universitas Diponegoro

Ketua Program Studi
Magister Biomedik Program Pascasarjana
Universitas Diponegoro

Dr. Purwanto AP, SpPK-K
NIP. 131 252 963

Prof. Dr. H. Soebowo, SpPA-K
NIP. 130 352 549

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah di ajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh berasal dari sumber pustaka hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, yang dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, November 2007

Penulis

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Edy Purwanto
NIM Magister Biomedik : G4A 002 096
NIM PPDS-I Pat.Klinik : G3R 002 108
Tempat / Tanggal Lahir : Sukoharjo, 20 Pebruari 1967
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri Purwo Putri, Kr. Tengah, Weru, Sukoharjo : Lulus tahun 1980
2. SMP Negeri Weru, Sukoharjo : Lulus tahun 1983
3. SMA Negeri 5, Surakarta : Lulus tahun 1986
4. FK-UNS, Surakarta : Lulus tahun 1995
5. PPDS-1 Patologi Klinik FK-UNDIP, Semarang : Lulus tahun 2007
6. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP, Semarang: Lulus tahun 2007

C. Riwayat Pekerjaan

Instansi	Jabatan	Masa Kerja	Keterangan	Tempat
RSI PKU Singkil	Dokter	1995 – 1996	-	Kab. Tegal
Pusk. Pamaran	Kepala	1996 - 1998	PTT	Kab. Brebes
UTDC-PMI Brebes	Kepala	1997 - 2002	Kontrak	Kab. Brebes
RSI-PKU, Moga	Dokter	1998	-	Kab. Pemalang
RSI-PKU, Jt.barang	Dokter	1998 - 2003	-	Kab. Brebes
FIK-UMS Surakarta	Staf Pengajar	2007-sekarang	Tetap	Kota Surakarta

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Abdul Ahmadi
Ibu : Marhamah (almarhumah)
2. Nama Istri : dr. Susi Suryaningsih
3. Nama Anak : Maryam Hanifah
Mohammad Jihad
Mohammad Zaimul Umam
Rizqi Amalia

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Halaman Pernyataan.....	iii
Daftar Riwayat Hidup.....	iv
Daftar Isi	v
Kata Pengantar.....	viii
Daftar Gambar 1.....	xi
Daftar Gambar 2.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Abstrak.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Originalitas Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Diagnosis DM.....	8
2.2 Klasifikasi DM.....	8
2.3 Penyulit DM.....	9

2.4	Patogenesis nefropati diabetik.....	10
2.5	Kadar albumin urin pada DM tipe 2	15
2.6	Netrofil, Limfosit dan Monosit pada DM tipe2	18
2.7	Hubungan kadar albumin urin dengan Netrofil, Limfosit dan Monosit pada DM tipe2	25
2.8	Patofisiologi	27
BAB 3	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	
3.1	Kerangka teori.....	28
3.2	.Kerangka Konsep.....	29
3.3	Hipotesis.....	29
BAB 4	METODOLOGI PENELITIAN	30
4.1	Desain Penelitian.....	30
4.2	Ruang Lingkup Penelitian.....	30
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	30
4.4	Populasi dan Sampel	30
4.5	Variabel Penelitian	32
4.6	Definisi Operasional.....	32
4.7	Alur Penelitian	33
4.8	Cara Kerja	33
4.9	Analisis Data	35
BAB 5	HASIL PENELITIAN.....	36
5.1	Karakteristik Subyek Penelitian.....	36
5.2	Diskripsi jumlah netrofil, limfosit dan monosit.....	36
5.3	Uji Normalitas Data.....	37

5.4 Uji korelasi jumlah netrofil, limfosit & monosit dengan kadar albumin urin.....	38
BAB 6 PEMBAHASAN.....	39
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	48
7.1 Simpulan.....	48
7.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	54

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillahirobbil'alamin atas limpahan rahmat dan hidayah Allah Swt sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul "Korelasi Jumlah Netrofil, Limfosit dan Monosit dengan Kadar Albumin Urin pada Pasien DM-2 dengan Mikroalbuminuria". Tesis ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana S2 dan PPDS I Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Adanya kecenderungan peningkatan angka insiden dan prevalensi DM tipe2 di berbagai penjuru dunia. WHO memprediksi adanya peningkatan jumlah diabetisi yang cukup besar untuk tahun-tahun mendatang. Untuk Indonesia, WHO memprediksi kenaikan jumlah pasien dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta pada tahun 2030. Untuk itu diperlukan usaha deteksi dini sebagai upaya pencegahan terhadap terjadinya komplikasi DM tipe2. Salah satu komplikasi DM tipe2 dengan angka prevalensi tinggi adalah nefropati DM. Mikroalbuminuria merupakan tes yang sudah diakui sebagai petanda nefropati DM. Beberapa penelitian sebelumnya menghubungkan antara mikroalbuminuria dengan hitung jenis darah tepi, tetapi penelitian ini belum memperhitungkan faktor inflamasi yang dapat diketahui dengan pemeriksaan CRP. Penulis mencoba meneliti jumlah netrofil, limfosit & monosit darah tepi sebagai prediktor terjadinya nefropati DM, dengan cara menghubungkannya dengan mikroalbuminuria. Hal ini belum pernah diteliti sebelumnya.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada dr. Banundari Rachmawati, SpPK-K selaku pembimbing utama atas semua bimbingan, dorongan dan semangat yang telah diberikan. Penulis menghaturkan terimakasih kepada dr. Tony Suhartono, SpPD-KEMD selaku pembimbing kedua atas semua bimbingan dan dorongan untuk mengerjakan dan menyelesaikan penelitian ini. Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terimakasih kepada :

1. Prof. DR. dr. Susilo Wibowo, MS Med, SpAnd, Rektor UNDIP.
2. Prof. Drs. Y Warella, M.PA, PhD, Direktur Pasca Sarjana UNDIP.
3. dr. Budi Riyanto, MSc, SpPD, KPTI, Direktur Utama RSDK.
4. dr. Soejoto, PAK, SpKK-K, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
5. Prof. dr. H. Soebowo, SpPA-K, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
6. dr. Purwanto AP, SpPK-K, Ketua Program Studi Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
7. Prof. dr. Lisyani B Suromo, SpPK-K, Ketua Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
8. Seluruh tim penguji yang telah berkenan memberikan masukan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
9. Seluruh staf pengajar Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, dr. Affandi, SpPK-K, dr. Imam Budiwiyono, SpPK-K, dr. MI Tjahjati, SpPK, dr. Indranila KS, SpPK, dr. Herniah AW, SpPK, dr. Ria TW, SpPK, dr. Nyoman Suci, Mkes, SpPK.

10. Staf Unit Sampling, Unit Hematologi, Unit Kimia Klinik dan Unit Sekresi & Ekskresi Instalasi Laboratorium RSDK, mbak Lince, mbak Ning, mbak Indri, mbak Nanik dan kawan-kawan yang telah membantu penelitian ini.
11. Saudari seangkatanku, dr. Prima Astiawanti, dr. Indrayani PS, Msi-Med SpPK yang telah bekerja sama dengan baik dan bantuannya selama studi. Adik angkatanku dr. Ima Arum Lestarini yang telah membantu dalam menganalisis data, juga seluruh rekan-rekan residen di Bagian Patologi Klinik.
12. Semua pasien yang telah ikut berpartisipasi dalam penelitian ini, terimakasih atas kerjasama dan komunikasi yang baik. Atas jasa bapak dan ibu sekalian penelitian ini dapat terlaksana, semoga amal baik bapak dan ibu sekalian mendapat imbalan yang lebih baik oleh Allah Swt. Amin.
13. Ibu almarhumah dan Bapak di Sukoharjo. Ibu mertua dan Bapak mertua almarhum di Brebes. Semoga ini menjadi bagian dari amal sholeh serta ilmu yang bermanfaat bagi Ibu dan Bapak sekalian. Serta kakak-kakakku dan adik-adikku dan seluruh keluarga terimakasih atas semua pengertiannya.
14. Untuk istriku tercinta dr. Susi Suryaningsih dan anak-anakku yang soleh & solehah Maryam, Jihad, Umam serta Lia terima kasih atas semua cinta, pengorbanan, pengertian, doa, semangat dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap kritik, saran dan masukan. Penulis berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat dan memberikan sumbangan bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Semarang, November 2007

Penulis

DAFTAR GAMBAR 1

- Gambar 1: Pembentukan AGE dan aktivasi Protein Kinase-C oleh karena hiperglikemia.....13
- Gambar 2: Gangguan jalur poliol karena hiperglikemia intraseluler menyebabkan oksidatif stress.....15
- Gambar 3: Beberapa sitokin yang disekresikan oleh sel-sel leukosit yang menyebabkan peningkatan *transvacular albumin leakage*.....18
- Gambar 4: AGE-protein sebagai pemicu terhadap peningkatan sekresi berbagai sitokin proinflamasi oleh sel leukosit.....24

DAFTAR GAMBAR 2

Gambar 1: Histogram Albuminuria.....	37
Gambar 2: Histogram & Scatter Plot Netrofil.....	37
Gambar 3: Histogram & Scatter Plot Monosit.....	37
Gambar 4: Histogram & Scatter Plot Limfosit.....	38

DAFTAR SINGKATAN

WHO	: World Health Organisation
PERNEFRI	: Perhimpunan Nefrologi Indonesia
IL-2	: Inter Leukin-2
IL-8	: Inter Leukin-8
IL-6	: Inter Leukin-6
IL-12	: Inter Leukin-12
IL-1 β	: Inter Leukin-1 β
IGF-1	: Insulin like Growth Factor-1
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1
TGF- α	: Tumor Growth Factor- α
GM-CSF	: Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α
ICAM-1	: Inter Cellular Adhesion Molecule-1
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule-1
NO	: Nitrit Oxide
ROS	: Reactive Oxygen Species
CRP	: C-Reactive Protein
LED	: Laju Endap Darah
PMN	: Polymorpho Nuclear
ECM	: Extra Cellular Matric
AGEs	: Advance Glycation Endproducts
PKC	: Protein Kinase-C
eNOS	: endothelial Nitrit Oxid Sinthase
PAI-1	: Plasminogen Activator Inhibitor-1
3-DG	: 3-Deoxyglucosone
NF- $\kappa\beta$: Nuclear Factor- $\kappa\beta$
TLR	: Toll Like Receptor
CD	: Cluster of Defferensiation
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
HIF-1	: Hypoxia Inducible Factor-1
GSH	: Glutathion
TLRs	: Toll Like Receptors
MyD88	: myeloid differentiation primary-response protein 88
ADCC	: Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity

DAFTAR TABEL

Tabel 1 : Karakteristik Subyek Penelitian.....	36
Tabel 2 : Diskripsi jumlah netrofil, limfosit, monosit dan kadar albumin urin...	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : <i>Ethical Clearance</i>	54
Lampiran 2 : Persetujuan setelah penjelasan (<i>Informed Consent</i>).....	55
Lampiran 3 : Kuesioner	56
Lampiran 4 : Prosedur pemeriksaan laboratorium.....	58
Lampiran 5 : Hasil pemeriksaan laboratorium dan uji analisa data.....	59

ABSTRAK

KORELASI JUMLAH NETROFIL, LIMFOSIT DAN MONOSIT DENGAN KADAR ALBUMIN URIN PADA PASIEN DM TIPE 2 DENGAN MIKROALBUMINURIA

Edy Purwanto, Banundari RH, Tony Suhartono

Latar belakang – Prevalensi DM tipe-2 di berbagai penjuru dunia termasuk di Indonesia meningkat. Komplikasi DM terbanyak adalah nefropati, yang merupakan penyakit progresif dan pada tahap akhir memerlukan biaya perawatan yang sangat besar. Nefropati DM dapat dicegah jika dilakukan deteksi dini. Mikroalbuminuria merupakan tes untuk deteksi dini nefropati DM saat ini, tetapi tes ini masih dianggap mahal oleh sebagian besar masyarakat dan belum banyak dilakukan oleh laboratorium di daerah. Oleh sebab itu perlu dicari alternatif tes lain, misalnya jumlah netrofil, monosit dan limfosit.

Tujuan – Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan hubungan antara jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

Metode dan desain penelitian – Desain penelitian analitik observasional dengan pendekatan belah lintang. Responden pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria dari rawat jalan laboratorium RSDK kadar CRP kualitatif: negatif ($<10\text{mg/L}$), jumlah leukosit antara $7.000\text{--}10.000/\text{ml}$, tidak didapatkan flagging atau limfosit varian, albumin urin dengan dipstik : negatif, Glukosa Puasa/2 jam PP $< 200\text{mg/dl}$, urinalisis dalam batas normal, tekanan darah sistolik: $100\text{--}160\text{ mmHg}$; diastolik $70\text{--}85\text{ mmHg}$, Suhu badan $36\text{--}37,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, lama menderita DM > 5 tahun, anamnesis tidak didapatkan penyakit ginjal. Jumlah sampel 22 diperiksa kadar albumin urin dengan menggunakan reagen Nycocard[®] U-ALBUMIN, jumlah netrofil, limfosit dan monosit diperiksa dengan menggunakan alat hematologi analyzer CELL-Dyn^R 3700. Korelasi antara jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin dianalisa dengan koefisien korelasi Spearman's.

Hasil – Tidak terdapat korelasi antara jumlah netrofil dengan kadar albumin urin ($r = -0,250; p = 0,263$). Tidak terdapat korelasi antara jumlah monosit dengan kadar albumin urin ($r = -0,191; p = 0,395$). Tidak terdapat korelasi antara jumlah limfosit dengan kadar albumin urin ($r = 0,130; p = 0,565$) pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

Kesimpulan – Tidak terdapat korelasi antara jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

Kata kunci : DM tipe2, netrofil, limfosit, monosit, mikroalbuminuria.

ABSTRACT

THE CORRELATIONS BETWEEN NEUTROPHILS, LYMPHOCYTE, MONOCYTE COUNTS AND URINE ALBUMIN LEVELS IN A TYPE 2 DIABETES PATIENTS WITH MICROALBUMINURIA

Edy Purwanto, Banundari RH, Tony Suhartono

Background - The prevalence of type2 diabetes world wide, including Indonesia, has increased. The most common complication of diabetes is nephropathy diabetic which is a progressive disease and in the end stages, it needs a very large cost of care. Nephropathy diabetic can be prevented if it's detected earlier. Microalbuminuria is a test to detect nephropathy diabetic early nowadays, but it is still considered expensive by the majority of the community and hasn't been widely done in laboratories. What ever it needs other alternatives, such as Neutrophils, lymphocyte, and monocyte counts.

Purpose - to analyse the correlations between neutrophils, lymphocyte, monocyte counts and urine albumin levels in type2 diabetes with microalbuminuria.

Research Design and Method - The research design is analytic observational with cross sectional approach. Type2 diabetes respondents with microalbuminuria from outpatients RSDK laboratory with negative ($10 < \text{mg/L}$) qualitative CRP, White blood cell count between 7.000-10.000/ml, no flagging or variant lymphocyte, urine albumin with dipstick : negative, Fasting glucose level (2 hours/PP) $< 200 \text{ mg/dl}$, Urinalysis within normal range, systole 100-160 mmHg, diastole 75-85 mmHg, body temperature 36-37,2°C, suffered diabetes more than 5 years, anamnesis shows no kidney problem. Twenty two samples urine albumin levels tested by Nycocard[®] U-ALBUMIN reagent, Neutrophils, lymphocyte, monocyte count was examined by hematology analyzer CELL-Dyn 3700. The correlations between Neutrophils, lymphocyte, monocyte counts and urine albumin levels analyzed using coefficient correlation Spearman's.

Result - No correlation between neutrophil counts and urine albumin levels ($r = -0,250; p = 0,263$). No correlation between monocyte counts and urine albumin levels ($r = -0,191; p = 0,395$). No correlation between lymphocyte counts and urine albumin levels ($r = 0,130; p = 0,565$) in type 2 diabetes with microalbuminuria.

