

# **DISERTASI**

## **PERAN SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> DAN MDA PADA PENINGKATAN ENZIM KREATIN FOSFOKINASE DI CAIRAN SEREBROSPINALIS SETELAH CEDERA KAPALA BERAT**



**ISDWIRANTO ISKANTO**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2004**

**PERAN SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> DAN MDA PADA PENINGKATAN  
ENZIM KREATIN FOSFOKINASE DI CAIRAN SEREBROSPINALIS  
SETELAH CEDERA KAPALA BERAT**

**DISERTASI**

**Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
Telah dipertahankan di hadapan  
Panitia Ujian Doktor Terbuka  
Pada hari : Kamis  
Tanggal : 5 Pebruari 2004  
Pukul 10.<sup>00</sup> WIB**

**Oleh :**

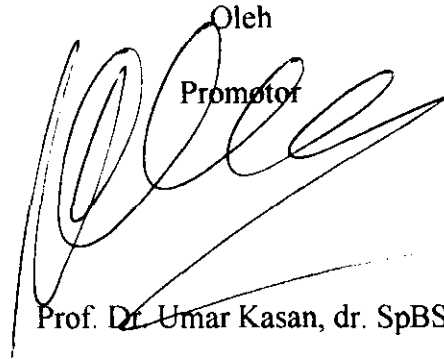
**ISDWIRANTO ISKANTO  
NIM. 090114567 D**

Lembar pengesahan

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI

TANGGAL, 12 FEBRUARI 2004

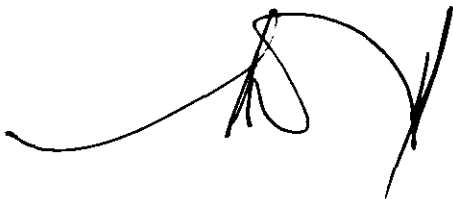
Oleh  
Promotor



Prof. Dr. Umar Kasan, dr. SpBS

NIP. 130 517 178

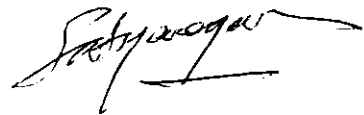
Ko promotor I



Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr. SpBK

NIP. 130 122 377

Ko promotor II



Prof. Dr. Satyanegara, dr. SpBS

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)

Tanggal 5 Januari 2004

---

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

**Ketua** : Prof. Dr. Askandar Tjokroprawiro, dr. SpPD, KE

**Anggota** :1. Prof. Dr. Umar Kasan, dr. SpBS.

2. Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr. SpBK

3. Prof. Dr. Satyanegara, dr. SpBS

4. Prof. Dr. Aboe Amar Joesoef, dr, SpS (K)

5. Prof. Dr. Roemwerdiniadi S, dr SpPA

6. Prof. Kuntoro, dr. MPH. Dr. PH

7. Prof. Dr. S.M. Lumbantobing, dr, SpS (K)

Ditetapkan dengan Surat Keputusan

**Rektor Universitas Airlangga**

**Nomor: 601/J03/PP/2004**

**Tanggal: 19 Januari 2004**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunianya, sehingga penelitian dan penulisan disertasi ini dapat saya selesaikan, maka dengan ketulusan hati saya ingin menyampaikan terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. Dr. Umar Kasan, dr. SpBS selaku promotor yang dengan penuh perhatian telah memberikan banyak dorongan dan bimbingan, saran, koreksi serta arahan sehingga saya dapat menempuh program doktor ini dan akhirnya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr. SpBK atas kesedian beliau sebagai ko-promotor yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, saran, koreksi sehingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Prof. Dr. Satyanegara, dr. SpBS atas kesedian beliau sebagai ko-promotor yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan dan saran sehingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr Med Puruhito, dr. SpB-TKV yang telah memberikan saran masukan sehingga disertasi ini dapat terselesaikan dan yang telah memperkenalkan saya untuk mengikuti pendidikan Doktor di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Muhammad Amin. dr. SpP atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

dr., MS., M.Sc., Ph.D; Dr. L Dyson P, MA; Prof. Kuntoro, dr., MPH., Dr.PH; Prof. Purnomo Surjohudojo, dr., SpBK; Dr. Abdul Hafid, dr., SpBS.

Seluruh anggota panitia penguji yang telah memberikan masukan yang sangat berharga untuk penyempurnaan naskah disertasi ini.

