



Perbedaan ekspresi TGF- β 1 dan Fibrosis Interstitial pada kejadian Nefrotoksik Doxorubicin dan Nefroprotektif Pentoxifylin

Different Expression of TGF- β 1 and Interstitial Fibrosis in Doxorubicin Nephrotoxic Effect and Pentoxifylline Nephroprotective Potency

Bambang Purwanto

Sub Division of Kidney-Hypertension, Faculty of Medicine UNS & Moewardi Hospital, Surakarta

KEYWORDS *doxorubicin; pentoxifylline; interstitial fibrosis; albuminuria*

ABSTRACT *Nephrotoxic effects of Doxorubicin (DXR) is still a problem in clinical practice. On the other hand Pentoxifylline (PTX) as an electron-donor material can be nephroprotective. Therefore, combination of DXR and PTX would be expected to reduce nephrotoxic effects of DXR.*

In this study we examined the effects of PTX on TGF- β 1 expression and interstitial fibrosis in an experimental model of DXR nephropathy in mice. Mice were divided into three groups of eight each i.e. untreated Swiss mice (controls), DXR treatment alone to induce nephropathy, and DXR treatment followed by PTX. Following 4 week treatment, each group was sacrificed. Examination of TGF- β 1 expression was carried out by immunohistochemistry employing monoclonal antibody. Interstitial fibrosis examination was performed by a histopathologist using Verheoff van Giesen staining and the one way Anova was used for statistical analysis. It was observed that DXR treatment followed by PTX treatment prevented the increase of TGF- β 1 expression and interstitial fibrosis in mice with DXR-nephropathy ($p < 0.05$). These findings suggested the beneficial nephroprotective effect of PTX.

Kematian akibat kanker di seluruh dunia diperkirakan akan terus meningkat, dengan perkiraan 12 juta kematian di tahun 2030, 30% kematian akibat kanker dapat dicegah (WHO, 2010). Doxorubicin (DXR) sangat banyak dipakai dalam pengobatan kanker, tetapi efek samping DXR terhadap kerusakan ginjal merupakan masalah penting dan belum banyak diteliti. Sifat destruktif DXR terhadap sel-sel ginjal (nefrotoksik) tersebut disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang reaktivitasnya sangat tinggi sebagai hasil reaksi DXR dalam terapi kanker. *Reactive Oxygen*

Species (ROS) akan merusak sel-sel tubulus proksimal, endotel, membran basalis, maupun sel mesangial, sel viseral glomerulus. Sel-sel yang rusak (*debris*) akan mengaktifkan makrofag, lewat *Toll-Like Reseptor 4* (TLR4), sehingga mengekspresikan sitokin-sitokin, antara lain TNF- α 1, TGF- β 1, IL-1 β ,

Correspondence:

Dr. Bambang Purwanto, dr., SpPD-KGH., FINASIM, Sub Division of Kidney-Hypertension, Faculty of Medicine UNS and Moewardi Hospital Surakarta, Jalan Kol. Sutarto no.132 Surakarta 57126, Telp./Facsimile : (0271) 633101, 654513, Email: papdisolo@yahoo.com

IL-6, dan IL-8 (Erlan and Desmant, 2001; Hasinoff, 1989; Tamaki *et al.*, 1994; Wang and Wang, 2001).

Ikatan TGF- β 1 pada reseptor membran sel fibroblast interstitial ginjal akan menstimulasi terjadinya interstitial fibrosis (Robbins and Cotran, 2005; Tamaki *et al.*, 1994). TGF- β 1 mengatur proliferasi dan diferensiasi sel, perkembangan embrionik, penyembuhan luka dan angiogenesis. TGF- β 1 juga menekan sistem imun dan merangsang komponen-komponen matriks ekstraseluler. Produksi TGF- β 1 yang berlebihan dapat menghasilkan penumpukan matriks ekstraseluler yang terlalu banyak, jaringan parut dan fibrosis yang akhirnya akan menghasilkan kerusakan jaringan (Blobe *et al.*, 2000). Pada penelitian ini, kami gunakan TGF- β sebagai petanda perkembangan menuju fibrosis interstitial pada jaringan ginjal.