Conclusions - No correlation between Neutrophils, lymphocyte, monocyte counts and urine albumin level in type 2 diabetes patients with microalbuminuria

Keywords: Type 2 diabetes, neutrophils, lymphocytes, monocytes, microalbuminuria.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insiden dan prevalensi DM tipe-2 di berbagai penjuru dunia. WHO memprediksi adanya peningkatan jumlah diabetisi yang cukup besar untuk tahun-tahun mendatang. Untuk Indonesia, WHO memprediksi kenaikan jumlah pasien dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta pada tahun 2030. Laporan hasil penelitian dari berbagai daerah di Indonesia yang dilakukan pada dekade 1980 menunjukkan sebaran prevalensi DM tipe2 antara 0,8 % di Tanah Toraja, sampai 6,1 % yang didapatkan di Manado. Hasil penelitian pada era 2000 menunjukkan peningkatan prevalensi yang tajam, sebagai contoh penelitian di Jakarta (daerah urban) dari prevalensi DM tipe2 1,7 % pada tahun 1982 menjadi 5,7 % pada tahun 1993 dan kemudian menjadi 12,8 % pada tahun 2001 di daerah sub urban Jakarta.¹

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Indonesia (2003) diperkirakan penduduk Indonesia yang berusia diatas 20 tahun sebesar 133 juta jiwa. Dengan prevalensi DM tipe2 pada daerah urban sebesar 14,7 % dan daerah rural sebesar 7,2 %, maka diperkirakan pada tahun 2030 terdapat diabetisi sejumlah 8,2 juta di daerah urban dan 5,5 juta di daerah rural. Berdasarkan pola pertambahan penduduk, diperkirakan pada tahun 2030 nanti akan ada 194 juta penduduk yang berusia diatas 20 tahun dan dengan asumsi prevalensi DM tipe2 di daerah urban

14,7 % dan daerah rural 7,2 % maka diperkirakan terdapat 12 juta diabetisi di daerah urban dan 8,1 juta di daerah rural.¹

Nefropati diabetik merupakan komplikasi mikrovaskuler diabetes melitus. Pada sebagian penderita komplikasi ini akan berlanjut menjadi gagal ginjal terminal yang memerlukan pengobatan cuci darah atau cangkok ginjal. Laporan Perhimpunan Nefrologi Indonesia (PERNEFRI) tahun 1995, disebutkan bahwa nefropati diabetik menduduki urutan nomor tiga (16,1%) setelah glomerulonefritis kronik (30,1%) dan pielonefritis kronik (18,51%), sebagai penyebab paling sering gagal ginjal terminal yang memerlukan cuci darah di Indonesia. Tingginya prevalensi nefropati diabetik sebagai penyebab gagal ginjal terminal juga menjadi masalah di negara-negara lain. Mengingat problematik mahalannya pengobatan cuci darah dan cangkok ginjal, berbagai upaya dilakukan untuk dapat menegakkan diagnosis nefropati diabetik sedini mungkin sehingga progresivitasnya menjadi gagal ginjal terminal dapat dicegah atau sedikitnya diperlambat.²

Diagnosis stadium klinis nefropati diabetik secara klasik adalah dengan ditemukannya proteinuria > 0,5 gram/hari. Mengingat bahwa hampir semua ekskresi protein dalam urin berbentuk albumin, dihubungkan juga dengan perubahan morfologi membran basal yang terjadi, telah dibuat konsensus bahwa diagnosis klinis nefropati diabetik sudah dapat ditegakkan bila didapatkan makroalbuminuria persisten (albuminuria > 300 mg/urin tampung 24 jam atau > 200 µg/menit urin sewaktu). Disebut persisten (menetap) adalah bila 2 dari 3 kali pemeriksaan, yang dilakukan dalam kurun waktu 6 bulan, memberikan hasil

positif. Definisi nefropati klinis pada DM tipe2 adalah, bila ekskresi albumin dalam urin : $> 200 \mu\text{g}/\text{menit}$ urin sewaktu, atau $> 300 \text{ mg}/\text{urin}$ tampung 24 jam, atau $> 0,2$ rasio albumin/kreatinin urin sewaktu. Mikroalbuminuria, merupakan istilah untuk ekskresi albumin melalui urin yang melebihi batas normal tetapi kadarnya tidak terdeteksi oleh metode dipstik konvensional. Mikroalbuminuria digunakan untuk ujising nefropati pada pasien DM tipe2. Mikroalbuminuria menunjukkan stadium yang *reversible* pada disfungsi renal, sedangkan proteinuria klinis menunjukkan penyakit yang *irreversible*. Kenyataannya, dengan adanya proteinuria persisten sudah terjadi lesi renal yang lanjut dan terjadi penurunan fungsi renal yang progresif. Mikroalbuminuria diakui sebagai petanda prediksi berkembangnya nefropati diabetik. Urin yang dipakai dalam pemeriksaan albumin untuk menegakkan diagnosis harus non-ketotik, sebaiknya urin pertama pagi hari. Konsensus ini diajukan oleh *The American Diabetes Association*, 1989 dan sampai saat ini masih dianut oleh *Ad Hoc Committe of The Council on Diabetes Mellitus of the National Kidney Foundation 1995*.²

Walaupun mikroalbuminuria diakui sebagai petanda prediksi terjadinya nefropati diabetik, namun belum semua laboratorium klinik di daerah melakukan pemeriksaan ini karena dianggap mahal.

Hubungan antara jumlah leukosit darah tepi dengan mikroalbuminuria telah diteliti oleh Chung FM dkk, Chan & C Juliana. Jumlah leukosit darah tepi menunjukkan hubungan dengan resistensi insulin, diabetes tipe 2, penyakit arteri koroner, stroke, dan komplikasi mikro dan makrovaskuler diabetes. Leukosit darah tepi terdiri dari polimorponuklear (PMN), dan

mononuklear. Leukosit polimorponuklear dan mononuklear dapat teraktifasi oleh *advanced glycation end products*, *oxidative stress*, angiotensin II, dan sitokin dalam kondisi hiperglikemia. Leukosit teraktifasi mengeluarkan berbagai sitokin diantaranya TNF- α , TGF- β 1, *superoxide*, NF- κ B, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), IL-1 β , dan lainnya yang berpengaruh terhadap patogenesis komplikasi mikro- dan makroangiopati.^{3,4} Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan adanya peningkatan jumlah leukosit pada pasien DM tipe2 dengan albuminuria, peningkatan jumlah leukosit pada pasien dengan nefropati diabetik.⁵⁻⁷ Penelitian-penelitian ini belum memperhitungkan faktor inflamasi dan infeksi yang juga dapat meningkatkan jumlah leukosit, yang dapat diketahui dengan pemeriksaan CRP.^{3,5,7-9}

Penghitungan jumlah leukosit merupakan pemeriksaan darah rutin yang meliputi Hemoglobin, LED, Jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit (eosinofil, basofil, batang, netrofil, limfosit & monosit). Pemeriksaan darah rutin sudah dapat dilakukan oleh laboratorium pelayanan kesehatan tingkat pertama (Puskesmas).

Penelitian kami hanya menghitung jumlah netrofil, limfosit dan monosit berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Chung dkk yang mengatakan bahwa jumlah netrofil, limfosit dan monosit berhubungan signifikan dengan mikroalbuminuria serta merupakan faktor independen terjadinya nefropati diabetik, tetapi Chung dkk belum melakukan pemeriksaan terhadap petanda inflamasi (CRP).³ Sedangkan subyek penelitian dipilih pasien DM tipe2, karena prevalensinya tinggi sehingga mempermudah pengambilan sampel penelitian.

Subyek penelitian dengan mikroalbuminuria, karena disfungsi renal masih stadium reversibel.

1.2 Rumusan Masalah

Dengan memperhatikan latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut : apakah ada korelasi antara jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin pada penderita DM tipe2 dengan mikroalbuminuria?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk membuktikan korelasi antara jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mendeskripsikan jumlah netrofil pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
2. Mendeskripsikan jumlah limfosit pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
3. Mendeskripsikan jumlah monosit pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
4. Mendeskripsikan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

5. Membuktikan korelasi antara kadar albumin urin dengan jumlah netrofil pada DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
6. Membuktikan korelasi antara kadar albumin urin dengan jumlah limfosit pada DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
7. Membuktikan korelasi antara kadar albumin urin dengan jumlah monosit pada DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

1.4 Manfaat Penelitian

Bila terbukti, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Memberikan alternatif pemeriksaan untuk memprediksi terjadinya mikroalbuminuria (mikroangiopati) pada penderita DM tipe2.
2. Memberikan informasi yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.
3. Memberikan sumbangan untuk ilmu diagnostik laboratorium klinik.

1.5 Originalitas Penelitian

No	Peneliti & Judul	Tahun	Jumlah Kasus	Hasil Penelitian
1.	Chung FM, dkk Peripheral total & differential leukocyte count in Diabetic nephropathy.	2005 (Diabetes Care 28:1710-1717)	1.480	- Pada <i>diabetic state</i> , leukosit teraktifasi & mengeluarkan sitokin. - Pada DM tipe2, leukosit dlm sirkulasi berperan dlm berkembang & progresi nefropathi. ⁵
2.	Shurtz-Swirski R, dkk Involvement of Peripheral PMN leukocyte in oxidative stress & inflammation in type 2 Diabetic Patients.	2001 (Diabetes Care 24: 104-110)	18	Pada DM tipe2, Polymorphonuclear berkontribusi terhadap peningkatan kerusakan endotel & angiopathi melalui stres oksidatif & inflamasi. ⁷
3.	Vojarova B, dkk High white blood cell count is associated with a worsening of Insulin Sensitivity & Predicts the development of Type 2 Diabetes.	2002 (Diabetes, Vol 51 February)	54	Peningkatan jumlah leukosit memprediksikan gangguan fungsi insulin (resistensi) dan berkembangnya penyakit DM tipe2. ²¹
4.	Vaur L, dkk Development of Congestive Heart Failure in Type 2 Diabetes Patients with Microalbuminuria or Proteinuria.	2003 (Diabetes Care 26: 855-861)	4.912	Terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi albumin urin dengan perkembangan lanjut penyakit vaskuler (<i>renal venous congestion</i>), yang merupakan manifestasi awal <i>preclinical Congestif Heart Failure</i> . ¹⁰
5.	Spolstra-de Man AME, dkk Rapid progression of Albumin Excretion is an Independent predictor of cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes & microalbuminuria.	2001 (Diabetes Care 24:2097-2101)	58	Kecepatan progresi mikroalbuminuria pada DM tipe2 merupakan metode yang baik untuk monitor penyakit kardiovaskuler atau penurunan fungsi renal. ¹¹

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diagnosis DM tipe2

Diagnosis DM tipe2 ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar gula darah. Diagnosis tidak dapat ditegakkan atas dasar adanya glukosuria. Guna penentuan diagnosis DM tipe2, pemeriksaan glukosa darah yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa secara enzimatis dengan bahan darah plasma vena. Penggunaan bahan darah utuh (*whole blood*), vena ataupun kapiler tetap dapat dipergunakan dengan memperhatikan angka-angka kriteria diagnostik yang berbeda sesuai pembakuan oleh WHO. Sedangkan untuk tujuan pemantauan hasil pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan glukosa darah kapiler.^{1,10,11}

Kriteria diagnosis DM tipe2:¹

1. Gejala klasik DM (poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya) + gula darah sewaktu >200 mg/dl (11,1 mmol/L). Gula darah sewaktu merupakan hasil pemeriksaan sesaat pada suatu hari tanpa memperhatikan waktu makan terakhir. **ATAU**
2. Gejala klasik DM + Kadar gula darah puasa >126 mg/dl (7,0 mmol/L). Puasa diartikan pasien tak mendapat kalori tambahan sedikitnya 8 jam. **ATAU**
3. Kadar glukosa darah 2 jam pada TTGO >200 mg/dl (11,1 mmol/L). TTGO dilakukan dengan standar WHO, menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75 g glukosa anhidrus yang dilarutkan ke dalam air.

2.2 Klasifikasi DM¹

Klasifikasi etiologis DM:

Tipe 1 Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut

- Autoimun
- Idiopatik

Tipe 2 Bervariasi mulai yang utamanya dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang utamanya defek sekresi insulin disertai resistensi insulin.

Tipe lain

- Defek genetik fungsi sel beta
- Defek genetik kerja insulin
- Penyakit eksokrin pankreas
- Endokrinopati
- Karena obat atau zat kimia
- Infeksi
- Sebab imunologi yang jarang
- Sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM

Diabetes melitus gestasional

2.3 Penyulit DM¹

Dalam perjalanan penyakit DM, dapat terjadi penyulit akut dan menahun.

Penyulit akut:

1. Ketoasidosis diabetik
2. Hiperosmolar non ketotik
3. Hipoglikemi

Penyulit menahun:

1. Makroangiopati yang melibatkan:
 - Pembuluh darah jantung
 - Pembuluh darah tepi
 - Pembuluh darah otak

2. Mikroangiopati:

- Retinopati diabetik
- Nefropati diabetik
 - Sekitar 20-40% diabetisi akan mengalami nefropati diabetik.
 - Didapatkannya albuminuria persisten pada kisaran 30-300 mg/urin tampung 24 jam, atau 20-200 µg/menit urin sewaktu (mikroalbuminuria) merupakan tanda dini dari nefropati diabetik.
 - Diabetisi yang disertai dengan mikroalbuminuria dan berubah menjadi makroalbuminuria (>300 mg/24 jam, atau >200 µg/menit), pada akhirnya sering berlanjut menjadi gagal ginjal kronis stadium akhir.

3. Neuropati.

2.4 Patogenesis Nefropati Diabetik

Fase awal nefropati asimtomatik dan mulai berkembang setelah 5-8 tahun pada DM tipe2. Proses pasti kerusakan ginjal pada diabetes tidak diketahui. Beberapa mekanisme telah diteliti diantaranya, hiperglikemia, hiperfiltrasi, peningkatan viskositas darah, peningkatan tekanan glomerular, albumin, protein kinase C, *growth factor*, *Advanced Glycation End Products* (AGEs), *oxidative stress*, dan hiperkolesterolemia.^{12,13}

Kerusakan glomerulus disebabkan oleh minimal dua mekanisme, yaitu: denaturasi protein oleh kadar glukose yang tinggi dan efek lanjut dari hipertensi intraglomerular. Perubahan glomerulus ginjal dapat terjadi pada awal menderita diabetes. Hipertropi glomerulus dan penebalan membrana basalis glomerulus, menyebabkan glomerulosklerosis interkapiler difus, berkembang selama tahun-tahun pertama penderita diabetes. Nodul Kimmelstiel-Wilson, dengan penebalan pada pusat lobulus glomerulus dan penebalan membrana basalis perifer pada individu penderita diabetes berbeda-beda.¹³

Mikroalbuminuria merupakan manifestasi pertama yang muncul pada gangguan fungsi ginjal. Mikroalbuminuria, kadar albumin urin 20-200 μ g/menit atau 30-300mg/24 jam, merupakan stadium reversibel. Schernthaner G, melaporkan konsentrasi albumin urin lebih dari 20mg/L dalam urin sewaktu pagi hari mengindikasikan UAE antara 20-200 μ g/menit dengan sensitivitas 86 % dan spesivisitas 98 %, dengan mengukur kreatinin secara simultan dan menghitung rasio albumin-kreatinin, sensitivitas dan spesivisitas ini tidak dapat ditingkatkan. Definisi nefropati klinis pada DM tipe2 adalah, bila ekskresi albumin dalam urin >200 μ g/menit, atau >300mg/24 jam, atau >0,2 rasio albumin/kreatinin, merupakan stadium yang ireversibel. Perkembangan lanjut proteinuria tanpa terapi, umur harapan hidupnya kurang dari 10 tahun. Albumin lolos ke filtrat glomerulus disebabkan oleh faktor lain selain peningkatan ukuran pori-pori membran, meskipun faktor lain ini tidak diketahui dengan pasti. Pada saat gagal ginjal progresif, terjadi perubahan yang meluas baik vaskuler maupun ekstrasvaskuler.^{10,11}

Tiga jalur metabolik yang merupakan patogenesis nefropati diabetik adalah sebagai berikut :

Pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs), merupakan hasil reaksi non-enzimatik antara prekursor dikarbonil derivat-glukose intraseluler (glioksal, metilglioksal, dan 3-deoksiglukoson) dengan kelompok amino dari protein intraseluler dan ekstraseluler.¹²⁻¹³

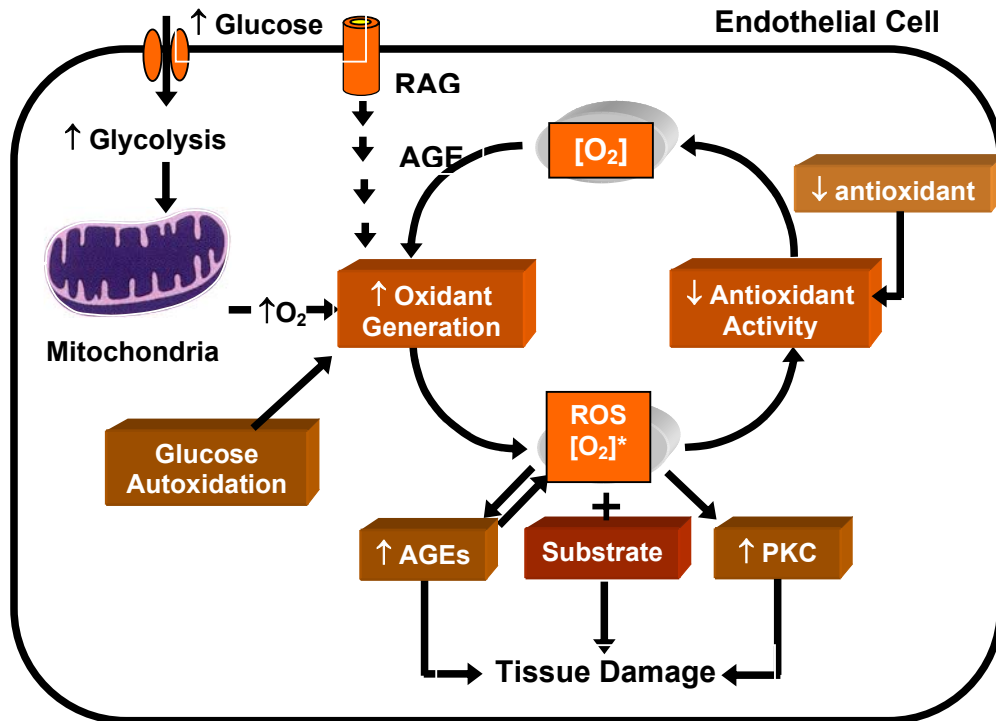
- * Komponen matrik ekstraseluler: matrik & interaksi matrik sel yang abnormal, *cross-linking* polipeptid dari protein (kolagen), *trapping* protein nonglikasi (LDL, albumin), resisten terhadap enzim proteolitik.
- * Intraseluler dan protein plasma: ligasi reseptor AGEs memicu timbulnya (Reactive Oxygen Species) ROS dan aktivasi NF- κ B terhadap sel target (endotelium, sel mesangial, makrofag) dengan respons: sekresi sitokin dan *growth factor*, induksi aktifitas prokoagulan, peningkatan permeabilitas vaskuler, produksi *extra cellulare matrix* (ECM) berlebihan.

