

# Korelasi Jumlah Netrofil, Limfosit, dan Monosit dengan Kadar Albumin Urin pada Pasien DM Tipe 2 dengan Mikroalbuminuria

Edy Purwanto

Email: edypfkums@yahoo.co.id

## Abstract

The most common complication of diabetes is diabetic nephropathy which is a progressive disease and in the terminal stages, needs a very large cost of care. Nephropathy diabetic can be prevented if it is 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 has not been widely done in laboratories. What ever it needs other alternatives, such as neutrophils, lymphocyte, and monocyte counts. The purpose of this study is to analyse the correlations between neutrophils, lymphocyte, monocyte counts and urine albumin levels in type2 diabetes with microalbuminuria. The research design is analytic observational with cross sectional approach. Twenty two patients met the inclusion criteria. Their 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. 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. 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.

## Pendahuluan

Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insiden dan prevalensi DM tipe 2 di berbagai penjuru dunia. WHO memprediksi adanya peningkatan jumlah diabetis yang cukup besar untuk tahun-tahun mendatang. WHO memprediksi kenaikan jumlah pasien dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta pada tahun 2030.

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Indonesia (2003) diperkirakan penduduk Indonesia yang berusia diatas 20 tahun sebesar 133 juta jiwa. Dengan prevalensi DM tipe 2 pada daerah urban sebesar 14,7 % dan daerah rural sebesar 7,2 %, maka diperkirakan pada tahun 2030 terdapat diabetis 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 4,7 % dan daerah rural 7,2 % maka diperkirakan terdapat 12 juta diabetis di daerah urban dan 8,1 juta di daerah rural (Perkeni, 2006).

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. Pada 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. Mengingat mahalnya 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 (Roesli R, Susalit E, Djafaar J, 2001).

Diagnosis stadium klinis nefropati diabetik secara klasik adalah dengan ditemukannya proteinuria > 0,5 gram/hari. Mikroalbuminuria diakui sebagai petanda prediksi berkembangnya nefropati diabetik. Urin yang dipakai dalam pemeriksaan albumin untuk menegakkan

diagnosis harus nonketotik, sebaiknya urin pertama pagi hari. Konsensus ini diajukan oleh The American Diabetes Association, 1989 dan sampai saat ini masih dianut oleh Ad Hoc Committee of The Council on Diabetes Mellitus of the National Kidney Foundation 1995 (Roesli R, Susalit E, Djafaar J, 2001). 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, tetapi Chung dkk belum melakukan pemeriksaan terhadap petanda inflamasi (CRP) (Chung FM, et al., 2005). 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 polimorfonuklear (PMN), dan mononuklear. Leukosit polimorfonuklear dan mononuklear dapat teraktivasi oleh *advanced glycation end products*, *oxidative stress*, angiotensin II, dan sitokin dalam kondisi hiperglikemia. Leukosit teraktivasi mengeluarkan berbagai sitokin diantaranya TNF- $\alpha$ , TGF- $\alpha$ 1, superoxide, NF- $\alpha$ B, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), IL-1 $\alpha$ , dan lainnya yang berpengaruh terhadap patogenesis komplikasi mikro- dan makroangiopati (Chung FM, et al., 2005; Chan, C & Juliana, 2004). Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan adanya peningkatan jumlah leukosit pada pasien DM tipe 2 dengan albuminuria, peningkatan jumlah leukosit pada pasien dengan nefropati diabetik (Ohshita K, et al., 1996; Danesh J, et al., 1998; Shurtz-Swirzki R, et al., 2004). Penelitian-penelitian ini belum memperhitungkan faktor inflamasi dan infeksi yang juga dapat meningkatkan jumlah leukosit, yang dapat diketahui dengan pemeriksaan CRP (Chung FM, et al., 2005; Ohshita L, et al., 1996; Shurtz-swirski R, et al., 2004; Kumar V, et al., 2006; Power AC, 2005).

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), sehingga diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat dalam penegakan diagnosis dini DM dengan alat-alat yang sederhana.