Pentoxifyllin (PTX) adalah turunan *metilxanthin*, yang dapat menghasilkan elektron (donor elektron) sebagai anti-ROS, sehingga PTX merupakan bahan nefroprotektif, yang bersifat melindungi sel-sel ginjal dari efek dekstruksi oleh bahan nefrotoksik (Davila *et al.*, 2004; Kupsakova *et al.*, 2002; Mayes, 2003; Suryohudoyo, 2000).

Penelitian ini dilakukan untuk menjelaskan perbedaan ekspresi TGF- β 1 dan interstitial fibrosis pada keadaan normal, nefrotoksik dan nefroprotektif.

BAHAN DAN CARA KERJA

Rancangan penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni. Sampel diambil dari 24 ekor mencit galur Swissjantan, umur 3-4 bulan dengan berat badan 20-30 gram dibagi dalam tiga kelompok yaitu kelompok Kontrol (K), Perlakuan (P) dan Terapi (T), masing-masing kelompok 8 ekor.

Kelompok K diinjeksi dengan NaCl 0,9% 0,2 ml intraperitoneal (*i.p.*), kelompok P diinjeksi 0,038 mg DXR /20 gBB secara *i.p.*, dan kelompok T diinjeksi 0,038 mg DXR /20 gBB dan 1,6 mg PTX /20 secara *i.p.*

Injeksi dilakukan satu kali seminggu selama tiga minggu berturut-turut. Pada minggu ke-4 pasca perlakuan masing-masing kelompok dikorbakan, dengan cara dislokasi servikal. Jaringan ginjal diambil dan dibuat preparat histologis menurut metode standar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Unair, Surabaya, Indonesia.

Setiap sampel jaringan ginjal dibuat sediaan histologis masing-masing 2 slide untuk dilakukan pemeriksaan imunobiologi. Dari masing-masing sampel, satu slide diwarnai dengan teknik pewarnaan *Verheoff van Giesen* untuk penentuan interstitial fibrosis. Tebal interstitial fibrosis diukur menggunakan mikrometer yang telah dikalibrasi terlebih dahulu pada pembesaran 400x. Data yang diperoleh dari tiap-tiap perlakuan merupakan nilai rata-rata dari lima lapangan pandang yang berbeda, sedangkan satu slide lainnya dilakukan pemeriksaan imunobiologi dengan metode imunohistokimia, menggunakan antibodi monoklonal terhadap TGF- β 1. Penilaian dan pengukuran ekspresi TGF- β 1 dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel per 1.000 sel-sel yang imunoreaktif pada permukaan selmakrofag.

Data dianalisis menggunakan uji Anova, dengan program SPSS, untuk mendapatkan perbedaan ekspresi TGF- β 1 dan interstitial fibrosis pada keadaan normal, nefrotoksik dan nefroprotektif.