Aktifasi Protein Kinase C (PKC), yang berefek terhadap:¹¹⁻¹³

- * Produksi molekul proangiogenik *vascular endothelial growth factor* (VEGF), yang berimplikasi terhadap neovaskularisasi, karakteristik sebagai retinopati diabetik.
- * Peningkatan aktivitas vasokonstriktor endotelin-1 dan penurunan aktivitas vasodilator *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS).
- * Produksi molekul profibrinogenik serupa *transforming growth factor- β* (TGF- β), yang akan memicu deposisi matrik ekstraseluler dan material membran basal.
- * Produksi molekul prokoagulan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), memicu penurunan fibrinolisis dan kemungkinan terjadinya oklusi vaskuler.
- * Produksi sitokin pro-inflamasi oleh sel endotel vaskuler.

Sering terjadi efek AGEs dan aktivasi PKC *overlapping*.

Pembentukan AGE dan aktivasi Protein Kinase-C oleh hiperglikemia dapat dilihat pada gambar 1:



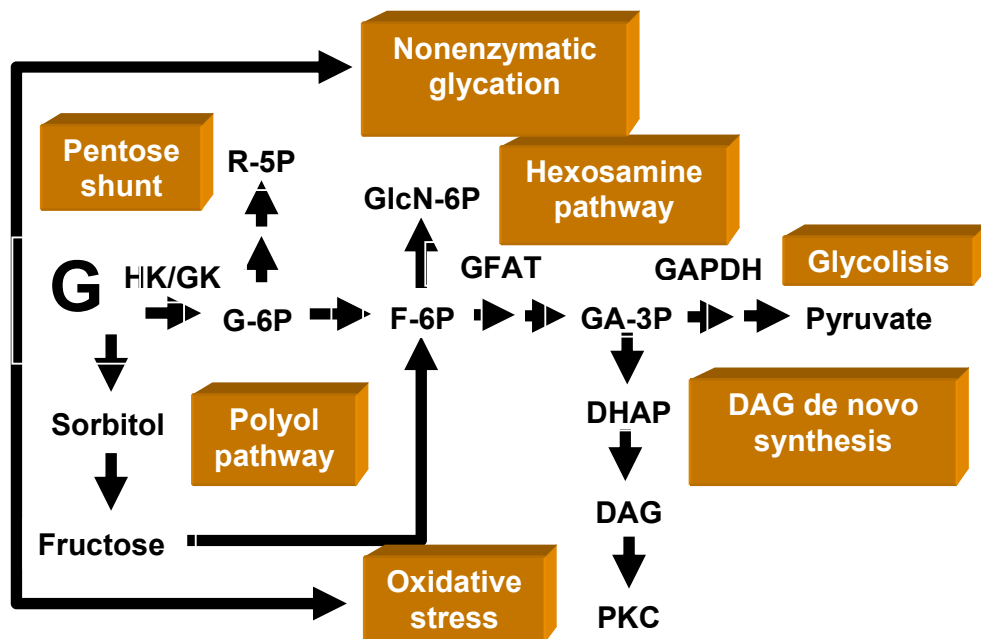
Gambar 1 : Pembentukan AGE dan aktivasi Protein Kinase C oleh karena hiperglikemia.⁸

Hiperglikemia Intraseluler dengan perubahan *polyol pathways*, hiperglikemia memicu peningkatan glukosa intraseluler yang dimetabolisme oleh enzim *aldose reductase* menjadi sorbitol, polioliol. Dalam proses ini NADPH intraseluler berfungsi sebagai kofaktor. NADPH juga diperlukan sebagai kofaktor oleh enzim *glutathion reductase* untuk regenerasi *glutathion* (GSH). GSH merupakan antioksidan penting dalam mekanisme intraseluler, sehingga penurunan kadar GSH meningkatkan kerentanan sel terhadap stres oksidatif.⁶ Hiperglikemia diyakini sebagai penyebab komplikasi diabetes melalui reaksi glikasi, aktivasi

Protein Kinase C, dan *polyol pathway*, selanjutnya produksi berlebihan *reactive oxygen species* dari mitokondria. Pada kenyataannya mekanisme ini saling mempengaruhi satu sama lain.¹² Diketahui bahwa *3-Deoxyglucosone* (3-DG) terbentuk dari fruktose melalui *polyol pathway* sebagai *glucose-derived glycated proteins*. Selanjutnya ditemukan bahwa perkembangan komplikasi diabetes lebih cepat pada pasien dengan kadar serum 3-DG ekstrem tinggi. Pasien dengan kadar 3-DG yang tinggi menunjukkan tendensi komplikasi yang berat, pada kondisi dimana kadar HbA1c mereka tidak tinggi. Sebaliknya pasien dengan kadar 3-DG yang rendah menunjukkan relatif resisten terhadap berkembangnya komplikasi. Dilaporkan bahwa, kadar serum 3-DG berperan pada perkembangan baik nefropati maupun retinopati secara signifikan dibandingkan dengan lamanya diabetes. Bahkan ada yang berpendapat bahwa, kadar 3-DG serum dapat digunakan sebagai marker untuk prediksi prognosis mikroangiopati. Hal ini disebabkan potensi *cross-linking* antara 3-DG pada polimerisasi protein lebih kuat 10 kali dibandingkan dengan glukose. Penemuan ini menunjukkan bahwa formasi AGEs berakselerasi eksponensial ketika glukose dikonversi menjadi 3-DG. Studi imunohistokimia juga menunjukkan bahwa *3-DG – derived AGEs* seperti *pyrraline* dan *imidazolone* terakumulasi pada lesi angiopati diabetik. Studi terbaru mengatakan bahwa 3-DG berefek langsung pada fungsi sel. Che, dkk melaporkan *highly reactive dicarbonyls* khususnya 3-DG memicu stres oksidatif intraseluler dengan merusak bagian aktif dari enzim antioksidan. Sehingga paparan yang lama terhadap kadar 3-DG yang tinggi terhadap sel akan menyebabkan berbagai gangguan. Hal ini mendukung penemuan pada pasien diabetik dengan kadar 3-DG

relatif tinggi berkembang menjadi komplikasi yang berat. Peningkatan kadar 3-DG diinduksi oleh hiperglikemia, sehingga pada pasien diabetik terdapat kadar 3-DG yang tinggi. Hal ini merupakan harapan baru sebagai target farmakologi untuk pencegahan progresivitas komplikasi diabetik, dengan menghambat pembentukan *dicarbonyl compounds* misal 3-DG¹³

Gangguan jalur poliol menyebabkan oksidatif stres dapat dilihat pada gambar 2:



Gambar 2 : Gangguan jalur poliol karena hiperglikemia intraseluler menyebabkan oksidatif stres.¹³

2.5 Kadar albumin urin pada DM tipe 2

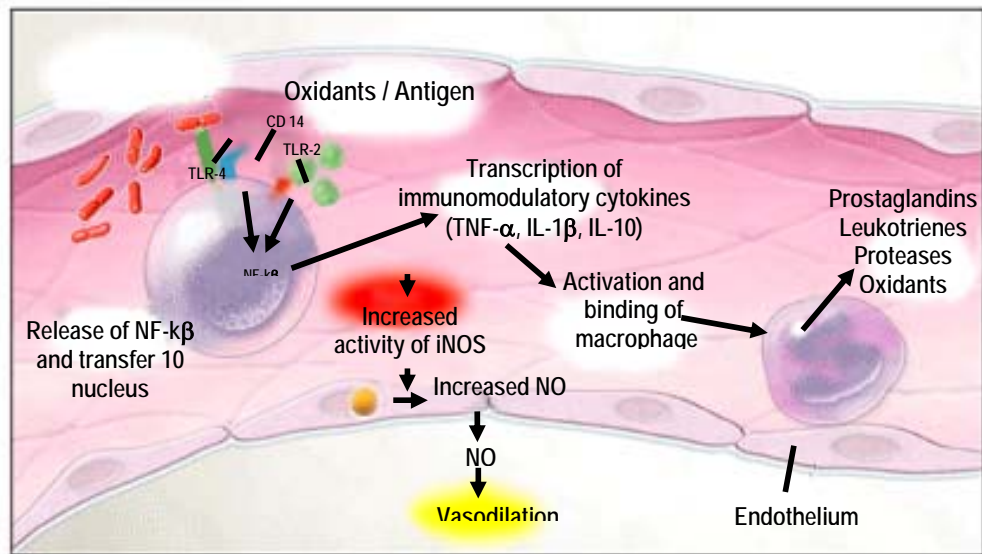
Advanced Glycation End Products (AGEs) meningkat dalam perkembangan komplikasi mikrovaskuler pada *retinal pericyt* dan *renal mesangial cell growth* selama terjadinya retinopati dan nefropati diabetik. Ligasi reseptor AGEs memicu timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan aktivasi

NF- κ B terhadap sel target (endotelium, sel mesangial, makrofag) dengan respons peningkatan permeabilitas vaskuler, sehingga terjadi albuminuria karena terjadinya *transvascular albumin leakage*. Deckert melaporkan bahwa, Heparan Sulfat Proteoglikan yang berperan pada kebocoran albumin lewat glomerulus dan proses aterosklerosis. Heparan Sulfat Proteoglikan ini bermuatan listrik negatif dan disintesis di dalam sel endotel, sel mesangial dan sel myomedial. Berkurangnya densitas Heparan Sulfat Proteoglikan pada glomerulus menyebabkan albuminuria. Shimamura dan Spiro mendapatkan densitas Heparan Sulfat Proteoglikan yang terdapat didalam membran glomerulus berkurang 50% pada pasien dengan mikroalbuminuria. Hal ini juga terjadi pada jaringan ekstra mural pembuluh darah koroner. Kadar albumin urin yang tinggi ini sebagai marker adanya kerusakan endotel yang menyeluruh, dengan satuan miligram per spesimen urin 24 jam, atau mikrogram per menit spesimen urin sewaktu, atau mikrogram per miligram kreatinin pada urin random. Mekanisme yang mendasari peningkatan permeabilitas vaskuler ini tidak diketahui. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *vascular endothelial growth factor* (VEGF) berpengaruh terhadap patogenesis terjadinya proteinuria dan mikroalbuminuria pada pasien diabetes. VEGF meningkatkan permeabilitas pada berbagai organ, juga berperan pada regulasi permeabilitas glomerulus pada ginjal. Ekspresi VEGF dibawah kontrol *hypoxia-inducible factor-1 alpha* (HIF1), sehingga meningkat pada kondisi klinik hipoksia. Beberapa laporan menyatakan adanya peningkatan permeabilitas mikrovaskuler untuk protein plasma pada jaringan terpapar *ischemia-reperfusion*, menunjukkan bahwa *ischemia-reperfusion* menginduksi

vascular protein leakage yang dimediasi oleh *adherent leukocytes*. Diabetes mellitus dihubungkan dengan peningkatan *leukocyt-endothelial cell adhesion* dan *albumin leakage* sebagai respons terhadap *ischemia-reperfusion*. Akumulasi leukosit sebagai respons terhadap *ischemia-reperfusion* dimediasi oleh *CD11/CD18-ICAM-1 interactions* dan *P-selectin*. Peningkatan *albumin leakage* sebagai respons terhadap *ischemia-reperfusion* pada pasien diabetik tidak dimediasi oleh penarikan sel-sel inflamasi. Pada penderita diabetes ditandai dengan fenomena *ischemia-reperfusion* yang memacu disfungsi barier endotel.^{14,15}

Mikroalbuminuria sebagai marker nefropati diabetik pada penderita DM tipe2.¹⁶ Untuk DM tipe2, mikroalbuminuria juga digunakan untuk prediksi penyakit kardiovaskuler, adanya mikroalbuminuria pada DM tipe2 menunjukkan adanya penyakit vaskuler menyeluruh. Nefropati diabetik pada DM tipe1 dengan DM tipe2 terdapat kesamaan pada patologi, respons terhadap intervensi kontrol glukose, terapi anti-angiotensin II, progresivitas menjadi gagal ginjal kronik.¹⁴⁻¹⁶

Beberapa sitokin proinflamasi disekresikan oleh sel-sel leukosit yang menyebabkan peningkatan *transvacular albumin leakage* dapat dilihat pada gambar 3:



Gambar 3 : Beberapa sitokin yang disekresikan oleh sel-sel leukosit yang menyebabkan peningkatan *transvascular albumin leakage*.²⁶

2.6. Netrofil, Limfosit dan Monosit pada DM tipe2

Mekanisme penyebab peningkatan jumlah leukosit pada penderita DM tipe2 tidak sepenuhnya diketahui. Total leukosit perifer, monosit, dan netrofil meningkat paralel dengan nefropati diabetik lanjut. Sebaliknya, limfosit justru menurun. Pasien dengan nefropati diabetik berhubungan signifikan dengan jumlah total leukosit ($r=0,194$; $p=0,014$).³ Bukti terakhir menunjukkan bahwa leptin dan reseptor leptin berperan dalam stimulasi hemopoiesis. mRNA yang mengkode reseptor leptin diekspresikan pada sel induk hematopoetik dan berhubungan dengan proliferasi dan diferensiasi prekursor hematopoetik. Efek proliferasi leptin tampak pada berbagai progenitor sehingga terjadi peningkatan myelopoiesis, eritropoesis dan limfopoiesis. Leptin mempresentasikan sel T matur ($CD4^+$ T Cell) ke fenotip proinflamasi (Th1), ditandai dengan produksi sitokin

seperti IFN- γ dan IL-2. Reseptor leptin juga diekspresikan pada jalur sel megakariosit dan platelet. Leptin bersama ADP dapat menginduksi agregasi platelet. Hiperleptinemia berhubungan dengan tingginya kadar sitokin dan molekul adhesi (ICAM-1) serta kecenderungan untuk agregasi platelet. Leptin, yang mempunyai struktur heliks mirip dengan IL-2 dan growth hormon, dibutuhkan untuk fungsi normal sel T dan proliferasi sel T naif. Leptin meningkatkan respons Th1 (ditandai dengan produksi IFN- γ) dan menghambat respons Th2 (ditandai dengan produksi IL-4 dan IL-5).¹⁷⁻²⁰ Leptin meningkatkan limfosit perifer, dengan secara spesifik mengaktifasi sel T (CD4⁺) yang memproduksi sitokin proinflamasi interferon- γ dan IL-2. Interferon- γ dapat menginduksi ekspresi molekul adhesi misalnya ICAM-1.²¹ Hiperleptinemia dihubungkan dengan peningkatan kadar berbagai sitokin, molekul adesi yang berkombinasi dengan peningkatan agregasi trombosit.¹⁹ Leptin dihasilkan oleh jaringan adiposa, disamping itu jaringan adiposa juga menghasilkan IL-6 yang merupakan faktor poten terhadap diferensiasi leukosit dan berhubungan dengan resistensi insulin. IL-6 juga diproduksi oleh leukosit yang teraktifasi karena inflamasi, hal ini juga dapat mengaktifasi sistem imun. IL-6 ini dapat meningkatkan jumlah leukosit dan produksi sitokin yang akan menyebabkan penurunan sensitivitas insulin.²¹ Total leukosit perifer, monosit, dan netrofil meningkat paralel dengan nefropati diabetik lanjut. Sebaliknya limfosit justru menurun. Kadar plasma leptin meningkat pada pasien dengan nefropati diabetik dan berhubungan signifikan dengan jumlah total leukosit. Leukosit dalam sirkulasi berperan dalam perkembangan dan progresi nefropati diabetik.³

