

Efek Pemberian *N-Acetylcysteine* Oral terhadap Kadar hsCRP Serum pada *Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis*

Effect of Oral N-Acetylcysteine Treatment on Plasma hsCRP Level in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Patients

Diding Heri Prasetyo¹, Agung S², Wachid P² dan Bambang P²

¹Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Jl IR Sutami 36A Ketingan Jebres Surakarta, ²Divisi Nefrologi dan Hipertensi, Bagian Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta/Rumah Sakit dr Moewardi, Surakarta
Email: diding_hape@yahoo.co.id

Abstrak

Inflamasi dan stres oksidatif merupakan faktor risiko kardiovaskuler pada pasien *chronic kidney disease* (CKD). N-asetilsistein (NAS) mengandung thiol sebagai antioksidan yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan memperlihatkan penurunan angka kejadian kardiovaskuler pada pasien hemodialisis. Penelitian ini bertujuan menentukan efek NAS oral (2 x 600 mg/hari) terhadap kadar petanda inflamasi pada pasien *Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis* (CAPD). Perlakuan diberikan selama 8 minggu pada 32 pasien (80% laki-laki, usia 42±7 tahun) yang menjalani regular CAPD. Sebelum perlakuan pasien dibagi menjadi dua kelompok masing-masing 16 pasien. Sitokin proinflamasi (*high-sensitivity C-reactive protein*/hsCRP) diukur sebelum dan sesudah perlakuan dengan NAS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian NAS, secara bermakna menurunkan kadar hsCRP (-1,50±1,32 vs 0,56±1,25 pg/mL, p<0,001) dibandingkan kelompok kontrol. Disimpulkan bahwa pemberian NAS peroral mampu menurunkan kadar hsCRP pasien CAPD.

Kata kunci: *Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis* (CAPD), *high-sensitivity C-reactive protein* (hsCRP), N-asetilsistein (NAS), *chronic kidney disease* (CKD)

Abstract

Inflammation and oxidative stress are cardiovascular risk factors in patients with chronic kidney disease. N-acetylcysteine (NAC) is a thiol-containing antioxidant with anti-inflammatory properties and has been shown to reduce the number of cardiovascular events in hemodialysis patients. The aim of the current study is to determine the effect of oral NAC (2 x 600 mg/daily) on plasma levels of inflammatory markers in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD) patients. We performed a placebo-controlled study over 8 weeks in 20 patients (80% males, age 42±7 years) on regular CAPD. Before the study was started, the patients were divided into 2 groups of 10 patients matched for age and gender. 20 patients completed the study (10 on NAC, 10 on placebo). Proinflammatory cytokines [high-sensitivity C-reactive protein/hsCRP] were measured at before and after treatment with NAC. The results showed this intervention, significantly diminished hsCRP (-1,50±1,32 vs 0,56±1,25pg/mL, p<0,001) levels compared control group. The conclusion was short-term oral NAC treatment resulted in reduction of circulating hsCRP in CAPD patients.

Keywords: *Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis* (CAPD), *high-sensitivity C-reactive protein* (hsCRP), N-asetilsistein (NAS), *chronic kidney disease* (CKD)

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab penting pada pasien *chronic kidney disease* (CKD).^{1,2} Selain faktor risiko klasik tingginya prevalensi penyakit kardiovaskuler pada CKD, faktor non-klasik seperti inflamasi dan stres oksidatif berperan penting.³ Pada pasien-pasien dialisis terjadi peningkatan stres oksidatif dan inflamasi yang persisten, memicu meningkatnya *reactive oxygen species* (ROS) yang bersifat merusak pada berbagai jenis sel dan memberikan kontribusi terjadinya aterosclerosis.⁴ Pasien-pasien CKD, menunjukkan peningkatan kadar ureum darah, yang bersifat prooksidan dan proinflamasi.⁵ Uremia merupakan suatu tanda proinflamasi kronik seperti *C-reactive protein* (CRP)/*high sensitivity C-reactive protein* (hsCRP) dan meningkatnya kadar sitokin proinflamasi yang berhubungan dengan peningkatan angka kematian. Sitokin ini serta rangsangan inflamasi diduga mempunyai peran yang penting terhadap progresifitas terjadinya proses aterosclerosis.⁶ Penelitian epidemiologik melaporkan adanya hubungan antara petanda inflamasi (termasuk hsCRP, IL-6 maupun TNF- α) yang berada di sirkulasi dengan resiko penyakit kronik.⁷