HASIL

1. Ekspresi TGF- β 1 pada jaringan ginjal

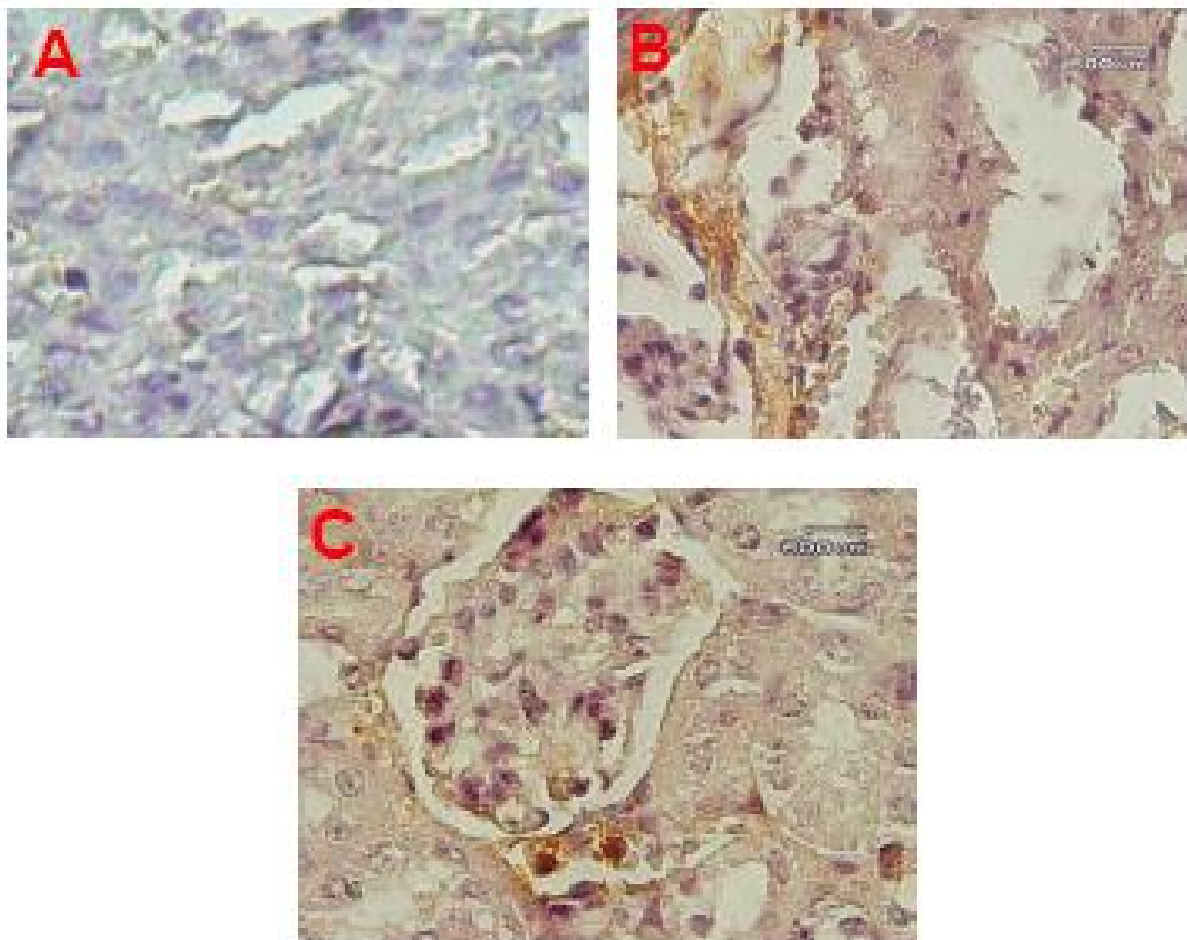
Hasil penelitian memperlihatkan, pemberian DXR meningkatkan jumlah rerata ekspresi TGF- β 1 setelah minggu ke-4 secara bermakna ($p = 0,001$) dibandingkan kontrol. Pemberian kombinasi DXR+PTX menurunkan jumlah rerata ekspresi TGF- β 1 setelah minggu ke-4 secara bermakna ($p = 0,001$) dibandingkan kelompok perlakuan (hanya diberikan DXR, tanpa pemberian PTX) (Tabel 1).

Hasil ekspresi TGF- β 1 setelah empat minggu perlakuan, dilakukan dengan pemeriksaan imunohistokimia pada membran di sel-sel makrofag menggunakan

mikroskop cahaya seperti terlihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Distribusi rerata ekspresi TGF- β 1 masing-masing kelompok hewan coba pada minggu ke-4 setelah perlakuan

Kelompok Hewan Coba	Besar Sampel (n)	Ekspresi TGF- β 1 (sel imunoreaktif/1.000 sel makrofag)
Kontrol	8	3.25 \pm 4.98
DXR	8	74.63 \pm 12.50
DXR+PTX	8	15.75 \pm 3.41



Gambar 1. Perbandingan gambaran protein TGF- β 1 yang diekspresikan sel makrofag diantara perlakuan yang berbeda. Ekspresi protein TGF- β 1 pada membran di sel-sel makrofag nampak berwarna coklat perak (panah). Masing-masing untuk kelompok K (A); kelompok P (B); dan kelompok T (C). (Pewarnaan imunohistokimia; pembesaran 400x-Olympus BX 50 Model BX-50F-3. Pentax Optio 230 Digital Camera 2.0 Megapixel).