Kadar CRP berhubungan dengan *fasting glucose*, sensitivitas insulin, disfungsi endotel, dan gangguan fibrinolisis.²²⁻²⁵ Kadar CRP sebagai prediktor tambahan insiden DM tipe2.²⁶ *Low-grade chronic inflammatory responses* memicu terjadinya kerusakan vaskuler yang luas, disfungsi endotel, peningkatan stres oksidatif, dan peningkatan produksi *growth factor* dan sitokin sehingga menyebabkan komplikasi mikro dan makrovaskuler.^{22,23} *Low-grade chronic inflammatory* (jumlah leukosit, sitokin, *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) mengaktifasi sistem imun yang berperan pada patogenesis DM tipe2.²³⁻²⁶ AGEs terikat pada reseptor seluler yang terdapat di *critical target cell* penderita DM, yaitu monosit, makrofag, sel endotel, sel mesangial dan fibroblas. Ikatan AGEs terhadap reseptor di makrofag menginduksi sintesis dan sekresi sitokin, tersering yaitu interleukin-1, *tumor necrosis factor- α* , dan *insulin-like growth factor-1*. Geisler et al, melaporkan penurunan jumlah total monosit pada sirkulasi dari penderita DM tipe2. *Impaired monocyte chemotaxis* juga dilaporkan. Monosit pada penderita DM tipe2 menunjukkan peningkatan adesi terhadap fibronektin. Selain itu juga menunjukkan peningkatan sekresi mediator inflamasi diantaranya TNF- α , IL-1 β , dan prostaglandin E₂.²³ Konsekuensi AGEs pada perubahan endotelial terjadinya trombosis dan vasokonstriksi yang meluas. AGEs berhubungan dengan hiperglikemia dan kombinasi dengan hiperlipidemia, dan AGEs terikat dengan reseptor makrofag menginduksi produksi sitokin. Peningkatan serum lipid pada DM tipe2 berhubungan langsung dengan netrofil dan makrofag. Leukosit teraktifasi pada penderita DM tipe2 melepaskan radikal superoksida dan produksi protease yang meningkat, keduanya akan meningkatkan

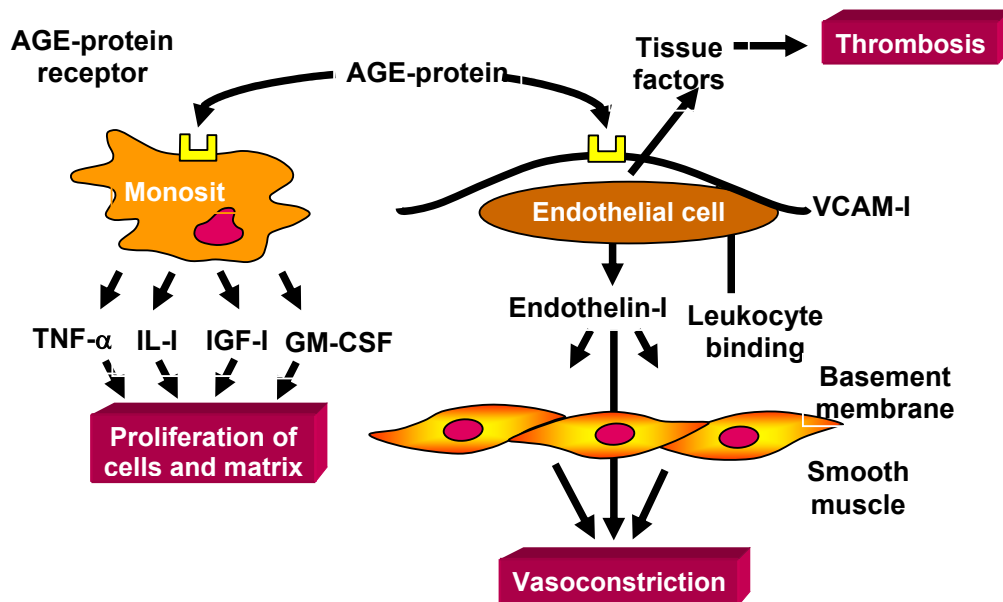
stres oksidatif. Respons *low grade chronic inflammatory* memicu terjadinya kerusakan vaskuler yang meluas, disfungsi endotel, peningkatan stres oksidatif, dan peningkatan produksi sitokin & *growth factor*.²³⁻²⁵ Pasien DM tipe2 dengan nefropati klinis menunjukkan peningkatan sekresi TGF- β 1 oleh *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC). Tingkat tekanan darah diastolik berhubungan dengan sekresi TGF- β 1 pada pasien DM tipe2 dengan nefropati. Peningkatan *adherence* leukosit diperantarai oleh interaksi antara CD11/CD8 pada leukosit dan ICAM-1 pada sel endotel. Glukose juga berperan pada interaksi monosit dengan endotel melalui stimulasi IL-8 dan produksi ROS. Interaksi antara angiotensin II dengan NF- β *dependent pathways* memodulasi infiltrasi makrofag pada nefropati DM tipe2 eksperimental.²⁶⁻³⁰ *Peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) pada pasien DM tipe2 dengan nefropati diabetik menunjukkan peningkatan aktivasi *oxidative-stress sensitive transcription factor NF-kappaB*.²⁴ Peningkatan jumlah leukosit meskipun dalam range normal (dibanding kontrol) berhubungan dengan komplikasi mikro dan makrovaskuler pada DM tipe2, inflamasi kronik berperan besar pada patogenesis retinopati, komplikasi kardiovaskuler dan renal pada pasien DM tipe2.²⁸⁻²⁹ Interaksi CD11/ CD18-ICAM berperan penting pada *adherence* dan *emigration* leukosit pada vena mesenterika tikus diabetik yang dipicu *ischemia-reperfusion*. Leukosit berperan besar dalam hemoreologi darah dengan ditandai adhesi yang dipicu oleh stres *ischemia*, selanjutnya berpengaruh terhadap hemoreologi dan berperan penting dalam kerusakan endotel, baik akut maupun kronik dengan adhesi dan merusak endotel melalui *toxic oxygen compounds* dan enzim proteolitik.²⁶ Leukosit mononuklear tertarik pada bagian

sel endotel yang rusak dan *plaque* yang terbentuk oleh sel (busa) *foam*. Netrofil teraktifasi memicu perubahan hemoreologi dan menempel pada sel endotel sehingga menyebabkan sumbatan kapiler dan iskemia jaringan. Selanjutnya berbagai sitokin dan *growth factor*, diantaranya interleukin, *tumor necrosis factor*, dan *transforming growth factor-1* dilepaskan dari leukosit teraktifasi, sehingga menyebabkan disfungsi endotel. Lebih lanjut, peningkatan kadar TGF-1 yang disekresi oleh sel mononuklear di glomerulus menstimulasi proliferasi sel mesangial dan epitel, selanjutnya memicu ekspansi matrik yang khas pada glomerulosklerosis. Leukosit teraktifasi juga melepaskan radikal superoksida dan protease, yang menyebabkan stres oksidatif. *Transcription factor nuclear factor-B* teraktifasi di *Peripheral blood mononuclear cells*. Kesemuanya memicu terjadinya nefropati diabetik. Jumlah total monosit dalam sirkulasi menurun pada penderita DM. Kemotaksis monosit terganggu, peningkatan adesi terhadap fibronektin, hal ini berperan pada pembentukan aterosklerosis. Aktifitas metabolisme terhadap partikel zimosan meningkat yang dicerminkan dari peningkatan produksi superoksida, dan aktivitas *hexose monophosphat shunt*. Meningkatnya sekresi mediator inflamasi antara lain *tumor necrosis factor- α* , interleukin-1 β , dan prostaglandin E₂.²³ Pada tikus dengan nefropati diabetik tipe-2, makrofag berpengaruh besar terhadap progresivitas kerusakan ginjal, serta penyebab terbesar gagal ginjal terminal. Granulosit mempertahankan tubuh terhadap mikroba melalui produksi substansi toksik, misalnya enzim proteolitik, radikal oksigen, dan metabolit asam arakhidonat. Kondisi tertentu kadang diproduksi tanpa adanya mikroba, sehingga merusak sel normal dan degradasi

jaringan ikat. *Low-grade inflammatory disease* dipengaruhi leukosit, lipid, dan glukose yang memicu terjadinya disfungsi endotel. Selama netrofil teraktifasi oleh trigliserida dan glukose terjadi peningkatan pengeluaran IL-8 dan *hidroperoxides* (HPO) yang berperan pada disfungsi endotel dan peningkatan stres oksidatif. Glukose juga menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS) oleh mitokondria dalam sel endotel, yang selanjutnya menginisiasi kaskade proinflamasi dan penurunan NO. Selain itu *adhering activated neutrophils* dapat mengaktifasi langsung sel endotel, sehingga *adhering neutrophil* dapat menyebabkan disfungsi endotel melalui produksi ROS dan enzim proteolitik. Pada kondisi normal, netrofil terdapat di *circulating pool* dan *marginated pool* misal kapiler. Ketika teraktifasi, misal produksi sitokin proinflamasi (IL-8 khususnya) terjadi *demarginated* netrofil dan terakumulasi pada daerah inflamasi. Proses ini tergantung pada *cell adhesion* melalui ekspresi selektin dan integrin pada membran luar sel inflamasi dan endotel. Proses ini diamplifikasi dan dikontrol melalui produksi sitokin oleh sel inflamasi dan sel endotel teraktifasi. IL-8 kemokin paling *responsible* terhadap penarikan netrofil, tetapi tidak pada limfosit. IL-8 diproduksi oleh berbagai tipe sel, diantaranya netrofil teraktifasi dan sel endotel. Rangsangan terkuat untuk penarikan limfosit adalah sitokin proinflamasi IL-6 yang sebagian besar berasal dari jaringan lemak, tetapi juga dari sel inflamasi dan endotel. Aktifasi *Chronic low-grade* sistem imun berperan penting pada patogenesis DM tipe2. Marker inflamasi misal jumlah leukosit, fibrinogen plasma, *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), gamma globulin, dan konsentrasi albumin rendah berhubungan dengan perkembangan DM tipe2.³⁰⁻

³³ Studi sebelumnya menunjukkan limfosit postprandial dan peningkatan IL-6 tidak tergantung diet, dan menegaskan dipengaruhi ritme diurnal. Selama fase postprandial, lemak dan glukose secara spesifik meningkatkan netrofil, in vivo sebanding dengan peningkatan IL-8 dan HPO postprandial yang berkontribusi terhadap disfungsi endotel yang *reversible*. Jumlah leukosit berhubungan dengan berbagai kondisi klinik, khususnya BMI, tekanan darah, *fasting insulin*, kolesterol-HDL dan LDL, serta trigliserida. Kadar IL-6 di sirkulasi berhubungan dengan *fasting insulin* dan tekanan darah. Resistensi insulin dapat memicu peningkatan kadar marker inflamasi.³⁴⁻³⁸

Sekresi berbagai sitokin proinflamasi dari sel leukosit oleh rangsangan AGE-protein dapat dilihat pada gambar 4:



Gambar 4 : AGE-protein sebagai pemicu terhadap peningkatan sekresi berbagai sitokin proinflamasi oleh sel leukosit.¹²

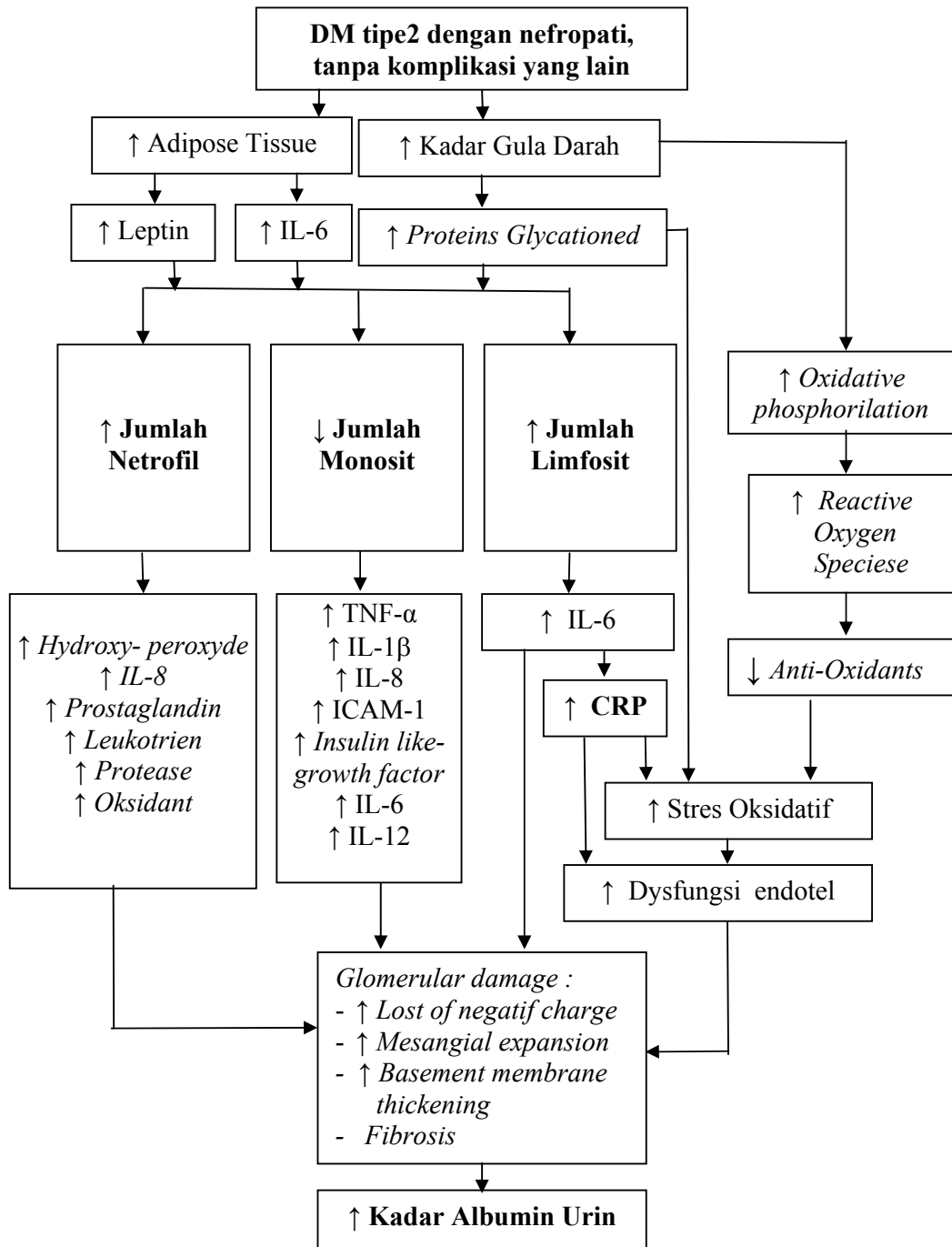
2.7 Hubungan Kadar albumin urin dengan Netrofil, Limfosit dan Monosit pada DM tipe2