Pemberian antioksidan merupakan salah satu strategi untuk menurunkan stres oksidatif yang terjadi pada pasien-pasien CKD. Dengan mempertimbangkan tingkat keamanannya, harga yang murah dan kemungkinan manfaatnya, *N-acetylcysteine* (NAC) merupakan obat antioksidan dan antiinflamasi yang berpotensi untuk pasien-pasien dialisis. NAC adalah senyawa yang mengandung tiol dengan efek antioksidan dapat dikaitkan dengan aksinya sebagai pembersih radikal bebas dan sebagai senyawa sulfhidril reaktif NAC mampu meningkat-

kan kapasitas reduksinya.⁸ NAC telah banyak digunakan untuk terapi bronkhitis kronis sebagai obat mukolitik, dan sebagai antidotum pada overdosis parasetamol.⁹

Dalam bidang nefrologi, NAC digunakan untuk mencegah nefropati akibat kontras. Pada pasien hemodialisis (HD), NAC secara bermakna menurunkan kejadian kardiovaskuler.¹⁰ Pada peritoneal dialisis (PD), hasil penelitian menunjukkan NAC memiliki efek antioksidan yang mampu melindungi membran peritoneal pada hewan coba serta menurunkan produksi *advanced glycation end products* (AGEs) intraperitoneal. Namun demikian efek antioksidan dan antiinflamasi pada pasien CAPD masih belum jelas. NAC sebagai antioksidan mampu mencegah aktivasi induksi NF- κ B dan menghambat induksi ekspresi maupun sekresi sitokin. Pada penelitian ini diharapkan dengan kemampuannya sebagai efek antioksidan dan antiinflamasi, pemberian NAC (2x 600 mg/hari) dapat menurunkan kadar hsCRP sebagai petanda proinflamasi pada pasien CAPD.

BAHAN DAN CARA

Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan randomisasi (*Randomized Control Trial/RCT*) dengan pendekatan *prospektif*, dilakukan di Unit CAPD RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Populasi sasaran adalah pasien CKD stadium V yang telah melakukan CAPD selama 3 bulan sampai 5 tahun di unit CAPD RSUD Dr. Moewardi Surakarta, yang telah menyetujui *inform consent*.

Jumlah sampel pada penelitian ini adalah 32 orang, yang dibagi secara random menjadi dua kelompok yaitu kelompok NAC dan plasebo masing-masing 16 orang. Perlakuan diberikan selama delapan minggu.

Penderita CKD stadium V adalah penderita yang memenuhi kriteria berikut : a) Kerusakan ginjal (*renal damage*) yang terjadi lebih dari tiga bulan, berupa kelainan struktural atau fungsional, dengan atau tanpa penurunan laju filtrasi glomerulus (LFG), dengan manifestasi: i. Kelainan patologis: terdapat tanda kelainan ginjal, termasuk kelainan dalam komposisi darah atau urin, atau kelainan dalam test pencitraan (*imaging test*), ii. Laju filtrasi glomerulus (LFG) kurang dari 60 ml/menit/1,73m² selama tiga bulan dengan atau tanpa kerusakan ginjal. b) Stadium V adalah apabila LFG<15 mL/menit, penderita mengalami CKD tanpa melihat penyebabnya, penderita sudah menjalani CAPD selama minimal tiga bulan. Sebelum dilakukan CAPD, pasien CKD stadium V harus memenuhi pra syarat untuk bisa dilakukan CAPD. Prasyarat ini sekaligus merupakan kriteria inklusi dari sampel yang diikuti dalam penelitian.

Kriteria inklusi meliputi pasien tegak diagnosis CKD stadium V yang dibuktikan dengan pemeriksaan USG ginjal, laboratorium darah dan pemeriksaan urin memenuhi kriteria K/ DOQI 2002; usia 20-60 tahun; telah menjalani CAPD selama lebih dari tiga bulan kurang dari 5 tahun; tidak sedang dalam kondisi infeksi; tidak dalam keadaan sepsis; tensi sistolik lebih dari 100 mmHg; Hb lebih dari 6 mg/dL; tidak didapatkan aritmia jantung serta tidak menderita hepatitis B ataupun hepatitis C kronik.

Kriteria eksklusi meliputi pasien CKD dengan nefropati diabetik stadium V, terapi steroid, keganasan dan uropati obstruktif. Kadar hsCRP, diukur dari darah vena sebesar 20 cc yang diambil 3-5 menit sebelum CAPD kemudian disentrifuse untuk selanjutnya serum diukur dengan ELISA di laboratorium Prodia Surakarta. Dengan metode yang

sama serum dikoleksi pada akhir perlakuan (8 minggu pasca perlakuan). Untuk kemudian dilakukan pengukuran kadar masing-masing variabel sesudah perlakuan dikurangi sebelum perlakuan.