2. Interstitial Fibrosis di Jaringan Ginjal

Pemberian agen nefrotoksik (DXR) secara bermakna meningkatkan perubahan histopatologi interstitial fibrosis pada minggu ke-4 ($p=0,002$) dibandingkan kelompok kontrol. Pemberian kombinasi DXR+PTX pada hewan coba secara bermakna menurunkan perubahan histopatologi interstitial fibrosis ($p=0,002$) dibandingkan kelompok perlakuan (hanya diberikan DXR, tanpa pemberian PTX). Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian kombinasi DXR+PTX pada minggu ke-4 telah memperlihatkan kemampuannya

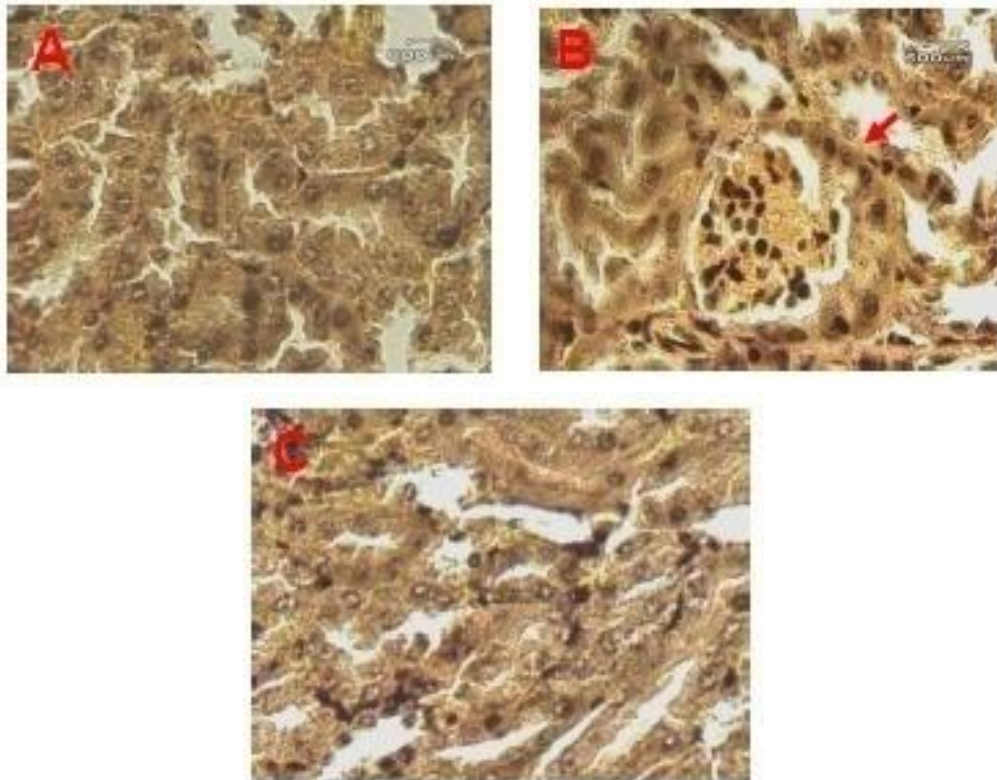
dalam menekan kejadian interstitial fibrosis akibat pemberian agen nefrotoksik (DXR), penurunannya mendekati nilai normal ($p=0,082$).

Hasil nilai rerata interstitial fibrosis masing-masing kelompok hewan coba pada minggu ke-4 disajikan pada Tabel 2.

Hasil pemeriksaan histologis interstitial fibrosis dengan teknik pewarnaan *Verhoeff-Van Gieson* (VvG) setelah empat minggu perlakuan, menggunakan mikroskop cahaya dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 2. Distribusi rerata interstitial fibrosis masing-masing kelompok hewan coba pada minggu ke-4

Kelompok Hewan Coba	Besar Sampel (n)	Interstitial Fibrosis
Kontrol	8	14.50±4.38
DXR	8	29.38±12.06
DXR+PTX	8	20.50±6.39



Gambar 2. Perbandingan gambaran Interstitial Fibrosis diantara perlakuan yang berbeda. Jaringan fibrous nampak berwarna merah (panah) yang terletak diantara tubulus kontortus. Masing-masing untuk kelompok K (A); kelompok P (B); dan kelompok T (C) (Pewarnaan Verhouff van Geison; pembesaran 400x-Olympus BX 50 Model BX-50F-3. Pentax Optio 230 Digital Camera 2.0 Megapixel).

PEMBAHASAN

Penggunaan DXR untuk menginduksi nefrotoksik pada hewan coba telah dipergunakan secara luas. Proses terjadinya kerusakan ginjal dimulai dari pemberian DXR yang akan berikatan dengan reseptor membran sel tubulus proksimal kemudian merangsang enzim NADPH yang berada pada mitokondria sehingga membentuk ROS. Proses ini sesuai dengan *initial stage (Incubation period/Sub clinical)*.