Nefropati diabetik progresif pada tikus dihubungkan dengan peningkatan makrofag pada ginjal. Akumulasi dan aktivasi makrofag pada tikus berhubungan dengan hiperglikemia, kadar HbA1c, albuminuria, peningkatan kreatinin plasma, kerusakan glomerulus dan tubulus, fibrosis renal, dan ekspresi kemokin makrofag (*monocyte chemoattractant protein-1*) di ginjal, osteoponin, *migration inhibitory factor* (MIF), *monocyt colony stimulating factor* (M-CSF).³⁹⁻
⁴¹ Aktivasi makrofag glomerular berhubungan dengan peningkatan IgG glomerular dan deposisi C3, itu semua dipengaruhi oleh hiperglikemia. *Diabetik state* menginduksi peningkatan inflamasi terhadap respons *ischemia-reperfusion* sehingga manifes dalam bentuk peningkatan akumulasi, aderen dan emigrasi leukosit serta peningkatan yang mencolok ekstrasvasasi albumin. Pasien diabetik dengan nefropati menunjukkan peningkatan *NF-kappaB binding activity* pada *Electrophoretic Mobility Shift Assays* dan aktivasi *NF-kappaBp65* pada pengecatan imunohistologik dibanding pasien tanpa komplikasi renal. *NF-kappaB binding activity*, konsentrasi plasma trombomodulin berhubungan dengan derajat mikroalbuminuria, menunjukkan albuminuria berhubungan dengan disfungsi endotel.⁴²⁻⁴⁵ Mekanisme lain yang meningkatkan transfer protein mikrovaskuler oleh leukosit pada pasien DM tipe2 khususnya perubahan *redox state* pada sel endotel akibat metabolisme glukose melalui *polyol pathway*, aktivasi Protein Kinase C, dan *quenching of nitric oxide* oleh *advanced glycosylation end products*.⁴⁶⁻⁵⁰ Hitung leukosit berhubungan dengan *albumin excretion rate*, juga pada model regresi multipel berhubungan dengan umur, lama menderita DM

tipe2, BMI, tekanan darah diastolik & sistolik, HbA1c, kolesterol total & kol-HDL, trigliserida, asam urat, kreatinin, LED, fibrinogen, dan hematokrit. Pada pasien DM tipe2 *albumin excretion rate* berhubungan dengan jumlah leukosit, salah satu komponen mayor inflamasi sublinik kronik yang berhubungan dengan, baik resistensi insulin maupun atherosklerosis.⁵¹⁻⁵⁴

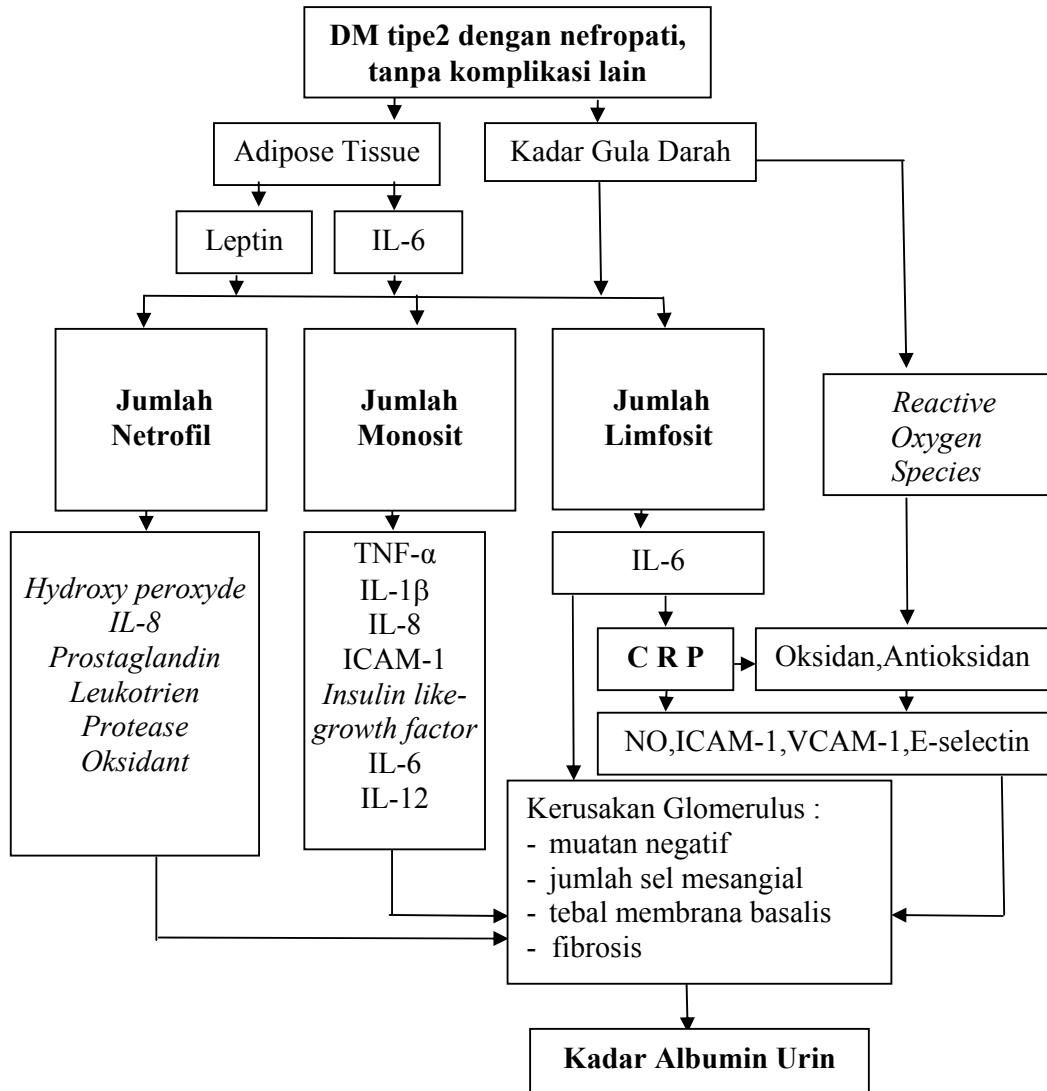
Keterkaitan antara jumlah leukosit, *C-Reaktif Protein*, AGEs dan berbagai sitokin dengan albuminuria, menunjukkan bahwa kemungkinan netrofil, limfosit & monosit dapat sebagai prediktor terjadinya mikroangiopati pada pasien DM tipe2.^{2,4,5}

2.8 Patofisiologi

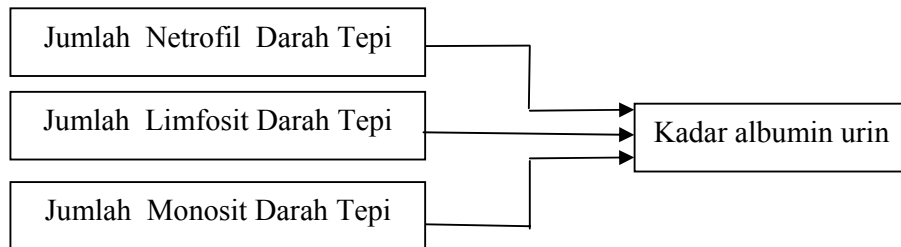


BAB 3
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis

- 3.3.1 Ada korelasi positif antara jumlah netrofil dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
- 3.3.2 Ada korelasi negatif antara jumlah monosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.
- 3.3.3 Ada korelasi positif antara jumlah limfosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe2 dengan mikroalbuminuria.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah analitik observasional dengan pendekatan belah lintang.

4.2 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup bidang ilmu yang diteliti adalah bidang ilmu Patologi Klinik dengan titik berat pada cabang ilmu hematologi dan endokrinologi.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian adalah pelayanan rawat jalan di Rumah Sakit Dokter Kariadi, Semarang. Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang.

Waktu penelitian adalah bulan Agustus 2007.

4.4 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah pasien DM tipe2 di rawat jalan dan memeriksakan diri di laboratorium Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

Kriteria inklusi :

1. Pemeriksaan kadar CRP kualitatif : negatif.
2. Pemeriksaan hematologi analiser jumlah lekosit antara 7.000–10.000/ μ l.
3. Pemeriksaan hematologi analiser tidak didapatkan *flagging* (tanda/pemberitahuan dari alat) atau limfosit varian.
4. Pemeriksaan albumin urin dengan dipstik : negatif.
5. Pemeriksaan Glukosa Puasa/2 jam PP < 200mg/dl.
6. Pemeriksaan Urinalisis dalam batas normal

7. Tekanan darah sistolik: antara 100-161mmHg; diastolik antara 70-90mmHg.
8. Suhu badan 36-37,2 °C.
9. Lama menderita DM > 5 tahun.
10. Anamnesis tidak terdapat penyakit ginjal.

Pengambilan sampel :

Pengambilan sampel dengan menggunakan rumus sebagai berikut: ^{55,56}

$$n = \frac{(Z\alpha\sqrt{P_0 Q_0})^2 + (Z\beta\sqrt{P_1 Q_1})^2}{(P_1 - P_0)^2}$$

Po = Proporsi DM = 0,4

Qo = 1-0,4 = 0,6

P1 = Clinical judgement = 0,625

Q1 = 1-0,625 = 0,375

Zα = 1,96 (α=0,05)

Zβ = 1-β (β=20%)

= 0,842

$$\begin{aligned} n &= \frac{(1,96 \sqrt{0,04 \times 0,61})^2 + (0,842 \sqrt{0,625 \times 0,38})^2}{(0,625 - 0,40)^2} \\ &= \frac{(1,96 \times \sqrt{0,24})^2 + (0,842 \times \sqrt{0,237})^2}{(0,225)^2} \\ &= \frac{(1,96 \times 0,48)^2 + (0,842 \times 0,48)^2}{(0,05)} \\ &= \frac{(0,9)^2 + (0,4)^2}{(0,05)} \\ &= \frac{(0,81) + (0,16)}{(0,05)} \end{aligned}$$

$$= 19,6 \rightarrow 20 \rightarrow (+ 10\%) \rightarrow 22$$

Menurut perhitungan, jumlah sampel penelitian kami minimal 22 responden.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas : Jumlah Netrofil, Limfosit, Monosit.

Skala variabel : ordinal

4.5.2 Variabel tergantung : Kadar albumin urin

Skala variabel : ordinal

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Jumlah leukosit

Definisi Operasional : Jumlah jenis leukosit yang dihitung dengan alat

Cell-Dyn^R 3700 dengan tidak mengikutkan *flagging*.

Dengan nilai rujukan sebagai berikut:^{57, 58}

Jumlah leukosit : 7 ± 3.000 / μ L

Netrofil : 2.000 – 7.000 / μ L (40 – 80%)

Limfosit : 1.000 – 3.000 / μ L (20 – 40%)

Basofil : 20 – 100 / μ L (<1 – 2%)

Eosinofil : 20 – 500 / μ L (1 – 6%)

Monosit : 200 – 1.000 / μ L (2 – 10%)

4.6.2 Kadar Albumin Urin

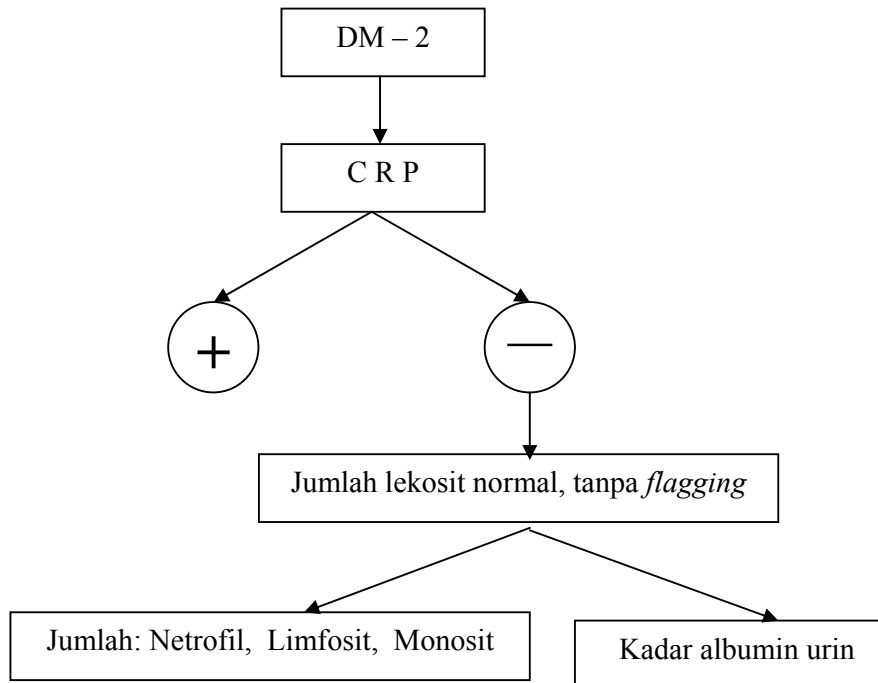
Definisi Operasional : Kadar albumin urin dari urin sewaktu pagi hari yang

diperiksa dengan reagen NycoCard^RU-ALBUMIN

didapatkan kadar albumin urin antara **20 – 200 mg/L**

(mikroalbuminuria) dengan volume urin normal⁵⁹

4.7 Alur Penelitian



4.8 Cara Kerja

4.8.1 Pemeriksaan jumlah Netrofil, Limfosit, Monosit.

Sampling darah vena :

Darah vena diambil dari daerah vena mediana cubiti dengan spuit sebanyak 5 cc. Sebelumnya daerah tersebut didisinfeksi dengan alkohol 70%. Darah dimasukkan dalam tabung berisi EDTA dengan cara dilepas jarumnya dan dialirkan pelan-pelan sebanyak 2 cc. Setelah itu tabung dipilin untuk mencampur EDTA dengan darah. Sisa darah dimasukkan dalam tabung tanpa antikoagulan untuk pemeriksaan kimia klinik dan imunologi.

Pemeriksaan jumlah Netrofil, Limfosit, Monosit .⁵⁸

Tabung berisi darah EDTA ditempatkan sesuai tempatnya pada alat *hematology analyser Cell-Dyn^R 3700*, sehingga darah akan diaspirasi oleh

probe dan masuk dalam *sample rotor valve*. Larutan pengencer (*diluent*) juga mengalir dalam *sample rotor valve*, sehingga keduanya tercampur. Sampel yang telah diencerkan tersebut menuju ke *mixing chamber*. Proses ini adalah pengenceran pertama. Dari *mixing chamber*, sampel akan masuk kembali ke *sample rotor valve* dan bercampur kembali dengan larutan pengencer (pengenceran kedua). Sampel diaspirasi melalui *apertura* ke dalam *transducer chamber*. Leukosit akan dihitung jumlahnya berdasarkan jenisnya dengan metode DC (*Discrimination Circuit*) dan ditampilkan dalam kertas *print out*.

4.8.2 Pemeriksaan kadar albumin urin

Sampling urin :

Sampel urin random pagi hari yang pertama kali tanpa *pre-treatment* dapat digunakan.

Pemeriksaan kadar albumin urin :⁵⁹

1. Sampel urin sejumlah 50 μL atau kontrol ditambahkan ke *test tube* dengan R1/ *dilution liquid*. Dicampur dengan baik.
Catatan: R1/ *dilution liquid* harus dalam temperatur kamar ketika digunakan (15-25⁰C).
2. Dimasukkan 50 μL *diluted urin* atau *diluted control* ke dalam *Test Device*. Ditunggu sampai *diluted urin* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih).
Catatan : Dihindari gelembung udara.
3. Ditambahkan 50 μL R2/ *Conjugate* ke dalam *Test Device*. Ditunggu sampai *conjugate* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih). Catatan : Dihindari gelembung udara.

4. Ditambahkan 50 μ L R3/ *washing solution* ke dalam *Test Device*. Ditunggu sampai *washing solution* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih). Catatan : Dihindari gelembung udara.
5. Dibaca hasilnya dalam waktu 5 menit dengan menggunakan *NycoCard^RREADER II*. Mengikuti petunjuk yang diberikan dalam instruksi manual *NycoCard^RREADER II*.

4.9 Analisis Data

Keseluruhan hasil untuk variabel kontinyu disajikan sebagai rerata dan simpangan baku. Uji normalitas data dengan menggunakan Shapiro-Wilk.