## Material dan Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah analitik observasional dengan pendekatan belah lintang. 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. Populasi penelitian ini adalah pasien DM tipe 2 di rawat jalan dan memeriksakan diri di laboratorium Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang dengan kriteria sebagai berikut:

1. Pemeriksaan kadar CRP kualitatif: negatif.
2. Pemeriksaan *hematology analyzer* jumlah lekosit antara 7.000-10.000/ml.
3. Pemeriksaan *hematology analyzer* tidak di d a p a t k a n *f l a g g i n g* (tanda/pemberitahuan dari alat) atau limfosit varian.
4. Pemeriksaan albumin urin dengan dipstik: negatif.
5. Pemeriksaan glukosa puasa atau 2 jam PP < 200 mg/dl.
6. Pemeriksaan urinalisis dalam batas normal
7. Tekanan darah sistolik: antara 100-161 mmHg; diastolik antara 70-90 mmHg.
8. Suhu badan 36-37,2 °C.
9. Lama menderita DM lebih dari 5 tahun.
10. Anamnesis tidak terdapat penyakit ginjal.

Pengambilan sampel dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH, 2002; Pusponegoro HD, Wirya IW, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnain SZ, 2002):

$$n = \frac{(Z \quad P_0 Q_0) + (Z \quad P_1 Q_1)}{(P_1 - P_0)}$$

$$P_0 = \text{Proporsi DM} = 0,4$$

$$Q_0 = 1 - 0,4 = 0,6$$

$$P_1 = \text{Clinical judgement} = 0,625$$

$$Q_1 = 1 - 0,625 = 0,375$$

$$Z = 1,96 \quad (=0,05)$$

$$Z = 1 - \quad (=20\%) = 0,842$$

$$n = \frac{(1,96 \quad 0,04 \times 0,61) + (0,842 \quad 0,625 \times 0,38)}{(0,625 - 0,40)}$$

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

Menurut perhitungan, jumlah sampel penelitian kami minimal 22 responden.

#### Definisi Operasional:

Jumlah leukosit adalah: jumlah jenis leukosit yang dihitung dengan alat Cell-DynR 3700 dengan tidak mengikutkan *flagging*.

Nilai rujukan sebagai berikut (Anonymous, Lewis SM, 2001):

Jumlah leukosit	: $7 \pm 3.000$ /ml
Netrofil	: 2.000 - 7.000 /ml (40 - 80%)
Limfosit	: 1.000 - 3.000 /ml (20 - 40%)
Basofil	: 20 - 100 /ml (<1 - 2%)
Eosinofil	: 20 - 500 /ml (1 - 6%)
Monosit	: 200 - 1.000 /ml (2 - 10%)

Kadar albumin urin adalah: kadar albumin urin dari urin sewaktu pagi hari yang diperiksa dengan reagen NycoCardRU-ALBUMIN didapatkan kadar albumin urin antara 20 - 200 mg/l (mikroalbuminuria) dengan volume urin normal (Anonymous, 2002).

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 (Lewis SM, 2001): tabung berisi darah EDTA ditempatkan sesuai tempatnya pada alat *hematology analyzer* Cell-DynR 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 aperture ke dalam *transducer chamber*. Leukosit akan dihitung jumlahnya berdasarkan jenisnya dengan metode DC (*Discrimination Circuit*) dan ditampilkan dalam kertas *print out*.

Sampling urin : sampel urin acak pagi hari yang pertama kali tanpa *pre-treatment* dapat digunakan.

Pemeriksaan kadar albumin urin (Anonymous, 2002):

1. Sampel urin sejumlah 50 ml atau kontrol

ditambahkan ke test tube dengan R1/ *dilution liquid*. Dicampur dengan baik.

2. Dimasukkan 50 ml *diluted urin* atau *diluted control* ke dalam *test device*. Ditunggu sampai *diluted urin* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih).
3. Ditambahkan 50 ml R2/ *Conjugate* ke dalam *test device*. Ditunggu sampai *conjugate* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih). Catatan : Gelembung udara dihindari.
4. Ditambahkan 50 ml R3/ *washing solution* ke dalam *test device*. Ditunggu sampai *washing solution* meresap ke dalam membran dengan sempurna (50 detik lebih). Catatan : gelembung udara dihindari.
5. Dibaca hasilnya dalam waktu 5 menit dengan menggunakan NycoCard READER II. Mengikuti petunjuk yang diberikan dalam instruksi manual NycoCard RREADER II.