NAC yang digunakan adalah N-acetylcysteine peroral sehari 2x600 mg selama 8 minggu. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *unpaired t test*.

HASIL

Data dasar pasien kelompok NAC dan kontrol

Karakterisasi klinik dasar kedua kelompok disajikan pada Tabel 1. Usia, jenis kelamin, kadar hemoglobin, ureum, kreatinin, kalium dan albumin serum sebelum intervensi tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok.

Efek NAC versus terapi placebo

Penelitian ini memperlihatkan pemberian NAC peroral 2 x 600 mg perhari selama 8 minggu, mampu menurunkan kadar hsCRP serum secara bermakna ($p < 0,001$) dibandingkan kelompok kontrol. Selisih kadar hsCRP masing-masing kelompok perlakuan secara lengkap disajikan pada Gambar 1.

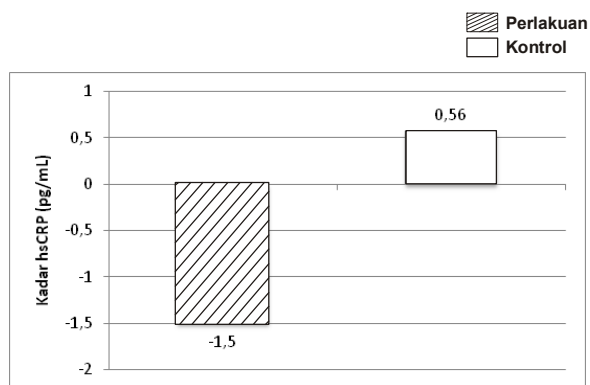
DISKUSI

Pasien-pasien CKD memiliki risiko penyakit kardiovaskuler lebih tinggi dibandingkan populasi pada umumnya. Disfungsi endotel, sangat berpe-

Tabel 1. Karakterisasi Pasien Chronic Kidney Disease (CKD)

Variabel	NAC		Kontrol		p value
Usia	45,79	7.59	42.54	6.79	0.254
Jenis kelamin (Laki-laki)	64,28%		69,23%		0.795
Hemoglobin	10.44	2.01	9.49	2.44	0.282
Ureum serum	128.6	63.9	121.1	39.5	0.710
Kreatinin serum	15.01	4.64	21.71	29.73	0.413
Kadar Kalium serum	3.49	0.79	3.40	1.05	0.811
Kadar albumin serum	3.33	0.51	3.25	0.59	0.727

CI=95%



Gambar 1. Kadar hsCRP (pg/mL) Kelompok Perlakuan N-acetyl-cysteine (NAC) dan Kelompok Kontrol

ran dalam mempercepat terjadinya aterosklerosis. Pasien-pasien CKD memperlihatkan terjadinya gangguan vasodilatasi yang tergantung endothelium, peningkatan petanda disfungsi endotelial, dan peningkatan stres oksidatif. Kerusakan endotelial yang diinduksi oleh lingkungan uremik menunjukkan keterlibatan dari faktor uremia tertentu. Sejumlah toksin uremik seperti *asymmetric dimethylarginine* (ADMA), homosistein, *advanced glycation end products* (AGE), *p-cresyl sulfate* dan *indoxyl sulfate*, kebanyakan terikat protein menunjukkan toksisitas pada endotel. Toksin-toksin tersebut kesemuanya sangat sedikit dihilangkan pada terapi hemodialisis, berbagai mekanisme toksisitas endotel adalah toksin uremik meningkatkan respon prooksidan dan proinflamasi maupun penghambatan perbaikan endotel.¹¹ Pasien-pasien CKD, menunjukkan peningkatan kadar ureum darah. Toksin uremik seperti guanidin, AGE, *p-cresyl sulfate*, *platelet diadenosine polyphosphates*, dan *indoxyl sulfate* menyebabkan disfungsi vaskuler melalui (i) peningkatan aterosklerosis, (ii) uremia melibatkan ADMA, AGE, dan stres oksidatif untuk menimbulkan kekakuan arteri yang akhirnya menyebabkan hipertrofi ventrikel kiri serta penurunan perfusi koroner, (iii) klasifi-

kasi vaskuler dan (iv) abnormalitas *vascular repair* dan hiperplasi neointimal yang menyebabkan penyempitan vaskuler semakin parah.¹² Aterosklerosis dan penyakit kardiovaskular adalah penyebab paling penting dari morbiditas dan mortalitas pada pasien dengan CKD.¹³ Terdapat keterkaitan antara toksin uremik dengan kematian kardiovaskuler.¹²