Koefisien korelasi Spearman's digunakan untuk mengeksplorasi hubungan antara kadar albumin urin dengan jumlah Netrofil, Limfosit dan Monosit.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik subyek penelitian

Sejumlah 22 pasien DM tipe2 pada penelitian *cross sectional* ini dengan karakteristik subyek penelitian dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini :

Tabel 1 : Karakteristik subyek penelitian

Subyek Penelitian	X ± SD
Umur (tahun)	57,3 ± 10,5
Lama menderita DM tipe2 (tahun)	8,7 ± 2,6
Tekanan Darah Sistolik (mmHg)	130 ± 20
Tekanan Darah Diastolik (mmHg)	70 ± 20
Gula Darah Puasa (mg/dl)	140 ± 61
Gula Darah 2 jam PP (mg/dl)	145 ± 55

Dari tabel 1 dapat dilihat : umur subyek penelitian rata-rata cukup lanjut (57,3 th), lama menderita DM lebih 5 th, tekanan darah dalam batas normal, gula darah puasa/ 2 jam PP < 200mg/dl.

5.2 Deskripsi jumlah Netrofil, Limfosit dan Monosit

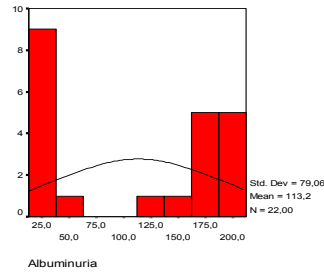
Tabel 2 : Deskripsi jumlah Netrofil, Limfosit dan Monosit

Jumlah	X ± SD
Netrofil (/μL)	4.467 ± 1.542
Limfosit (/μL)	2.436 ± 935
Monosit (/μL)	545 ± 178
Kadar Albumin urin (mg/L)	113 ± 79

Dari tabel 2 dapat dilihat : jumlah netrofil subyek penelitian rata-rata 4.467/μL, jumlah limfosit rata-rata 2.436/μL, jumlah monosit rata-rata 545/μL, kadar albumin urin rata-rata 113mg/L.

5.3 Uji normalitas data

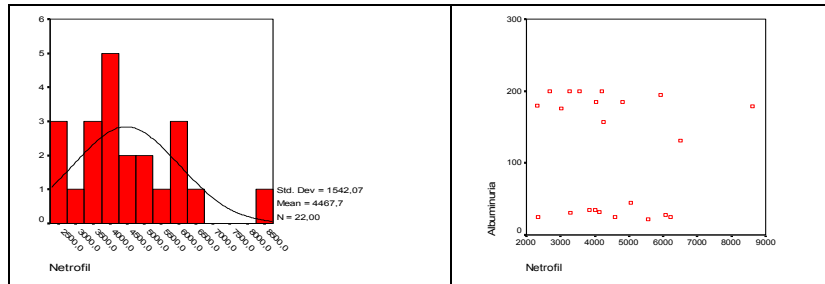
Albuminuria



Gambar 1 : Histogram Albuminuria

Pada gambar 1 dapat dilihat: tampak menceng ke kiri, ini menunjukkan distribusi tampak tidak normal. Kelompok data cenderung tidak berdistribusi normal.

Jumlah netrofil

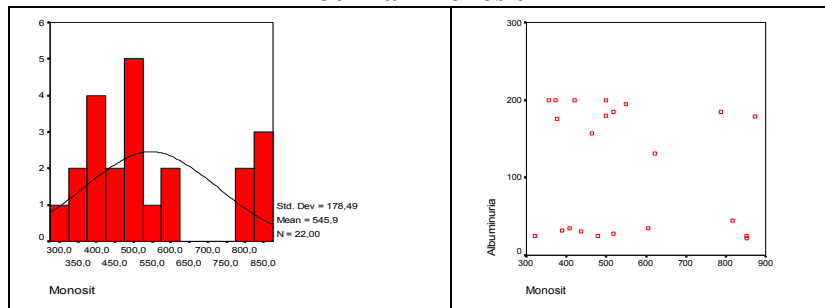


Gambar 2 : Histogram Netrofil

Gambar : Scatter Plot Netrofil

Pada gambar 2 dapat dilihat: tampak normal, ini menunjukkan distribusi tampak normal. Kelompok data cenderung berdistribusi normal.

Jumlah monosit

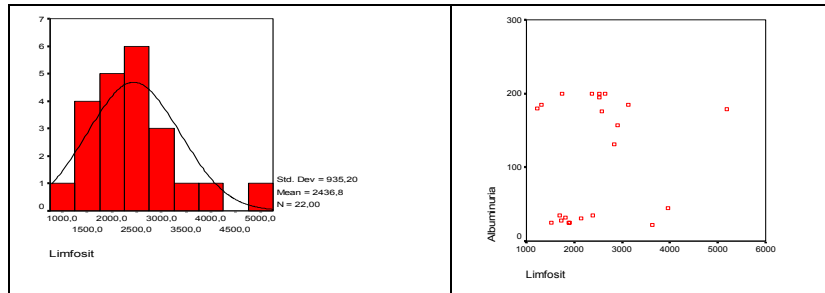


Gambar 3 : Histogram Monosit

Gambar : Scatter Plot Monosit

Pada gambar 3 dapat dilihat: tampak menceng ke kiri, ini menunjukkan distribusi tampak tidak normal. Kelompok data cenderung tidak berdistribusi normal.

Jumlah limfosit



Gambar 4 : Histogram Limfosit

Gambar : Scatter Plot Limfosit

Pada gambar 4 dapat dilihat: tampak normal, ini menunjukkan distribusi tampak normal. Kelompok data cenderung berdistribusi normal.

Uji normalitas data menunjukkan data albumin berdistribusi tidak normal $p = 0,000$; data netrofil berdistribusi normal $p = 0,065$; data monosit berdistribusi tidak normal $p = 0,000$; data limfosit berdistribusi normal $p = 0,279$ (uji Shapiro-Wilk). Jumlah sampel pada penelitian ini kecil, sehingga berdasarkan tersebut di atas, uji korelasi menggunakan non parametrik yaitu koefisien korelasi Spearman's.

5.4 Uji korelasi jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin

Dengan uji koefisien korelasi Spearman's didapatkan hasil sebagai berikut :

- Tidak ada korelasi antara jumlah netrofil dengan kadar albumin urin ($r = -0,250$; $p = 0,263$).
- Tidak ada korelasi antara jumlah monosit dengan kadar albumin urin ($r = -0,191$; $p = 0,395$).
- Tidak ada korelasi antara jumlah limfosit dengan kadar albumin urin ($r = 0,130$; $p = 0,565$).

PEMBAHASAN

Kronik inflamasi telah diakui berperan penting dalam patogenesis diabetes tipe 2. Penelitian dengan pendekatan belah lintang menunjukkan obesitas dan resistensi insulin berhubungan dengan kadar tinggi dari petanda inflamasi dan fungsi endotel. Penelitian prospektif terakhir menunjukkan hubungan antara berbagai petanda inflamasi khususnya *C-reactive protein* (CRP), dan interleukin (IL)-6 dengan berkembangnya risiko diabetes tipe 2.⁶⁰ Respons inflamasi terdiri dari dua komponen besar, yaitu reaksi vaskuler dan reaksi seluler. Reaksi ini menyebabkan peningkatan berbagai sel dan produk jaringan, khususnya cairan dan protein plasma, sel darah dalam sirkulasi, pembuluh darah, serta sel-sel dan bahan-bahan ekstraseluler dari jaringan ikat sekitar pembuluh darah. Sel darah dalam sirkulasi khususnya, netrofil, monosit, eosinofil, limfosit, basofil dan trombosit. Sel-sel jaringan ikat diantaranya sel mast, fibroblas jaringan ikat, makrofag dan limfosit. Matrik ekstra seluler yang terdiri dari protein fibrous (kolagen, elastin), glikoprotein adesif (fibronektin, laminin, kolagen nonfibriler, tenascin, dan lain-lain), dan proteoglikan. Membrana basalis merupakan komponen khusus dari matrik ekstraseluler yang terdiri dari glikoprotein-adesif dan proteoglikan. Reaksi vaskuler dan seluler dimediasi oleh berbagai faktor kimia yang merupakan protein plasma atau berbagai sel teraktifasi oleh inflamasi dan produknya. Berbagai mediator aktif secara tunggal, bersama-sama atau sebagian memicu terjadinya reaksi inflamasi.⁸

Penelitian ini menunjukkan bahwa, jumlah netrofil, jumlah limfosit & jumlah monosit darah tepi tidak terdapat korelasi dengan kadar albumin urin dengan $p = 0,263$; $p = 0,565$; $p = 0,395$ ($p > 0,05$). Koefisien korelasi masing-masing sebagai berikut: netrofil ($r = -0,250$); monosit ($r = -0,191$); limfosit ($r = 0,130$) terhadap kadar albumin urin pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria. Hubungan antara jumlah netrofil, monosit & limfosit dengan kadar albumin urin ini setelah dikontrol dengan pemeriksaan kadar CRP kualitatif: negatif ($< 10 \text{ mg/L}$), pemeriksaan hematologi analiser jumlah leukosit antara $4.000\text{--}10.000/\mu\text{L}$, tidak didapatkan *flagging* (tanda/pemberitahuan dari alat) atau limfosit varian, pemeriksaan albumin urin dengan dipstik : negatif, pemeriksaan Glukosa Puasa/2 jam PP $< 200 \text{ mg/dl}$, pemeriksaan urinalisis dalam batas normal, tekanan darah sistolik: antara $100\text{--}161 \text{ mmHg}$; diastolik antara $70\text{--}85 \text{ mmHg}$, Suhu badan $36\text{--}37,2 \text{ }^\circ\text{C}$, lama menderita DM > 5 tahun, anamnesis tidak terdapat penyakit ginjal. Penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Chung dkk yang mengatakan bahwa leukosit total perifer, jumlah netrofil, limfosit & monosit dalam batas normal berhubungan dengan nefropati pada subyek dengan DM tipe 2 ($r = 0,192$; $p = 0,014$), yang berarti korelasi positif lemah kemungkinan disebabkan oleh perancu faktor inflamasi, apalagi subyek penelitian menggunakan pasien dengan nefropati klinis (*overt nephropaty*) $\text{UACR} > 300 \text{ mg/g}$ atau makroalbuminuria, berarti faktor inflamasi sangat berpengaruh. Penelitian Chung dkk, belum mengendalikan faktor inflamasi, misal dengan pemeriksaan CRP.³

Perbedaan sifat korelasi pada jumlah netrofil antara penelitian ini ($r=-0,250$; $p=0,263$) dengan penelitian Chung dkk (korelasi positif), kemungkinan disebabkan oleh faktor inflamasi. Penelitian ini mengontrol inflamasi melalui pemeriksaan CRP, sehingga hanya responden dengan CRP kualitatif negatif ($<10\text{mg/L}$) yang dipakai sebagai subyek penelitian. Chung dkk tidak mengendalikan faktor inflamasi, dan subyek penelitian mengalami nefropati klinis (*overt nephropaty*), padahal faktor inflamasi akan sangat berpengaruh. Disamping itu limfosit teraktifasi akan mengeluarkan GM-CSF, yang selanjutnya GM-CSF akan mengaktifkan netrofil. Netrofil akan beradhesi dengan sel sasaran yaitu endotel pembuluh darah, yang menyebabkan terganggunya fungsi endotel pembuluh darah.³⁴⁻³⁸

Pada jumlah monosit tidak terdapat korelasi dengan kadar albuminuria ($r=-0,191$; $p=0,395$), hal ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan terdapat hubungan antara jumlah monosit dengan nefropati DM pada pasien DM tipe 2. Geissler dkk melaporkan, pada tikus dengan nefropati diabetik tipe 2, makrofag (monosit yang bermigrasi ke jaringan) berpengaruh besar terhadap progresifitas kerusakan ginjal, serta penyebab terbesar gagal ginjal terminal.²³ Makrofag yang teraktifasi akan memproduksi IL- 1β , selain itu IL- 1β juga diproduksi oleh sel endotel yang teraktifasi. IL- 1β adalah mediator terbesar pada respons fase akut, yang akan menyebabkan hepatosit menaikkan sintesis protein pada fase akut (anti protease, haptoglobin, komponen-komponen C3, C4 dan faktor B, fibrinogen dan feritin). IL- 1β juga mempunyai efek pada sel endotel

termasuk penambahan sintesis dari prostaglandin I₂ dan prostaglandin E₂, penambahan produksi dari inhibitor aktivator plasminogen, dan menyebabkan ekspresi dari *intercellular adhesions molecule-1* (ICAM-1). Hal ini mungkin menerangkan penambahan *endothelial adherens* pada sirkulasi sel mononuklear disebabkan oleh IL-1 β . Selain itu makrofag yang teraktifasi akan mensekresikan tidak hanya IL-1 β tetapi juga sederetan enzim (protease netral, misalnya kolagenase dan elastase) yang dapat merusak jaringan ikat, molekul prokoagulan (faktor jaringan atau faktor VII) yang dapat menyebabkan koagulasi lokal melalui jalur koagulasi ekstrinsik dan aktivator plasminogen. Enzim elastase ini mengubah plasminogen menjadi plasmin akan merusak fibrin dan dengan demikian berbalik secara perlahan, sehingga terbentuk gumpalan. Sedangkan stres oksidatif akan mengaktifasi monosit melalui aktivasi NF- κ B untuk memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi yaitu: IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12.²³ Disamping itu, monosit yang teraktifasi akan memproduksi faktor pertumbuhan yang akan merangsang proliferasi dan migrasi sel otot polos dari tunika media ke tunika intima sehingga menyebabkan tunika intima menebal. Kedua proses tersebut diatas akan menyebabkan terjadinya sklerosis dan terbentuknya *plug* (sumbatan) pada pembuluh darah.¹² Monosit pada penderita DM tipe 2 dengan nefropati bermigrasi ke jaringan (makrofag).²³ Guntur, melaporkan Toll Like Receptor 4 (TLR4) menunjukkan aktivasi NF- κ B dan menginduksi sejumlah sitokin proinflamasi. Ikatan antara TLR dengan oksidan/antigen mengawali aktivasi jalur sinyal transduksi intraseluler yang multipel.