#### 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.

#### Hasil Penelitian

Sejumlah 22 pasien DM tipe 2 pada penelitian dengan rancangan potong lintang ini, 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 tipe 2 (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

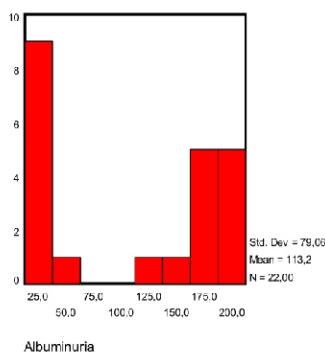
Dari tabel 1 dapat dilihat : umur subyek penelitian rata-rata cukup lanjut (57,3 th), lama menderita DM lebih 5 th, tekanan darah dalam batas normal, gula darah puasa/ 2 jam PP < 200mg/dl.

**Tabel 2 : Deskripsi jumlah netrofil, limfosit dan monosit**

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

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

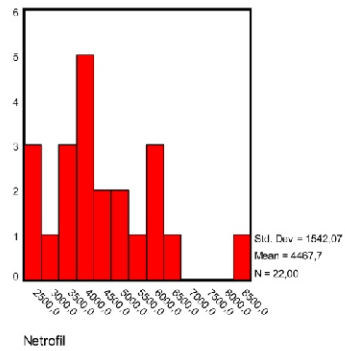
### Uji normalitas data albuminuria



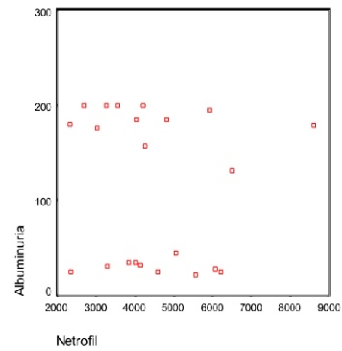
Gambar 1 : Histogram albuminuria

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

### Jumlah netrofil



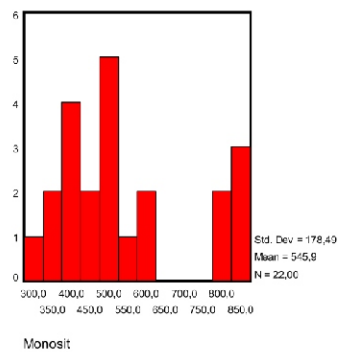
Gambar 2 : Histogram netrofil



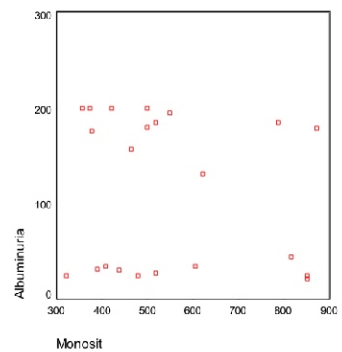
Gambar : Scatter plot netrofil

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

### Jumlah monosit



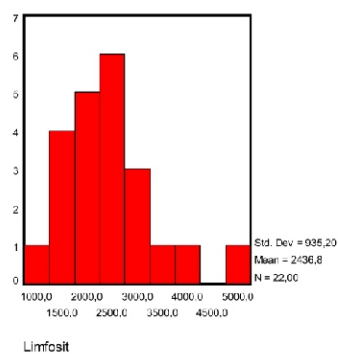
Gambar 3 : Histogram monosit



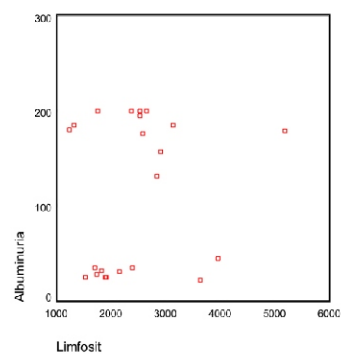
Gambar : Scatter plot monosit

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.