Terjadinya kerusakan pada jaringan ginjal bisa dideteksi dari:

1. Tingkat molekuler (ekspresi TGF- β 1) yang dapat dilihat lewat pemeriksaan imunobiologi dengan metode imunohistokimia,
2. Tingkat seluler (interstitial fibrosis) yang dideteksi dari perubahan histopatologis dengan teknik pewarnaan Verhoeff-Van Gieson,

Pada tahapan *emergence stage*, DXR sebagai bahan nefrotoksik bersifat destruktif terhadap sel-sel ginjal. Efek samping tersebut disebabkan oleh ROS yang memiliki reaktivitas sangat tinggi. ROS akan merusak sel-sel tubulus proksimal, endotel, membran basalis, maupun glomerulus. Sel-sel yang rusak akan membentuk debris. Debris akan mengaktifkan makrofag lewat TLR-4, sehingga makrofag mengekspresikan sitokin-sitokin TNF- α 1, TGF- β 1, IL-1 β , IL-6, dan IL-8 (Tamaki *et al.*, 1994; Wang and Wang, 2001).

Ikatan TGF- β 1 pada reseptor membran sel fibroblas akan merangsang ekspresi kolagen tipe-I sehingga terjadi interstitial fibrosis (Robbins and Cotran, 2005; Tamaki *et al.*, 1994).

Pada tahapan *active stage*, pemberian DXR menyebabkan TGF- β 1 lebih dominan dibanding MMP-9, sehingga terjadi *imbalance* (Belloc and Dumani, 1995; David and Abbe, 1993; Gameson and Reeves, 2007; Sankar, 2006; Wang and Wang, 2001).

Pada pemberian kombinasi DXR+PTX, PTX berperan sebagai anti-ROS, sehingga kerusakan sel (debris) berkurang, akibatnya rangsangan terhadap makrofag lewat TLR-4 berkurang pula. Selanjutnya ekspresi TGF- β 1 oleh makrofag juga berkurang, sehingga PTX berperan dalam memperbaiki keadaan *imbalance* tersebut (Davila *et al.*, 2004; Kupsakova *et al.*, 2002; Mayes, 2003; Suryohudoyo, 2000).

Keadaan *imbalance* ini akan berujung pada terjadinya interstitial fibrosis. Terjadinya interstitial fibrosis, merupakan suatu kondisi yang *irreversible (terminal stage)*.

1. Ekspresi TGF- β 1

Pada penelitian ini ekspresi TGF- β 1 di jaringan ginjal pada kelompok mencit yang diinduksi DXR sebagai agen nefrotoksik terlihat lebih tinggi daripada mencit normal sebagai kontrol. Peningkatan ekspresi TGF- β 1 ini dimungkinkan karena pada pemberian DXR akan terjadi "DXR Iron Complex". "DXR Iron Complex" tersebut akan menghasilkan ROS yang bersifat merusak struktur sel sehingga terbentuk debris. Debris merangsang makrofag melalui TLR-4, sehingga melepaskan ikatan Nf- κ B dengan I κ B akibatnya Nf- κ B menjadi aktif. NF- κ B sebagai faktor transkripsi akan menyebabkan makrofag mengekspresikan sejumlah sitokin pro inflamasi, dan TGF- β 1 (Baratawidjaja and Iris, 2009; Guntur, 2006; Robbins and Cotran, 2005; Tamaki *et al.*, 1994). TGF- β 1 memainkan peran kunci dalam terbentuknya fibrosis ginjal pada manusia dan hewan coba. Menurut Koli *et al.*, (2001) protease, thrombospondin-1, ROS, dan pH rendah merupakan faktor-faktor yang mungkin mampu memerantari aktivasi TGF- β 1 di ginjal. Menurut Wang *et al.*, (2005) TGF- β 1 akan berikatan pada reseptor TGF- β tipe II (TGFR-II) yang aktif, yang pada gilirannya akan merekrut dan mengaktifkan reseptor TGF- β tipe I (TGFR-I). TGFR-I yang aktif, kemudian akan mengaktifkan Smad2 dan Smad3 untuk mem-