Diantara jalur yang telah diketahui adalah aktivasi NF- κ B. *Toll Like Receptors* (TLRs, merupakan keluarga reseptor transmembran tipe 1 yang ditandai oleh ujung amino ekstraseluler, mempunyai domain ujung amino dengan pengulangan leusin dan ujung karboksil sebagai ekor intraseluler yang berisi suatu regio yang disebut dengan domain homolog dengan Toll/Interleukin-1 reseptor). Seperti kebanyakan bentuk homodimer, yang akan mengawali perubahan konformasi dalam modul Toll/IL-1R sitoplasma dengan perekrutan protein adapter yang lebih dikenal dengan MyD88 (*myeloid differentiation primary-response protein 88*). MyD88 berisi domain ujung-C yang berikatan dengan TLR melalui modul Toll/IL-1R sitoplasma dan bagian ujung-N yang disebut modul *death-domain*. Modul *death-domain* dari MyD88 merekrut *receptor-associated kinase IL-1* pada kompleks reseptor. *Receptor-associated kinase IL-1* kemudian akan mengalami autofosforilasi dan disosiasi dari kompleks reseptor dan merekrut reseptor TNF- α yang dihubungkan dengan faktor 6, yang pada akhirnya mengaktifkan kearah muara kinase. NF- κ B yang menginduksi kinase akhirnya mengaktifasi kompleks kinase penghambat κ B yang secara langsung mengawali fosforilasi I κ B α pada translokasi nukleus dari NF- κ B dan memulai transkripsi gen. Aktivasi disregulasi dari NF- κ B oleh oksidan/antigen akan mengawali terjadinya produksi mediator proinflamasi yang berlebihan, yang akan mengakibatkan disfungsi endotel bahkan kerusakan jaringan atau kegagalan organ.⁶¹ Chung dkk memasukkan subyek penelitian dengan *overt nephropathy* (nefropati klinis), dalam hal ini pasien

sudah menunjukkan makroalbumiuria positif, yang merupakan stadium disfungsi renal yang irreversibel.³

Pada jumlah limfosit hasil penelitian ini ($r=0,130$; $p=0,565$) tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan terdapat hubungan negatif antara jumlah limfosit dengan nefropati DM. Melalui jalur leptin dan IL-6 yang diproduksi oleh jaringan adiposa pada pasien DM tipe 2, sehingga produksi dan diferensiasi limfosit meningkat.¹⁷⁻²⁰ Salah satu efek terpenting dari IL-6 adalah mengawali terbentuknya *acute-phase response*. Pada *acute-phase response* ini akan terbentuk protein yang disintesis dan disekresikan oleh hepar, protein-protein ini dikenal dengan *acute-phase proteins*. Salah satu dari *acute-phase proteins* adalah *C-reactive protein (CRP)*.²²⁻²⁵ CRP dapat mengaktifasi kaskade komplemen dengan berikatan pada C1q, yang merupakan komponen pertama dari aktivasi komplemen pada jalur klasik.¹⁷⁻²⁵ Disamping itu IL-6 ini berfungsi dalam imunitas baik *innate immunity* maupun *adaptive immunity*. Sitokin ini mempunyai berbagai fungsi, dalam *innate immunity* mampu merangsang sintesis protein fase akut oleh hepatosit, sehingga berperan dalam efek inflamasi sistemik. IL-6 juga mampu merangsang produksi netrofil dari sel progenitor yang berada di dalam sumsum tulang, biasanya bersama *Colony Stimulating Factor (CSF)*. Pada *adaptive immunity*, IL-6 merangsang pertumbuhan sel B yang berdeferensiasi dan nantinya akan memproduksi antibodi. Limfosit Th (T-helper) sangat berperan dalam regulasi dan perkembangan respons imun. Secara fungsional limfosit Th dibagi menjadi dua sub-kelas yaitu Th1 dan

Th2, pembagian ini berpengaruh terhadap sekresi sitokin yang dihasilkannya. Sitokin yang dihasilkan Th1 yaitu IFN- γ dapat menyebabkan reaksi inflamasi langsung dengan menstimulasi makrofag. Th1 dalam dosis kecil juga merangsang limfosit B untuk menghasilkan Ig G, tetapi dalam kadar yang tinggi misalnya infeksi berat akan menekan fungsi limfosit B, sehingga sering terjadi supresi produksi Ig G. Limfosit Th2 memproduksi IL-10 yang mempunyai fungsi merangsang diferensiasi limfosit T sitotoksik, mempunyai aktifitas stimulasi terhadap pertumbuhan sel mast, menghambat produksi sitokin oleh sel Th1, meningkatkan perkembangbiakan limfosit Th, mencegah timbulnya ekspresi molekul adhesi dan produksi sitokin oleh monosit dan makrofag, meningkatkan ekspresi MHC kelas II pada limfosit B, meningkatkan perkembangbiakan dan diferensiasi dari limfosit B aktif, mencegah ekspresi ICAM-1, menghambat aktifitas IL-1 β , menghambat aktifitas TNF- α .⁶¹ Disamping itu ada beberapa laporan yang mengatakan limfosit justru menurun pada penderita DM tipe 2. Mungkin hal ini disebabkan oleh hambatan leptin terhadap respons Th2 (ditandai dengan produksi IL-4 dan IL-5), disamping itu juga hambatan proliferasi Th2 yang disebabkan oleh IFN- γ .¹⁷⁻²⁰ Pada penelitian ini jumlah limfosit tidak berkorelasi dengan kadar albumin rin.

Keseimbangan antara sitokin proinflamasi (IL-1 β) dengan sitokin anti inflamasi menentukan derajat inflamasi. Apabila IL-1 β (proinflamasi) dominan, akan merangsang sel endotel meningkatkan PGE-2, PAI-1 dan ICAM-1 yang selanjutnya akan menyebabkan adhesi sel-sel leukosit,

diantaranya monosit dan netrofil. Hal ini akan menyebabkan ekskresi lisosim, sehingga terjadi kerusakan dinding sel endotel, juga mengeluarkan superoksid yang menyebabkan kerusakan gen sehingga dapat terjadi kematian sel endotel. Apabila sitokin anti inflamasi yang dominan, maka akan memicu pematangan sel B. Kemudian sel B akan berdeferensiasi menjadi sel plasma yang menghasilkan Ig G. Ig G bersama dengan sel fagosit, monosit dan makrofag, serta sel NK akan berikatan melalui reseptor Fc, sehingga akan terjadi kerusakan dinding sel endotel pembuluh darah dengan melalui proses ADCC.⁶¹

Keterbatasan penelitian ini adalah, desain yang digunakan belah lintang (*cross sectional*), sehingga tidak dapat menentukan hubungan kausal antara jumlah netrofil, limfosit & monosit dengan kadar albumin urin. Tidak dilakukan pemeriksaan faktor stres oksidatif (pemeriksaan oksidan) dan pemeriksaan terhadap sitokin-sitokin proinflamasi. Stres oksidatif dan sitokin proinflamasi merupakan jalur yang berpengaruh terhadap kerusakan sel-sel glomerulus pada pasien DM tipe 2.^{3,4,6,11-13}

Pada penelitian ini tidak didapatkan korelasi antara jumlah netrofil, limfosit & monosit darah tepi dengan kadar albumin urin, meskipun secara teori dikatakan terdapat hubungan, sehingga jumlah netrofil, monosit & limfosit darah tepi tidak dapat dipakai sebagai prediktor terjadinya nefropati diabetik pada pasien DM tipe 2. Hal ini mungkin disebabkan karena subyek penelitian rata-rata lama menderita DM tipe 2 < 8 th,¹²⁻¹³ atau parameter yang digunakan kurang sensitif, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih

lanjut dengan menggunakan parameter lain, misal sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan VEGF,^{3,4,23} melalui jalur stres oksidatif dengan parameter NO, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin,¹²⁻¹³ melalui Jalur koagulasi dengan parameter PAI-1, TF dan Elastase/Cathepsin-G.¹¹⁻¹³ Dengan hasil analisis statistik sebagai berikut $r < 0,40$ ($r=0,25$; $r=0,191$; $r=0,130$) dan $p > 0,05$ ($p=0,265$; $p=0,395$; $p=0,565$) ini berarti secara statistik tidak ada korelasi dan tidak signifikan, sehingga dari hasil penelitian ini tidak didapatkan nilai prediktif maupun diagnostik.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

1. Nilai rerata jumlah netrofil pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria masih dalam batas normal.
2. Nilai rerata jumlah monosit pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria masih dalam batas normal.
3. Nilai rerata jumlah limfosit pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria masih dalam batas normal.
4. Nilai rerata kadar albumin urin pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria masih dalam batas normal.
5. Tidak ada korelasi antara jumlah netrofil dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria.
6. Tidak ada korelasi antara jumlah limfosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria.
7. Tidak ada korelasi antara jumlah monosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan parameter sitokin proinflamasi yang paling berpengaruh dalam komplikasi mikrovaskuler pada pasien DM tipe 2, yaitu: TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan VEGF.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut melalui jalur stres oksidatif yang besar pengaruhnya dalam komplikasi mikrovaskuler pada pasien DM tipe 2 dengan parameter : NO, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut melalui jalur koagulasi dengan parameter PAI-1, TF dan Elastase/Cathepsin-G.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan subyek penelitian yang menderita DM tipe 2 > 8 th.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perkeni. Konsensus Pengelolaan Diabetes Melitus tipe 2 di Indonesia 2006. PB Perkeni. Jakarta. 2006.
2. Roesli R, Susalit E, Djafaar J. Nefropati Diabetik. Dalam: Suyono S, ed. Ilmu Penyakit Dalam Jilid II. Edisi 3. Balai Penerbit FK UI. Jakarta. 2001: 356-65.
3. Chung FM, et al. Peripheral Total and Differential Leukocyte Count in Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*. 2005; 28: 1710-7.
4. Chan, C.Juliana. White blood cell count is associated with macro- and microvascular complications in Chinese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27: 216-22.
5. Ohshita K, et al. Elevated white blood cell count in subjects with impaired glucose. *Vasc Biol* 1996; 16:499-503.
6. Danesh J, et al. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA*. 1998; 279: 1477-82.
7. Shurtz-Swirski R, et al. Involvement of peripheral polymorphonuclear leukocyte in oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2004; 27: 216-22.
8. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Pathogenesis of The Complications of Diabetes. In : Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Elsevier. Philadelphia. 2005: 1197-201.
9. Power AC. Diabetes Mellitus. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. Ed 16th. New York. Mc Graw-Hill. 2005: 2164-2165.
10. Vaur L, et al. Development of Congestive Heart Failure in Type 2 Diabetic Patients With Microalbuminuria or Proteinuria. *Diabetes Care*. 2003; 26: 855-61
11. Spoeltra-De Man, et al. Rapid Progression of Albumin Excretion Is an Independent Predictor of Cardiovascular Mortality in Patients With Type 2 Diabetes and Microalbuminuria. *Diabetes Care*. 2001; 24: 2097-101
12. Jones RE, Hutcher SE. Alterations of hormonal regulations. In: Pathophysiology: The Basic for Disease in Adults and Children. Ed 5th. Philadelphia. Elsevier. 2006: 716-718
13. Kusunoki H, et al. Relation Between Serum 3-Deoxyglucosone and Development of Diabetic Microangiopathy. *Diabetic Care*. 2003; 26: 1889-94.
14. Cavalot F, Massucco P, Perna P, Traversa M, Anfossi G, Trovati M: White blood cell count is positively correlated with albumin excretion rate in subjects with type 2 diabetes (Letter). *Diabetes Care* 2002; 25:2354-5
15. Jensen JS, Myrup B, Borch-Johnsen K, Jensen G, Jensen T, Feldt-Rasmussen B: Aspects of haemostatic function in healthy subjects with microalbuminuria: a potential atherosclerotic risk factor. *Thromb Res* 1995; 77:423-30.
16. Collier A, Rumley A, Rumley AG, Paterson JR, Leach JP, Lowe GD et al : Free radical activity and hemostatic factors in NIDDM patients with and without microalbuminuria. *Diabetes* 1992; 41:909-13.

17. Bennet BD et al. A role for leptin and its cognate receptor in hematopoiesis. *Curr Biol* 1996; 6: 1170-80.
18. Gainsford T, et al. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cell. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93: 14564-8.
19. Nakata M, et al. Leptin promote aggregation of human platelets via the long form of its receptor. *Diabetes*. 1999; 48:426-9
20. Ridker PM, et al. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule-1 and risk of future myocardial infarction in apparently healthy man. *Lancet*. 1998. 351: 88-92.
21. Vozarova B, Weyer C, Lindsay RS, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA: High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51:455–61
22. Suromo LB. C-Reaktif Protein, Petanda Inflamasi Untuk Menilai Risiko Penyakit Kardiovaskuler. Dalam: Tjahjati MI, Rahmawati B. Eds. Seminar Petanda Penyakit Kardiovaskuler Sebagai "Point of Care Test (POCT)". HKKI Cab. Semarang. 2006.
23. Ross R: Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115–26
24. Festa A, D'Agostino R, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM: Inflammation and microalbuminuria in nondiabetic and type 2 diabetic subjects: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Kidney Int* 2000; 58:1703–10
25. Gruden G, Cavallo-Perin P, Bazzan M, Stella S, Vuolo A, Pagano G: PAI-1 and factor VII activity are higher in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes Care*. 1994; 43:426–9
26. Sentochnik DE, Eliopoulos GM. Infection and Diabetes. In: Kahn CR, King JL, Moses AC, et al. Eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 14^{ed}. Lippincott William's & Wilkins. Philadelphia. 2005: 1017-20.
27. Weijenberg MP, Feskens EJ, Kromhout D: White blood cell count and the risk of tolerance. *Diabetes Care*. 2004; 27: 491-6
28. Brown DW, Giles WH, Croft JB: White blood cell count: an independent predictor of coronary heart disease mortality among a national cohort. *J Clin Epidemiol* 2001; 54:316–22
29. Noto D, Barbagallo CM, Cavera G, Cefalu AB, Caimi G, Marino G et al : Leukocyte count, diabetes mellitus and age are strong predictors of stroke in a rural population in southern Italy: an 8-year follow-up. *Atherosclerosis* 2001; 157:225–31
30. Lee CD, Folsom AR, Nieto FJ, Chambless LE, Shahar E, Wolfe DA: White blood cell count and incidence of coronary heart disease and ischemic stroke and mortality from cardiovascular disease in African- American and white men and women: Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am J Epidemiol* 2001; 154:758–64
31. Targher G, Seidell JC, Tonoli M, Muggeo M, De Sandre G, Cigolini M: The white blood cell count: its relationship to plasma insulin and other

- cardiovascular risk factors in healthy male individuals. *J Intern Med* 1996; 239:435–41
- 32 Ford ES: Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and diabetes incidence in a national sample of US adults. *Am J Epidemiol* 2002; 155:57–64
 - 33 Nakanishi N, Yoshida H, Matsuo Y, Suzuki K, Tatara K: White blood-cell count and the risk of impaired fasting glucose or type II diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetologia* 2002; 45:42–8
 - 34 Sunyer J, Munoz A, Peng Y, Margolick J, Chmiel JS, Oishi J et al : Longitudinal relation between smoking and white blood cells. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 734–41
 - 35 Kannel WB, Anderson K, Wilson PW: White blood cell count and cardiovascular disease: insights from the Framingham Study. *JAMA* 1992; 267:1253–6
 - 36 Gillum RF, Ingram DD, Makuc DM: White blood cell count, coronary heart disease, and death: the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Am Heart J* 1993; 125:855–63
 - 37 Gabazza EC, Takeya H, Deguchi H, Sumida Y, Taguchi O, Murata K et al : Protein C activation in NIDDM patients. *Diabetologia* 1996; 39:1455–61
 - 38 Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture: Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994; 90:2126–46
 - 39 Baud L, Ardaillou R: Tumor necrosis factor alpha in glomerular injury. *Kidney Int* (Suppl.) 1994; 45:S32-6
 - 40 Klein NJ, Shennan GI, Heyderman RS, Levin M: Alteration in glycosaminoglycan metabolism and surface charge on human umbilical vein endothelial cells induced by cytokines, endotoxin and neutrophils. *J Cell Sci* 1992; 102:821–32
 - 41 Vallance P, Collier J, Bhagat K: Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet* 1997; 349:1391–2
 - 42 Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M et al : Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000; 102:994–9
 - 43 Woodman RJ, Watts GF, Puddey IB, Burke V, Mori TA, Hodgson JM et al : Leukocyte count and vascular function in type 2 diabetic subjects with treated hypertension. *Atherosclerosis* 2002; 163:175–81
 - 44 Korpinen E, Groop PH, Fagerudd JA, Teppo AM, Akerblom HK, Vaarala O: Increased secretion of TGF- α by peripheral blood mononuclear cells from patients with type 1 diabetes mellitus with diabetic nephropathy. *Diabet Med* 2001;18:121–5
 - 45 Nakamura T, Miller D, Ruoslahti E, Border WA: Production of extracellular matrix by glomerular epithelial cells is regulated by transforming growth factor beta 1. *Kidney Int* 1992; 41:1213–21
 - 46 Ziyadeh FN, Sharma K, Ericksen M, Wolf G: Stimulation of collagen gene expression and protein synthesis in murine mesangial cells by high glucose is mediated by autocrine activation of transforming growth factor-beta. *J Clin Invest* 1994; 93:536–42

- 47 Hofmann MA, Schiekofers S, Isermann B, Kanitz M, Henkels M, Joswig M et al : Peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with diabetic nephropathy show increased activation of the oxidative-stress sensitive transcription factor NF- κ B. *Diabetologia* 1999; 42:222– 32
- 48 Scherberich JE. Proinflammatory blood monocytes: main effector and target cells in systemic and renal disease; background and therapeutic implications (Review). *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2003; 41: 459-64.
- 49 Shanmugam N, et al. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes*. 2003; 52: 1256-64.
- 50 Guha M, et al. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor alpha gene expression in monocytic cells via hyperglycemia-induced oxidant stress-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem*. 2000; 275: 17728-39.
- 51 Kedziora-Kornatowska KZ. Production of superoxide and nitric oxide by granulocytes in non-insulin-dependent diabetic patients with and without diabetic nephropathy. *IUBMB Life*. 1999; 48: 359-62.
- 52 Hofmann MA, et al. Insufficient glycemic control increases nuclear factor-kappa B binding activity in peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 1998; 21: 1310-16.
- 53 Chow F, et al. Macrophages in mouse type 2 diabetic nephropathy, correlation with diabetic state and progressive renal injury. *Kidney Int*. 2004; 65: 116-28.
- 54 Meisner M, Reinhart K. Diagnosis of Sepsis : The Role of Parameters of the Inflammatory Respons. *NVIC Monitor*. 2001; 5: 41-2.
- 55 Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S ed. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta. Sagung Seto. 2002 : 259-86.
- 56 Puspongoro HD, Wirya IW, Pudjadi AH, Bisanto J, Zulkarnain SZ. Uji Diagnostik. Dalam : Sastroasmoro S, Ismael S ed. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta. Sagung Seto. 2002 : 166-85.
- 57 Anonymous. *CellDyn 3700 Instruction Manual*.
- 58 Lewis SM. Reference ranges and normal values. In: *Dacie and Lewis Practical Haematology 9^{ed}*. Churchill Livingstone. London. 2001: 9-16.
- 59 Anonymous. *NycoCard^R U-ALBUMIN* Pocket insert. AXIS-SHIELD. Osslo. 2002.
- 60 Radwan DA, Al-Tahhan MA, Hussein AG, Said H and Kadry YA. Adiponectin and Some Inflammatory and Endothelial Marker in Type-2 Diabetes with and without Cardiovascular Diseases. *The Egyptian Journal of Immunology*. 2005; 12 (1): 133-42.
- 61 Guntur A. Perkembangan Immunopathobiogenesis pada SIRS dan Sepsis. Dalam: *SIRS & SEPSIS, imunologi, diagnosis, penatalaksanaan*. Surakarta. Sebelas Maret University Press. 2006: 41-2.