Hasil penelitian menunjukkan pemberian NAC 2 x 600 mg sehari peroral selama 8 minggu menunjukkan penurunan petanda-petanda inflamasi hsCRP secara bermakna. Hal ini kemungkinan NAC sebagai antioksidan mampu mencegah aktivasi induksi NF- κ B dan menghambat induksi ekspresi maupun sekresi sitokin pro-inflamasi.¹⁴ Selain itu NAC juga mampu menghambat ekspresi molekul adesi endotel dan kerusakan akibat radikal bebas peroksinitrit.¹⁵ NF- κ B terikat dengan protein I κ B dalam sitoplasma, tetapi ketika terjadi stres oksidatif ikatan tersebut dilepaskan sehingga menyebabkan degradasi dan selanjutnya terjadi pelepasan dari I κ B. Pemberian NAC akan menyebabkan blok TNF- α dan aktivasi NF- κ B, selain itu aktivitas antioksidan NAC menyebabkan perubahan struktural pada afinitas reseptor TNF- α sehingga menjadi lebih rendah.

Hasil penelitian Nascimento dkk., menunjukkan NAC secara efektif menurunkan kadar IL-6 pada pasien yang menjalani peritoneal dialisis. Hal ini mendukung efek antioksidan dan/atau antiinflamasi mampu mencegah penyakit jantung koroner,¹⁷ sehingga pemberian NAC mampu menurunkan kejadian-kejadian kardiovaskuler pada pasien-pasien CKD.¹⁸ Hasil penelitian ini menunjukkan NAC secara efektif menurunkan kadar hsCRP, hasil ini berbeda dengan hasil Nascimento *et al.*¹⁷

Penggunaan NAC secara rasional pada pasien CKD, didasarkan pada aktivitas biologis dari NAC yang mampu menurunkan stres oksidatif dan inflamasi. Fakta membuktikan bahwa thiol yang terkandung dalam NAC menurunkan produksi mediator proinflamasi dan merangsang sistem GSH seluler.¹⁹ NAC dan prekursornya yaitu sistein, bekerja sebagai precursor dalam biosintesis GSH, yang penting sebagai antioksidan intraseluler dan ekstraseluler.²⁰ Thaha *et al.*,²¹ melaporkan pemberian NAC secara intravenous selama HD dapat menurunkan kadar ADMA, dimana ADMA merupakan prediktor kuat untuk kematian kardiovaskuler pada dialisis.

Chronic kidney disease ditandai oleh retensi progresif sejumlah senyawa yang memainkan peran dalam kerusakan kardiovaskular sebagai penyebab utama kematian di CKD. Selama tahun terakhir, terutama senyawa yang terikat protein (misalnya *indoxylsulfate* dan *p-cresylsulfate*) dan/atau molekul medium (misalnya AGE, sitokin dan polifosfat dinukleosid) telah diidentifikasi sebagai racun utama yang terlibat dalam lesi vaskular yang mempengaruhi fungsi sel endotel, leukosit, trombosit dan/atau sel otot polos vaskuler pada CKD. Banyak dari zat terlarut ini sulit untuk dihilangkan dengan strategi dialisis standar. Penghilangan zat terlarut terikat protein masih terbatas karena hanya fraksi bebas dari zat terlarut yang sebagian besar dihilangkan secara difusi, sementara penghilangan molekul menengah yang lebih besar (sebagian besar senyawa peptida yang lebih besar) dapat digunakan dengan meningkatkan ukuran pori dializer dan dengan menerapkan strategi konvektif. Selain itu, strategi terapi baru untuk penghilangan senyawa tertentu (misalnya dengan adsorpsi) dan/atau netralisasi farmakologi dari dampak molekul terse-

but, yang kesemua itu bertujuan untuk memperoleh hasil yang lebih baik pada pasien CKD.²²

Dengan hasil ini bisa digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya, penggunaan NAC peroral pada pasien CKD. Selain mudah pemberiannya, nilai kepatuhannya lebih tinggi bila dibandingkan diberikan secara intravena.

SIMPULAN

Pemberian NAC peroral 2x600 mg perhari selama delapan minggu, mampu menurunkan kadar hsCRP serum.