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

Inflamasi kronik telah diakui berperan penting dalam patogenesis diabetes tipe 2. Penelitian prospektif terakhir menunjukkan hubungan antara berbagai petanda inflamasi khususnya *C-reactive protein* (CRP), dan interleukin (IL)-6 dengan berkembangnya risiko diabetes tipe 2 (Radwan DA, Al-Tahhan MA, Hussein AG, Saidn H, Kadry YA, 2005). Respon 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 di antaranya sel mast, fibroblas jaringan ikat, makrofag dan limfosit. Reaksi vaskuler dan seluler dimediasi oleh berbagai faktor kimia yang merupakan protein plasma atau berbagai sel teraktivasi oleh inflamasi dan produknya. Berbagai mediator aktif secara tunggal, bersama-sama atau sebagian memicu terjadinya reaksi inflamasi.

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah netrofil, jumlah limfosit & jumlah monosit darah tepi tidak berkorelasi 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 *hematology analyzer* jumlah leukosit antara 4.000 - 10.000/ml, tidak didapatkan *flagging* (tanda/pemberitahuan dari alat) atau limfosit varian, pemeriksaan albumin urin dengan dipstick: negatif, pemeriksaan glukosa puasa atau 2 jam PP  $< 200\text{mg/dl}$ , pemeriksaan urinalisis dalam batas normal, tekanan darah sistolik: antara 100-161mmHg; diastolik antara 70-85mmHg, suhu badan 36-37,2  $^{\circ}\text{C}$ , 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*) UACR  $> 300\text{mg/g}$  atau makroalbuminuria, berarti faktor inflamasi sangat berpengaruh. Penelitian Chung dkk belum mengendalikan faktor inflamasi, misal dengan pemeriksaan CRP (Chung FM, et al, 2005)

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. Limfosit teraktivasi 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 (Sunyer J, Munoz A, Peng Y, Margolick J, Chmiel JS, Oishi J, et al, 1996; Kannel WB, Anderson K, Wilson PW, 1992; Gillum RF, Ingram DD, Makuc DM, 1993; Gabazza EC, Takeya H, Deguchi H, Sunida Y, Taguchi O, Murata K et al, 1996; Fuster V, Lewis A, 1994).

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 progresivitas kerusakan ginjal, serta penyebab terbesar gagal ginjal terminal (Ross R, 1999). Makrofag yang teraktifasi akan memproduksi IL-1 $\alpha$ , selain itu IL-1 $\alpha$  juga diproduksi oleh sel endotel yang teraktifasi. IL-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  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 *intercellulare adhesions molecule-1* (ICAM-1). Hal ini mungkin menerangkan penambahan endothelial adherens pada sirkulasi sel mononuklear disebabkan oleh IL-1 $\alpha$ . Selain itu makrofag yang teraktifasi akan mensekresikan tidak hanya IL-1 $\alpha$  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 untuk memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi yaitu: IL-1, TNF- $\alpha$ , 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 sumbatan pada pembuluh darah (Jones RE, 2006). Monosit pada penderita DM tipe 2 dengan nefropati bermigrasi ke jaringan (makrofag) (Ross R, 1999). Guntur, melaporkan *Toll Like Receptor 4* (TLR4) menunjukkan aktivasi NF- $\kappa$ B dan menginduksi sejumlah sitokin proinflamasi. Ikatan antara TLR dengan oksidan/antigen mengawali aktivasi jalur

sinyal transduksi intraseluler yang multipel. *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- $\alpha$  yang dihubungkan dengan faktor 6, yang pada akhirnya mengaktifkan kearah muara kinase. Aktivasi disregulasi oleh oksidan/antigen akan mengawali terjadinya produksi mediator proinflamasi yang berlebihan, yang akan mengakibatkan disfungsi endotel bahkan kerusakan jaringan atau kegagalan organ (Guntur A, 2006). Chung dkk memasukkan subyek penelitian dengan *overt nephropathy* (nefropati klinis), dalam hal ini pasien sudah menunjukkan makroalbuminuria positif, yang merupakan stadium disfungsi renal yang irreversibel (Chung FM, et al., 2005).