bentuk kompleks hetero-oligomeric dengan Smad4, yang selanjutnya akan translokasi ke dalam nukleus untuk mengatur transkripsi gen target. Banyak penelitian yang telah membuktikan bahwa blokade TGF- β 1 dapat memperbaiki fibrosis ginjal (Blobe *et al.*, 2000).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi DXR+PTX secara signifikan menghambat produksi TGF- β 1 pada nefrotoksik akibat DXR, dan pemberian PTX sebagai agen nefroprotektif yang dikombinasikan dengan DXR terlihat menurunkan TGF- β 1. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Xiong *et al.*, (2003) yang menunjukkan bahwa PTX dapat menurunkan secara bermakna ekspresi TGF- β 1 pada fibrosis hepar. *Pentoxifylin* adalah derivat xanthin, berperan sebagai penghambat fosfodiesterase, dapat mendorong peningkatan cAMP intraselular, pelebaran pembuluh darah dan otot polos, perbaikan mikrosirkulasi. Kemampuan PTX dalam menurunkan ekspresi TGF- β 1 dimungkinkan, karena PTX selain dalam reaksi oksidasi juga bertindak sebagai donor elektron dan memiliki kemampuan menghambat fosfodiesterase (Fang *et al.*, 2003). Dengan kemampuannya sebagai donor elektron, maka PTX dapat bersifat sebagai anti ROS, akibatnya kerusakan struktur sel dapat dicegah. Pencegahan kerusakan sel-sel akibat ROS ini akan menyebabkan berkurangnya debris, sehingga rangsangan terhadap TLR-4 juga akan berkurang. Keadaan ini menyebabkan aktifitas NF κ B pada makrofag berkurang, akibatnya ekspresi sitokin TGF- β 1 juga berkurang (Davila *et al.*, 2004; Kupsakova *et al.*, 2002; Mayes, 2003). Hasil ini memberikan hipotesis lebih lanjut bahwa kombinasi PTX dengan DXR akan menghambat peningkatan ekspresi TGF- β 1 sehingga dapat mengurangi interstitial fibrosis.

Dalam pengalaman klinis, PTX banyak digunakan untuk perawatan vaskular perifer dan penyakit serebrovaskular. *Pentoxifylin* dapat menghambat

proliferasi dan sintesis glikosaminoglikan dan kolagen oleh fibroblas (Fang *et al.*, 2003). *Pentoxifylin* mampu menghambat proliferasi sel-sel limfosit, fibroblas, dan mesangial, selain PTX juga mampu menurunkan produksi protein-protein ECM (Lin *et al.*, 2002; Strutz *et al.*, 2000). *Pentoxifylin* juga dapat mengurangi fibrosis peritoneal dan pembentukan adhesi pascaoperasi (Fang *et al.*, 2003).

2. Interstitial Fibrosis

Penelitian ini memperlihatkan pada kelompok mencit yang diinduksi DXR terjadi peningkatan interstitial fibrosis. Peningkatan secara bermakna sudah terlihat pada minggu ke-4 dibandingkan kelompok kontrol.

Fibrosis ginjal adalah penentu utama hilangnya fungsi ginjal yang mengarah ke penyakit ginjal stadium akhir. Perkembangan fibrosis ginjal adalah proses yang kompleks yang melibatkan berbagai jalur sinyal intraselular yang rumit. Jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) p38 dan jalur sinyal TGF- β 1/Smad merupakan jalur sinyal intraselular penting yang terlibat dalam produksi mediator-mediator proinflamasi dan profibrotik serta sintesis dan penumpukan produk-produk ECM (Li *et al.*, 2006a). Tingkat ekspresi TGF- β 1 sangat menentukan keparahan interstitial fibrosis ginjal, penelitian menunjukkan bahwa ekspresi TGF- β 1 yang berlebihan menyebabkan perkembangan interstitial fibrosis. Salah satu yang paling penting efek profibrotik TGF- β 1 adalah adanya autoinduksi dalam berbagai jenis sel fibroblas, yang mungkin bertanggung jawab untuk mempertahankan atau memperkuat respons TGF- β 1 baik secara autokrin atau parakrin.

Pada kelompok terapi terlihat adanya penurunan interstitial fibrosis yang bermakna. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian kelompok kombinasi PTX dan DXR yang memperlihatkan penurunan ekspresi TGF- β 1. Penurunan ekspresi TGF- β 1, akan

berdampak pada penurunan ikatan TGF- β 1 pada reseptor membran sel fibroblas sehingga akan menurunkan interstitial fibrosis (Robbins and Cotran, 2005; Tamaki *et al.*, 1994). Hasil ini sesuai dengan penelitian Xiong *et al.*, (2003) yang memperlihatkan bahwa PTX menghambat fibrosis hepatic melalui penurunan ekspresi TGF- β 1.