Kepada seluruh penderita dalam penelitian ini yang dengan sukarela dan kesediannya ikut serta berpartisipasi pada penelitian ini saya sampaikan penghargaan dan rasa hormat yang setinggi-tingginya, karena tanpa kesediannya penelitian ini tidak akan terlaksana.

Kadiskes TNI-AU Marsekal pertama Julizir, dr, SpA dan mantan Kadiskes TNI-AU Marsekal pertama Sri Budi, dr. SpM dan Marsekal pertama A. Hidayat, dr. SpB, MARS yang telah memberikan izin saya untuk mengikuti program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof. Basoeki Wirjowidjojo, dr. SpBS, Prof. Sajid Darmadipura, dr. SpBS, Dr. Abdul Hafid, dr, SpBs, Agus Turhan, dr, SpBS, Dr. M. Arifin, dr, SpBS atas dukungan dan bimbingannya selama penelitian ini.

Teman sejawat dan PPDS di Lab / SMF Bedah Saraf RSUD Dr. Sutomo / FK Universitas Airlangga Surabaya atas kerjasama, bantuannya dan dukungannya selama saya mengikuti pendidikan ini.

Semua staf sekretariat di Lab/SMF Bedah Saraf RSUD Dr. Sutomo / FK Universitas Airlangga Surabaya atas semua bantuannya dan kerjasamanya selama pendidikan saya.

Dr. Hari Basuki, dr., MS dari Bagian Biostatistik dan Kependudukan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga yang telah membantu dalam analisis data penelitian.

Dr. Sudjarwo, drs, MS, Apt, dari laboratorium Analisis Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu pelaksanaan pemeriksaan laboratorium sebagian dari variabel penelitian ini sehingga memperlancar penelitian ini.

Pimpinan dan Karyawan Laboratorium Prodia Surabaya maupun Prodia Pusat Jakarta yang telah membantu pelaksanaan pemeriksaan laboratorium sebagian dari variabel penelitian ini sehingga memperlancar penelitian ini.

Teman di Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga angkatan tahun 2001/2002 yang selalu saling membantu dan saling memberi motivasi selama perkuliahan maupun dalam penyelesaian disertasi ini.

Ir. Denny Ardyanto, MS dan keluarga atas dukungannya, kerjasamanya dan bantuannya selama perkuliahan maupun dalam penyelesaian pelaksanaan penelitian sehingga disertasi ini dapat diselesaikan

Farhad Balafif, dr., SpBS atas dukungannya, kerjasamanya dan bantuannya memperlancar pelaksanaan penelitian ini sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

I.F. Setiady, dr dan Widodo Soetjipto atas dukungan dan bantuannya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

Kedua Orangtua saya, Ayah Ir Iskanto dan Ibu Hj. Susilawati yang telah membesarkan dan mendidik saya, serta doa yang tulus sehingga saya dapat mengikuti pendidikan sampai kejenjang program pendidikan ini.

Istri saya tercinta Meita Indiasiati dan anak- anak saya tercinta Isditya Julia Putri, Isdias Dwi Putra, Isgustrianta Putra, atas pengertian dan pengorbanan serta dorongan yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan ini.

Kepada semua pihak yang saya belum sempat saya sebutkan, yang telah memberi bantuan hingga selesainya disertasi ini.

Semoga hasil penelitian ini berguna bagi Ilmu pengetahuan dan umat manusia.



**RINGKASAN****Peran SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan MDA pada Peningkatan Enzim Kreatin Fosfokinase  
Di Cairan Serebrospinalis Setelah Cedera Kepala Berat**