LAMPIRAN 2 : PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN
(INFORMED CONSENT)

JUDUL PENELITIAN : **Korelasi jumlah netrofil, limfosit dan monosit dengan kadar albumin urin pada pasien DM 2 dengan mikroalbuminuri.**

INSTANSI PELAKSANA : Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Universitas Diponegoro Semarang

Persetujuan Setelah Penjelasan
(INFORMED CONSENT)

Berikut ini naskah yang akan dibacakan pada Responden Penelitian :

Bapak/Ibu Yth : Kami akan melakukan pemeriksaan terhadap bapak/ibu berupa wawancara, pemeriksaan fisik (tensi, berat badan, tinggi badan, lingkaran pinggang, lingkaran panggul) dan pemeriksaan rutin sebagaimana bapak/ibu periksa rutin di RS. Dr. Kariadi ditambah jenis pemeriksaan terhadap darah dan urin bapak/ibu untuk penelitian tentang penyakit bapak/ibu (diabetes).

Keuntungan yang akan didapat bapak/ibu dari pemeriksaan ini, bapak/ibu tidak dipungut biaya (gratis) untuk pemeriksaan penelitian ini karena ditanggung peneliti. Bapak/ibu boleh mengetahui hasilnya jika mau. Selama penelitian ini bapak/ibu gratis berkonsultasi mengenai penyakitnya (diabetes). Dapat diketahui kondisi penyakit bapak/ibu saat ini.

Selanjutnya, untuk jangka panjang bila hasil penelitian ini terbukti, sangat bermanfaat untuk mengetahui perkembangan penyakit diabetes bapak/ibu. Jika ada komplikasi dapat diketahui secara dini, sehingga dapat dicegah atau minimal diperlambat perkembangannya.

Ada pertanyaan bapak/ibu ?

Terima kasih atas kerjasama bapak/ibu/saudara.

Setelah mendengar dan memahami penjelasan Penelitian, dengan ini saya menyatakan :

SETUJU / TIDAK SETUJU

Untuk ikut sebagai responden / sampel penelitian.

Semarang,.....2007

Saksi :

Nama :

Alamat :

TT :

Nama terang :

Alamat :

TT :

LAMPIRAN 3 : KUESIONER

Identitas Pasien :

Nama :

Alamat Rt :

Rw :

Dusun :

Kalurahan :

Kecamatan :

Kab/Kota :

No. Penelitian :

I. Karakteristik Responden

1. Usia : tahun
2. Agama : Islam/ Katolik/ Kristen/ Hindu/ Budha
3. Suku : Jawa/ non Jawa ()
4. Urban/Rural : Urban / Rural
5. Jenis Kelamin : Pria / Wanita
6. Pendidikan : Tidak sekolah/ SD/ SMP/ SMA/ Universitas
7. Status Perkawinan : Kawin/ belum kawin/ tidak kawin
8. Pekerjaan : PNS/ non PNS (buruh/ pedagang/ petani/ lainnya)

II. Panel Diabetes Melitus

1. Apakah mengidap DM : Ya / tidak / tidak tahu
2. Sudah berapa lama menderita DM : tahun/ bulan
3. Apakah kontrol teratur : Ya / tidak
4. Apakah ada keluarga DM : Ya / tidak
5. Obat yang digunakan : SU / Glinid / Metf / Acarbose / TZD / Insulin
6. Minum obat teratur : Ya / tidak
7. Gula darah puasa & 2 jam PP terakhir :
8. Kadar A1C terakhir :

III. Panel Hipertensi

Apakah menderita tekanan darah tinggi : Ya / tidak

IV. Panel lipid

Apakah menderita dislipidemia : Ya / tidak

V. Lain-lain

1. Apakah ada infeksi saluran kencing : Ya / tidak
2. Apakah ada riwayat urolithiasis : Ya / tidak
3. Apakah ada riwayat penyakit hati kronis : Ya / tidak
4. Apakah ada riwayat penyakit jantung : Ya / tidak
5. Apakah ada penyakit paru kronik : Ya / tidak
6. Apakah ada penyakit telinga/ hidung/ tenggorokan kronis : Ya / tidak
7. Apakah ada sakit gigi : Ya / tidak
8. Apakah ada infeksi pinggul : Ya / tidak
9. Apakah ada penyakit ginjal : Ya / tidak

VI. Pemeriksaan Fisik

Berat Badan : Kg
Tinggi Badan : Cm BMI : Kg/m²
Lingkar Pinggang : Cm
Lingkar Panggul : Cm WHR :
Tekanan Darah : 1. mmHg. 2. mmHg. 3. mmHg
TD rata-rata : mmHg

VII. Pemeriksaan Laboratorium

GD Puasa : mg/dl
GD 2 jam PP : mg/dl

CRP : + / -

Kolesterol total :
Trigliserida :
HDL-Kolesterol :
LDL-Kolesterol :

Albumin :

Trombin Time :
PPT :
PTTK :

Kadar Albumin Urin :

Urin Paket :

Sedimen :

Hematologi Analiser :

Lain-lain :

1. Trombosit Klumping : + / -
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

LAMPIRAN 4 : PROSEDUR PEMERIKSAAN LABORATORIUM

5. Pemeriksaan jumlah Netrofil, Limfosit, Monosit.
Sampling darah vena :
Darah vena diambil dari daerah vena mediana cubiti dengan spuit sebanyak 5 cc. Sebelumnya daerah tersebut didisinfeksi dengan alkohol 70%. Darah dimasukkan dalam tabung berisi EDTA dengan cara dilepas jarumnya dan dialirkan pelan-pelan sebanyak 2 cc. Setelah itu tabung dipilin untuk mencampur EDTA dengan darah. Sisa darah dimasukkan dalam tabung tanpa antikoagulan untuk pemeriksaan kimia klinik dan imunologi.
Pemeriksaan jumlah Netrofil, Limfosit, Monosit :
Tabung berisi darah EDTA ditempatkan sesuai tempatnya pada alat *hematology analyser Cell-Dyn^R 3700*, sehingga darah akan diaspirasi oleh probe dan masuk dalam *sample rotor valve*. Larutan pengencer (*diluent*) juga mengalir dalam *sample rotor valve*, sehingga keduanya tercampur. Sampel yang telah diencerkan tersebut menuju ke *mixing chamber*. Proses ini adalah pengenceran pertama. Dari *mixing chamber*, sampel akan masuk kembali ke *sample rotor valve* dan bercampur kembali dengan larutan pengencer (pengenceran kedua). Sampel diaspirasi melalui *apertura* ke dalam *transducer chamber*. Leukosit akan dihitung jumlahnya berdasarkan jenisnya dengan metode DC (*Discrimination Circuit*) dan ditampilkan dalam kertas *print out*.
6. Pemeriksaan kadar albumin urin.
Sampling urin :
Sampel urin random pagi hari yang pertama kali tanpa *pre-treatment* dapat digunakan.
Pemeriksaan kadar albumin urin :
 1. Sampel urin sejumlah 50 µL atau kontrol ditambahkan ke *test tube* dengan R1/ *dilution liquid*. Dicampur dengan baik.
Catatan: R1/ *dilution liquid* harus dalam temperatur kamar ketika digunakan (15-25⁰C).
 2. Dimasukkan 50 µL *diluted urin* atau *diluted control* ke dalam *Test Device*. Ditunggu sampai *diluted urin* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih).
Catatan : Dihindari gelembung udara.
 3. Ditambahkan 50 µL R2/ *Conjugate* ke dalam *Test Device*. Ditunggu sampai *conjugate* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih). Catatan : Dihindari gelembung udara.
 4. Ditambahkan 50 µL R3/ *washing solution* ke dalam *Test Device*. Ditunggu sampai *washing solution* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih). Catatan : Dihindari gelembung udara.
 5. Dibaca hasilnya dalam waktu 5 menit dengan menggunakan *NycoCard^R READER II*. Mengikuti petunjuk yang diberikan dalam instruksi manual *NycoCard^R READER II*.

LAMPIRAN 5 : HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM & ANALISIS DATA

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Albuminuria	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%
Netrofil	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%
Monosit	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%
Limfosit	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%

a Limited to first 100 cases.

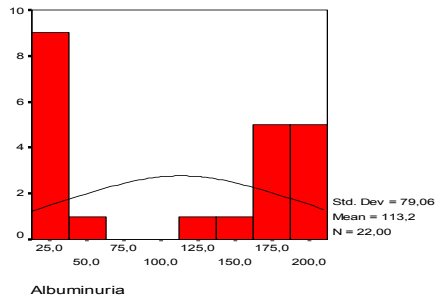
Case Summaries(a)

	Albuminuria(mg/L)	Netrofil (/ μ L)	Monosit (/ μ L)	Limfosit (/ μ L)
1	22	5570,0	852,00	3630,0
2	35	3840,0	615,00	2380,0
3	131	6500,0	621,00	2840,0
4	200	2690,0	356,00	2530,0
5	28	6180,0	518,00	1730,0
6	32	4130,0	389,00	1820,0
7	200	3550,0	372,00	2361,0
8	195	5920,0	550,00	2530,0
9	200	4210,0	420,00	2640,0
10	45	5061,0	816,00	3950,0
11	25	4610,0	478,00	1880,0
12	185	4810,0	788,00	1310,0
13	31	3280,0	438,00	2140,0
14	25	2330,0	321,00	1900,0
15	157	4261,0	463,00	2910,0
16	25	6210,0	852,00	1520,0
17	185	4040,0	518,00	3120,0
18	180	2320,0	499,00	1220,0
19	176	3010,0	376,00	2580,0
20	200	3250,0	499,00	1750,0
21	35	4020,0	407,00	1690,0
22	179	8610,0	872,00	5180,0
Total N	22	22	22	22

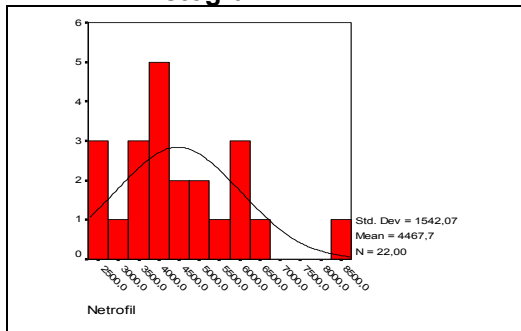
a Limited to first 100 cases.

Descriptive Statistics

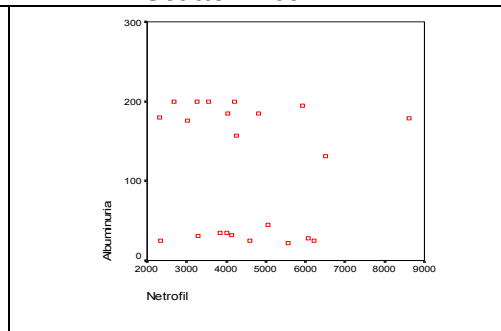
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Netrofil	22	2320,0	8610,0	4467,727	1542,0732
Monosit	22	321,00	872,00	545,9091	178,49154
Limfosit	22	1220,0	5180,0	2436,818	935,2025
Albuminuria	22	22	200	113,23	79,059
Valid N (listwise)	22				



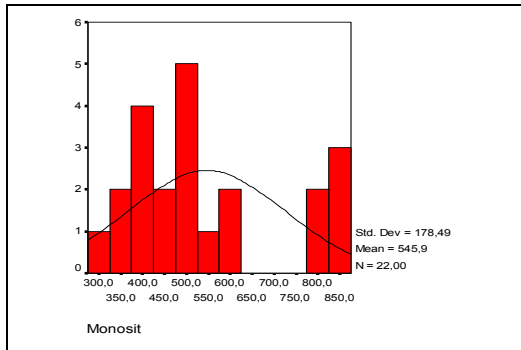
Histogram



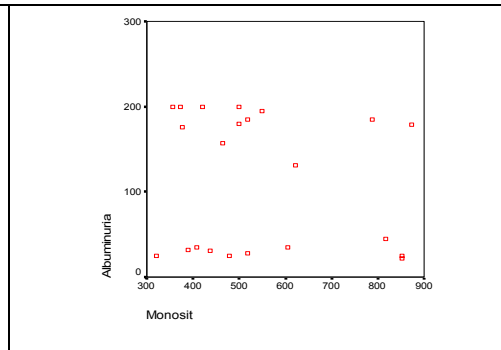
Scatter Plot



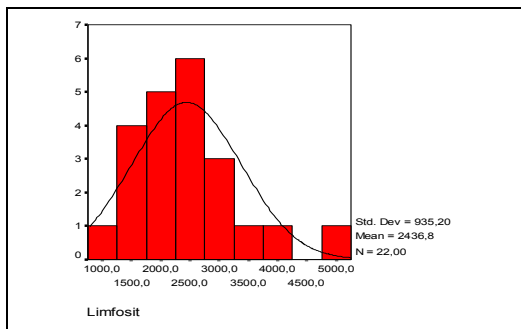
Histogram



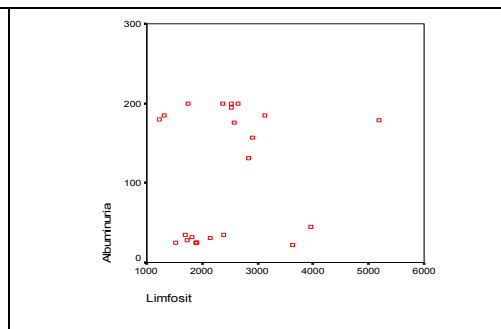
Scatter Plot



Histogram



Scatter Plot



Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Albuminuria	,261	22	,000	,755	22	,000
%Netrofil	,225	22	,005	,917	22	,065
%Monosit	,255	22	,001	,791	22	,000
%Limfosit	,129	22	,200(*)	,947	22	,279

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Correlations

			Albuminuria	Netrofil	Monosit	Limfosit
Spearman's rho	Albuminuria	Correlation Coefficient	1,000	-,250	-,191	,130
		Sig. (2-tailed)	.	,263	,395	,565
		N	22	22	22	22
	Netrofil	Correlation Coefficient	-,250	1,000	,752(**)	,293
		Sig. (2-tailed)	,263	.	,000	,186
		N	22	22	22	22
	Monosit	Correlation Coefficient	-,191	,752(**)	1,000	,216
		Sig. (2-tailed)	,395	,000	.	,334
		N	22	22	22	22
	Limfosit	Correlation Coefficient	,130	,293	,216	1,000
		Sig. (2-tailed)	,565	,186	,334	.
		N	22	22	22	22

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		Albuminuria	Netrofil	Monosit	Limfosit
Albuminuria	Pearson Correlation	1	-,090	-,144	,151
	Sig. (2-tailed)	.	,690	,521	,503
	N	22	22	22	22
Netrofil	Pearson Correlation	-,090	1	,730(**)	,532(*)
	Sig. (2-tailed)	,690	.	,000	,011
	N	22	22	22	22
Monosit	Pearson Correlation	-,144	,730(**)	1	,436(*)
	Sig. (2-tailed)	,521	,000	.	,042
	N	22	22	22	22
Limfosit	Pearson Correlation	,151	,532(*)	,436(*)	1
	Sig. (2-tailed)	,503	,011	,042	.
	N	22	22	22	22

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).