Hasil penelitian terkini menunjukkan PTX telah ditemukan memiliki efek antifibrosis. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa PTX dapat menghambat aktifitas fibroblas dari pasien hepatitis dan menekan sintesis kolagen. Pengobatan dengan PTX dalam tahap awal dapat mengurangi lesi hepatica dan reaksi inflamasi. Hal ini menunjukkan PTX mampu menghambat progresifitas interstitial fibrosis ginjal akibat efek samping yang ditimbulkan pemakaian DXR.

Berdasarkan prinsip *epistemology*, secara keseluruhan hasil penelitian kami mengenai pengaruh DXR sebagai obat nefrotoksik dengan variabel TGF- β 1 dan interstitial fibrosis, tetap sesuai dengan penelitian Tamaki *et al.*, (1994), tetapi pada penelitian ini ditambahkan pemberian PTX sebagai obat nefroprotektif. Dari hasil penelitian ini didapatkan pemberian kombinasi DXR+PTX secara bermakna menghambat ekspresi variabel-variabel penyebab nefrotoksik.

Secara keseluruhan manfaathasil penelitian ini adalah bahwa kombinasi DXR+PTX dapat mencegah progresivitas interstitial fibrosis akibat pemberian DXR. Pencegahan progresivitas interstitial fibrosis tersebut akan berefek mengurangi kumulatif sisa-sisa metabolisme protein sehingga dapat mencegah terjadinya sindroma uremia.

SIMPULAN

Pemberian DXR terbukti meningkatkan ekspresi TGF- β 1 yang kemudian me-

nyebabkan interstitial fibrosis ginjal yang akhirnya menyebabkan gangguan fungsi ginjal. Kombinasi PTX dan DXR mencegah peningkatan ekspresi TGF- β 1 yang kemudian menghambat interstitial fibrosis ginjal, yang akhirnya memperbaiki gangguan fungsi ginjal.

Ucapan Terima Kasih

Ungkapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya peneliti sampaikan kepada Prof. Dr. Juliati Hood Alsagaff, dr., MS. SpPA(K), FIAC; Prof. Dr. HA. Guntur Hermawan, dr., SpPD-KPTI; Prof. R. Moh. Yogyantoro, dr., SpPD-KGH, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

- Baratawidjaja KG, Iris R2009. *Imunologi Dasar*. Edisi VIII. FK Universitas Indonesia.
- Bawazier LA2006. *Albuminuri. Buku Ajar Penyakit Dalam*: Ed IV. Dept. Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Belloc F, Dumani P 1995. Effect of Pentoxifylline on Apoptosis of Cultural Cells. *J. Cardiovasc Pharmacol* 25:71-74.
- Blobe GC, Schiemann WP, and Lodish HF. 2000. Role of Transforming Growth Factor β in Human Disease. *N Engl J Med* 343(3):1350-58.
- David D, Abbe S 1993. Protective Effect of Recombinant Human Interlukin-1 α in Doxorubicin Treated Normal and Tumor Bearing Mice. *Cancer Research* 53:1565 - 1570.
- Davila ME, Esqueda, Martinez F, Morales 2004. Pentoxifyllin Diminshes the Oxidative Damage to Renal Tissue Induced Shreptozocin in Rat. *Experimental Diab Res* 5: 245-251.
- Erlan JF, Desmant 2001. Transfers of Ferritin-Bound Iron to Andriamicyn. *FEBS letters* 176: 97 - 100.
- Fang CC, Lai MN, Chien CT, Hung KY, Tsai CC, Tsai TJ, and Hsieh BS 2003. Effects Of Pentoxifylline On Peritoneal Fibroblasts And Silica-Induced Peritoneal Fibrosis. *Peritoneal Dialysis International* 23: 228-236.
- Gameson R, Reeves WB 2007. TNF- α Mediates Chemokine and Sitokine Expression and Renal Injury in Cesplation Nephrotoxicity. *J. Clin Invest* 110: 835-842.
- Guntur AH 2006. *SIRS dan SEPSIS (Imunologi, Diagnosis, Penatalaksanaan)*. Sebelas Maret University Press. Surakarta.