Hasil ini menunjukkan pemberian NAC dapat digunakan sebagai strategi menurunkan reaksi inflamasi pada pasien CAPD.

DAFTAR PUSTAKA

1. Van Biesen W, De Bacquer D, Verbeke F, Delanghe J, Lameire N, Vanholder R. The glomerular filtration rate in an apparently healthy population and its relation with cardiovascular mortality during 10 years. *Eur Heart J*. 2007;28: 478–483;
2. Vanholder R, Massy Z, Argiles A, Spasovski G, Verbeke F, Lameire N. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20:1048–56.
3. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: How do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3:505–21.
4. Zachwieja J, Zaniew M, Bobkowski W, Stefaniak E, Warzywoda A, Ostalska-Nowicka D, *et al.* Beneficial in vitro effect of N-acetyl-

- cysteine on oxidative stress and apoptosis. *Pediatr Nephrol.* 2005;20:725–31.
5. Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Brunet P. Vascular incompetence in dialysis patients—protein-bound uremic toxins and endothelial dysfunction. *Semin Dial.* 2011;24(3):327-37
 6. Nolan C. Strategies for Improving Long-Term Survival in Patients with ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:S120–S127.
 7. Clendenen TV, Koenig KL, Arslan AA, Lukanova A, Berrino F, Gu Y *et al.* Factors associated with inflammation markers, a cross-sectional analysis. *Cytokine.* 2011 Dec; 56(3): 769-78
 8. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, Touam M, Drueke T, Santangelo F, *et al.* AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int.* 2003;64:82–91
 9. Priya S, Vijayalakshmi P, Vivekanandan P, Karthikeyan S. Influence of N-acetylcysteine against dimethylnitrosamine induced hepatotoxicity in rats. *Toxicol Ind Health.* 2011 Nov; 27:914-922.
 10. Tepel M. N-Acetylcysteine in the prevention of ototoxicity. *Kidney Int.* 2007;72:231–2.
 11. Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Brunet P. Vascular incompetence in dialysis patients—protein-bound uremic toxins and endothelial dysfunction. *Semin Dial.* 2011;24(3):327-37.
 12. Brunet P, Gondouin B, Duval-Sabatier A, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Jourde-Chiche N, Argiles A, Burtey S. Does uremia cause vascular dysfunction? *Kidney Blood Press Res* 2011;34(4):284-90
 13. Ramirez R, Martin-Malo A, Aljama P. Inflammation and hemodiafiltration. *Contrib Nephrol* 2007;158:210-5.
 14. Schepers E, Barreto DV, Liabeuf S, Glorieux G, Eloot S, Barreto FC, *et al.* Symmetric Dimethylarginine as a Proinflammatory Agent in Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6: 2374–83
 15. Cuzzocrea S, Mazzon E, Costantino G, Serrainol, De Sarro A, Caputi AP. Effects of n-acetylcysteine in a rat model of ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2000; 47(3):537-548.
 16. Hayakawa H, Ishibashi T, Sekiguchi M. A novel mechanism for preventing mutations caused by oxidation of guanine nucleotides. *EMBO.* 2003; 4(5): 479-83.
 17. Nascimento MM, Suliman ME, Silva M, Chinaglia T, Marchioro J, Hayashi SY, *et al.* Effect of oral n-acetylcysteine treatment on plasma inflammatory and oxidative stress markers in peritoneal dialysis Patients: a placebo-controlled study. *Perit Dial Int.* 2010; 30:336-42.
 18. Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation.* 2003;107:992–5.
 19. Zachwieja J, Zaniew M, Bobkowski W, Stefaniak E, Warzywoda A, Ostalska-Nowicka D, *et al.* Beneficial in vitro effect of N-acetylcysteine on oxidative stress and apoptosis. *Pediatr Nephrol.* 2005;20:725–31.
 20. Bridgeman MM, Marsden M, MacNee W,

- Flenley DC, Ryle AP. Cysteine and glutathione concentrations in plasma and bronchoalveolar lavage fluid after treatment with N-acetylcysteine. *Thorax*. 1991;46:39–42
21. Thaha M, Widodo, Pranawa W, Yogiantoro M, Tomino Y. Intravenous N-acetylcysteine during hemodialysis reduces asymmetric dimethylarginine level in end-stage renal disease patients. *Clin Nephrol*. 2008;69:24–32.
22. Glorieux G, Vanholder R. New uremic toxins - which solutes should be removed? *Contrib Nephrol*. 2011;168:117-28