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 (Bennet BD, et al., 1996; Gainsford T, et al., 1996; Nakata M, et al., 1999; Ridker PM, et al., 1998). 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) (Suromo LB, 2006; Ross R, 1999; Festa A, D'Agostino R, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM, 2000; Gruden G, Cavallo-Perin P, Bazzan M, Stella S, Vuolo A, Pagano

G, 1994). CRP dapat mengaktivasi kaskade komplemen dengan berikatan pada C1q, yang merupakan komponen pertama dari aktivasi komplemen pada jalur klasik. 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- $\alpha$  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 aktivitas 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 aktivitas IL-1 $\alpha$ , menghambat aktifitas TNF- $\alpha$  (Guntur A, 2006). 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- $\alpha$  (Bennet BD, et al., 1996; Gainsford T, et al., 1996; Nakata M, et al., 1999; Ridker PM, et al., 1998). Pada penelitian ini jumlah limfosit tidak berkorelasi dengan kadar albumin urin.

Keseimbangan antara sitokin proinflamasi (IL-1 $\alpha$ ) dengan sitokin anti inflamasi menentukan

derajat inflamasi. Apabila IL-1 $\alpha$  (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 (Guntur A, 2006).

Keterbatasan penelitian ini adalah, desain yang digunakan belah lintang 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 (Chung FM, et al., 2005; Chan, C. Juliana, 2004; Danesh J, et al., 1998; Spoeltra-De Man, et al., 2001; Jones RE, Hutcher SE, 2006; Kusunoki H, et al., 2006)

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 (Jones RE, Hutcher SE, 2006; Kusunoki H, et al, 2006), atau parameter yang digunakan kurang sensitif, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan parameter lain, misal sitokin proinflamasi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6 dan VEGF (Chung FM, et al., 2005; Chan, C. Juliana, 2004; Ross R, 1999), melalui jalur stres oksidatif dengan parameter NO, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin (Jones RE, Hutcher SE, 2006; Kusunoki H, et al., 2006), melalui jalur koagulasi dengan parameter PAI-1, TF dan *Elastase/Cathepsin-G* (Spoeltra-De Man, et al., 2001; Jones RE, Hutcher SE, 2006; Kusunoki H, et al., 2006).



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.

## Simpulan dan Saran

### 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

### 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- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , 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

- Anonymous. CellDyn 3700 Instruction Manual
- Anonymous. 2002. *NycoCard<sup>R</sup> U-ALBUMIN Pocket insert*. Osslo: AXIS-SHIELD
- Bennet, B.D., et al. 1996. A role for leptin and its cognate receptor in hematopoiesis. *Curr Biol* 6: 1170-80
- Brown, D.W., Giles, W.H., Croft, J.B. 2001. White blood cell count: an independent predictor of coronary heart disease mortality among a national cohort. *J Clin Epidemiol* 54: 31622
- Chan, C. Juliana. 2004. White blood cell count is associated with macro- and microvascular complications in Chinese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27: 216-22
- Chung, F.M., et al. 2005. Peripheral Total and Differential Leukocyte Count in Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 28: 1710-7
- Danesh, J., et al. 1998. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 279: 1477-82
- Festa, A., D'Agostino, R., Howard, G., Mykkanen, L., Tracy, R.P., Haffner, S.M. 2000. Inflammation and microalbuminuria in nondiabetic and type 2 diabetic subjects: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Kidney Int* 58: 170310
- Fuster, V., Lewis, A. 1994. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 90: 212646
- Gabazza, E.C., Takeya, H., Deguchi, H., Sumida, Y., Taguchi, O., Murata, K. et al. 1996. Protein C activation in NIDDM patients. *Diabetologia* 39: 145561
- Gainsford, T., et al. 1996. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cell. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 14564-8
- Gillum, R.F., Ingram, D.D., Makuc, D.M. 1993. White blood cell count, coronary heart disease, and death: the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Am Heart J* 125: 85563
- Gruden, G., Cavallo-Perin, P., Bazzan, M., Stella, S., Vuolo, A., Pagano, G. 1994. PAI-1 and factor VII activity are higher in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 43: 4269
- Guha, M., et al. 2000. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor alpha gene expression in monocytic cells via hyperglycemia-induced oxidant stress-dependent and independent pathways. *J Biol Chem* 275: 17728-39
- Guntur, A. 2006. *Perkembangan Immunopathobiogenesis pada SIRS dan Sepsis*. *SIRS & SEPSIS, Immunologi, Diagnosis,*