- Guo J, Ananthakrishnan R, Qu W, Lu Y, Reiniger N, Zeng S, Ma W, Rosario R, Yan SF, Ramasamy R, D'Agati V, and Schmidt AM 2008. RAGE Mediates Podocyte Injury in Adriamycin-induced Glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 19: 961-972.
- Hasinoff BB 1989. Self Reduction of the Iron (III) Doxorubicin Complex. *Free Radic Bio Med* 7(6): 583 - 93.
- Koli K, Saharinen J, Hyytiainen M, Penttinen C, Keski-Oja J 2001. Latency, activation, and binding proteins of TGF- β . *Microsc Res Tech* 52:354-362.
- Kupsakova, Docolomansky P, Ryber M, Brier A 2002. Carbonyl Group of Aliphatic Side Chain on Pentoxifyllin does not Play Role for P. Glycoprotein Antagonizing Effect of Pentoxifyllin. *Gen Physiol Biophys* 21: 471-8.
- Li J, Campanale NV, Liang RJ, Deane JA, Bertram JF, and Ricardo SD 2006. Inhibition of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase and Transforming Growth Factor- β 1/Smad Signaling Pathways Modulates the Development of Fibrosis in Adriamycin-Induced Nephropathy. *Am J Pathol* 169(5): 1527-1540
- Lin SL, Chen YM, Chien CT, Chiang WC, Tsai CC, Tsai TJ 2002. Pentoxifylline Attenuated the Renal Disease Progression in Rats with Remnant Kidney. *J Am Soc Nephrol* 13: 2916-2929
- Loscalzo J 2009. Azotemia and Urinary Abnormalitis. In Harison's Manual of Medicine. 17th edition. New York, Mc Graw Hill, pp 274-280
- Mandy Y, Magy Z 1997. Effect of Tumor Necrosis Factor for Pentoxifylline on Icam-1 Expression on Human Poly Morpho Nuclear Granulocytes. *Int Arch Allergy Immunol* 114:329 - 335.
- Mayes PA 2003. Structure and Function of Lipofilic Vitamin. *Harpers Biochemistry*. 25th edition. 613-622.
- Robbins and Cotran 2005. General Pathology. Basic Pathology Disease. EGC;I:20-43.
- Sankar 2006. Handbook of Transcription Factor NF Kappa B Bocca Rator. CRC ISBN 8493 - 2794 - 6.
- Strutz F, Heeg M, Kochsiek T, Siemers G, Zeisberg M, Muller GA 2000. Effects of pentoxifylline, pentifylline and gamma-interferon on proliferation, differentiation, and matrix synthesis of human renal fibroblasts. *Nephrol Dial Transplant* 15:1535-1546.
- Suryohudoyo P 2000. Oksidan, anti-oksidan dan Radikal Bebas. Kapita Selekt. Ilmu Kedokteran Molekuler. CV Agung Seto. Jakarta. Hal 31 - 47.
- Tamaki K, Seiya O, Takashi A 1994. TGF- β in Glomerulosclerosis and Interstitial Fibrosis, of Adriamycin Nephropaty. *Kidney International* 45:525 - 536.
- Usta Y, Ismailaglu 2004. Effect of Pentoxifylline Adriamicun (DXR) Included Renal Disease in Rats. *Pedriatri Nephrol* 19: 840-843.
- Wang W, Koka V, Lan HY 2005. Transforming growth factor-beta and Smad signalling in kidney diseases. *Nephrology (Carlton)* 10:48-56.
- Wang Y, Wang YP 2001. Role of CD 8th Cells in the Progression of Murine Adriamycin Nephropaty. *Kidney International* 59:941 - 949.
- Weir MR 2007. Microalbuminuria and Cardiovascular Disease. *Clin J Am Nephrol* 2: 581-590.
- WHO 2008. WHO Global Info Base. <http://www.who.int/infobase/cancer.aspx> (diunduh tanggal 12 Pebruari 2010)
- WHO 2010. Cancer. <http://www.who.int/cancer> (diunduh tanggal 12 Pebruari 2010)
- Xiong LJ, Zhu JF, Luo DD, Zen LL, Cai SQ 2003. Effects of pentoxifylline on the hepatic content of TGF-b1 and collagen in Schistosomiasis japonica mice with liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 9(1):152-154