Penatalaksanaan. Surakarta: Sebelas Maret University Press

Hingorani, A.D., Cross, J., Kharbanda, R.K., Mullen, M.J., Bhagat, K., Taylor, M. et al. 2000. Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 102:9949

Hofmann, M.A., et al. 1998. Insufficient glycemic control increases nuclear factor-kappa B binding activity in peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 21: 1310-16

Hofmann, M.A., Schiekofer, S., Isermann, B., Kanitz, M., Henkels, M., Joswig, M. et al. 1999. Peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with diabetic nephropathy show increased activation of the oxidative-stress sensitive transcription factor NF- $\kappa$ B. *Diabetologia* 42:222-32

Jensen, J.S., Myrup, B., Borch-Johnsen, K., Jensen, G., Jensen, T., Feldt-Rasmussen, B. 1995. Aspects of haemostatic function in healthy subjects with microalbuminuria: a potential atherosclerotic risk factor. *Thromb Res* 77:423-30

Jones, R.E., Hutcher, S.E. 2006. Alterations of hormonal regulations. *Pathophysiology: The Basic for Disease in Adults and Children*. Ed 5th. Philadelphia :716-718

Kannel, W.B., Anderson, K., Wilson, P.W. 1992. White blood cell count and cardiovascular disease: insights from the Framingham Study. *JAMA* 267:125-36

Kedziora-Kornatowska, K.Z. 1999. Production of superoxide and nitric oxide by granulocytes in non-insulin-dependent diabetic patients with and without diabetic nephropathy. *IUBMB Life* 48:359-62

Klein, N.J., Shennan, G.I., Heyderman, R.S., Levin, M. 1992. Alteration in glycosaminoglycan metabolism and surface charge on human umbilical vein endothelial cells induced by cytokines, endotoxin and neutrophils. *J Cell Sci* 102: 821-32

Korpinen, E., Groop, P.H., Fagerudd, J.A., Teppo, A.M., Akerblom, H.K., Vaarala, O. 2001. Increased secretion of TGF- $\beta$ 1 by peripheral blood mononuclear cells from patients with type 1 diabetes mellitus with diabetic nephropathy. *Diabet Med* 18: 1215

Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. 2005. Pathogenesis of The Complications of Diabetes. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: Elsevier: 1197-201

Kusunoki, H., et al. 2003. Relation Between Serum 3-Deoxyglucosone and Development of Diabetic Microangiopathy. *Diabetic Care* 26: 1889-94

Lee, C.D., Folsom, A.R., Nieto, F.J., Chambless, LE, Shahar, E, Wolfe, DA. 2001. 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* 154:758-64

Lewis, S.M. 2001. Reference ranges and normal values. *Dacie and Lewis Practical Haematology* 9ed. London: Churchill Livingstone:9-16

Madiyono, B., Moeslichan, S., Sastroasmoro, S., Budiman, I., Purwanto, S.H. 2002. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: Sagung Seto: 259-86

Meisner, M., Reinhart, K. 2001. Diagnosis of Sepsis : The Role of Parameters of the Inflammatory Respons. *NVIC Monitor* 5:41-2

Nakamura, T., Miller D., Ruoslahti E., Border W.A. 1992. Production of extracellular matrix by glomerular epithelial cells is regulated by transforming growth factor beta 1. *Kidney Int* 41:121-321

Nakanishi, N., Yoshida, H., Matsuo, Y., Suzuki, K., Tataru, K. 2002. White blood-cell count and the risk of impaired fasting glucose or type II diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetologia* 45:428

Nakata, M., et al. 1999. Leptin promote aggregation of human platelets via the long form of its receptor. *Diabetes* 48:426-9

Noto, D., Barbagallo, C.M., Cavera, G., Cefalu, A.B., Caimi, G., Marino, G. et al. 2001. Leukocyte count, diabetes mellitus and age are strong predictors of stroke in a rural population in southern Italy: an 8-year follow-up. *Atherosclerosis* 157:225-31

Ohshita, K., et al. 1996. Elevated white blood cell count in subjects with impaired glucose. *Vasc Biol* 16:499-503

Perkeni. 2006. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PB Perkeni

Power, A.C. 2005. Diabetes Mellitus. *Harrison's Principles of Internal Medicine Ed 16th*. New York: Mc Graw-Hill: 2164-2165

Pusponegoro, H.D., Wirya, I.W., Pudjiadi, A.H., Bisanto, J., Zulkarnain, S.Z. 2002. *Uji Diagnostik, Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: Sagung Seto: 166-85

Radwan, D.A., Al-Tahhan, M.A., Hussein, A.G., Said, H., Kadry, Y.A. 2005. Adiponectin and Some Inflammatory and Endothelial Marker in Type-2 Diabetes with and without Cardiovascular Diseases. *The Egyptian Journal of Immunology* 12 (1): 133-42

Ridker, P.M., et al. 1998. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule-1 and risk of future myocardial infarction in apparently healthy man. *Lancet* 351:88-92

Roesli, R., Susalit, E., Djafaar, J. 2001. Nefropati Diabetik. *Suyono S, ed. Ilmu Penyakit Dalam Jilid II. Edisi 3*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI: 356-65

- Ross, R. 1999. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340:11526
- Scherberich, J.E. 2003. Proinflammatory blood monocytes: main effector and target cells in systemic and renal disease; background and therapeutic implications (Review). *Int J Clin Pharmacol Ther* 41:459-64
- Sentochnik, D.E., Eliopoulos, G.M. 2005. Infection and Diabetes. *Joslin's Diabetes Mellitus. 14ed . Philadelphia: Lippincott William's & Wilkins: 1017-20*
- Shanmugam, N., et al. 2003. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes* 52: 1256-64
- Shurtz-Swirski, R., et al. 2004. Involvement of peripheral polymorphonuclear leukocyte in oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 27:216-22
- Spoeltra-De Man., et al. 2001. Rapid Progression of Albumin Excretion Is an Independent Predictor of Cardiovascular Mortality in Patients With Type 2 Diabetes and Microalbuminuria. *Diabetes Care* 24: 2097-101
- Sunyer, J., Munoz, A., Peng, Y., Margolick, J., Chmiel, J.S., Oishi, J. et al. 1996. Longitudinal relation between smoking and white blood cells. *Am J Epidemiol* 144:7344.1
- Suromo, L.B. 2006. C-Reaktif Protein, Petanda Inflamasi Untuk Menilai Risiko Penyakit Kardiovaskuler. *Seminar Petanda Penyakit Kardiovaskuler Sebagai "Point of Care Test (POCT)". HKKI Cab. Semarang*
- Targher, G., Seidell, J.C., Tonoli, M., Muggeo, M., De Sandre, G., Cigolini, M. 1996. The white blood cell count: its relationship to plasma insulin and other cardiovascular risk factors in healthy male individuals. *J Intern Med* 239:43541
- Vallance, P., Collier, J., Bhagat, K. 1997. Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet* 349: 13912
- Vaur, L., et al. 2003. Development of Congestive Heart Failure in Type 2 Diabetic Patients With Microalbuminuria or Proteinuria. *Diabetes Care* 26:855-61
- Vojarova, B., Weyer, C., Lindsay, R.S., Pratley, R.E., Bogardus, C., Tataranni, P.A. 2002. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 45561
- Weijenberg, M.P., Feskens, E.J., Kromhout, D. 2004. White blood cell count and the risk of tolerance. *Diabetes Care* 27: 491-6
- Woodman, R.J., Watts, G.F., Puddey, I.B., Burke, V., Mori, T.A., Hodgson, J.M. et al. 2002. Leukocyte count and vascular function in type 2 diabetic subjects with treated hypertension. *Atherosclerosis* 163:17581
- Ziyadeh, F.N., Sharma, K., Ericksen, M., Wolf, G. 1994. 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* 93:53642