Isdwiranto Iskanto

Penelitian biokimia memperlihatkan peningkatan enzim kreatin fosfokinase (CPK) di cairan serebrospinalis (CSS) dapat digunakan sebagai *marker* atau tanda biokimia yang potensial untuk kematian sel otak setelah cedera kepala. Penelitian lain memperlihatkan kematian sel otak setelah cedera kepala dapat di sebabkan oleh proses neurobiokimiawi patologis peningkatan senyawa oksigen reaktif (SOR) didalam sel otak. Namun sampai saat ini mekanisme neurobiokimiawi patologis terjadinya peningkatan enzim kreatin fosfokinase di cairan serebro spinalis oleh karena peningkatan senyawa oksigen reaktif pada cedera kepala secara molekuler masih belum jelas sepenuhnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap secara molekuler mekanisme neurobiokimiawi patologis terjadinya peningkatan enzim kreatin fosfokinase di cairan serebro spinalis oleh karena peningkatan senyawa oksigen reaktif setelah cedera kepala berat melalui peran SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dan MDA, dengan tujuan khususnya adalah membuktikan setelah cedera kepala berat terjadi peningkatan enzim CPK di CSS dan terjadi juga penurunan kadar SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> serta peningkatan MDA di CSS, juga membuktikan ada hubungan peningkatan enzim CPK di CSS setelah cedera kepala berat dengan penurunan kadar SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peningkatan kadar MDA di CSS, serta

membuktikan ada hubungan peningkatan enzim CPK dan SOR di CSS setelah cedera kepala dengan derajat beratnya cedera kepala (GCS) yang terjadi.

23 sampel CSS dari 12 penderita serta, masing-masing terdiri 18 sampel CSS dari 7 penderita kelompok cedera kepala berat ( $GCS \leq 8$ ) dan 5 sampel CSS dari 5 peserta bukan penderita cedera kepala (kontrol), mengikuti penelitian ini. Cairan serebrospinalis diambil dan diperiksa pada hari 1,3,5 setelah cedera kepala berat.

Hasil analisis menunjukkan selain terjadi peningkatan enzim CPK di CSS setelah cedera kepala dengan rerata  $86,00 \pm 53,39$  U/l dibandingkan kontrol dengan rerata  $4,4 \pm 2,79$  U/l,  $p = 0,0035$  juga terjadi penurunan enzim SOD ( $10,033 \pm 2.073 \mu / ml$  dibandingkan  $12,213 \pm 0,22 \mu / ml.$ ,  $p = 0,016$ ), penurunan kadar  $H_2O_2$  ( $34,17 \pm 14,52$  CPM dibandingkan  $74,71 \pm 16,44$  CPM,  $p = 0,0005$ ), dan peningkatan kadar MDA ( $192,97 \pm 77,5$  nmol/ml dibandingkan  $18,04 \pm 3,39$  nmol/ml,  $p = 0,0005$ ). Analisis statistik juga menunjukkan hubungan yang bermakna antara SOD dengan CPK pada hari pertama pasca cedera kepala berat dengan  $p=0,010$ , dan setelah hari kelima dengan  $P=0,044$ . Terlihat juga dari hasil penelitian ini adanya hubungan yang bermakna antara  $H_2O_2$  dengan GCS dengan  $p=0.007$ , MDA dengan GCS ( $p = 0,001$ ), dan hubungan antara enzim CPK dengan GCS yang secara statistik bermakna dengan  $p= 0,000$ .

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan pertama setelah cedera kepala berat terjadi peningkatan enzim kreatin fosfokinase di cairan serebro spinalis dan terjadi juga peningkatan aktifitas senyawa oksigen reaktif berupa penurunan kadar SOD,  $H_2O_2$  dan peningkatan MDA di cairan serebro spinalis. Kedua ada hubungan peningkatan enzim kreatin fosfokinase di cairan serebro spinalis spinalis setelah cedera kepala berat

dengan SOD. Ketiga ada hubungan  $H_2O_2$ , MDA dan enzim kreatin fosfokinase di CSS setelah cedera kepala dengan derajat beratnya cedera kepala yang terjadi (GCS).

Maka disarankan enzim SOD,  $H_2O_2$ , MDA dan enzim kreatin fosfokinase di cairan serebro spinalis digunakan sebagai dasar pedoman diagnostik dan penatalaksanaan perawatan penderita cedera kepala berat serta digunakan sebagai monitor strategi penatalaksanaan antioksidan di penelitian klinis lanjutan.

## SUMMARY

### **The Role of Superoxide Dismutase, Hydrogen Peroxide, and Malondialdehyde in The Mechanism of Increased Creatine Kinase in The Cerebrospinal Fluid After Severe Head Injury**

Isdwiranto Iskanto

Biochemical studies have shown that increased creatine phosphokinase (CPK) in the cerebrospinal fluid (CSF) could be used as a potential biochemical marker for brain cell death after head injury. Other study have shown that reactive oxygen species (ROS) may play an important part in brain cell death after severe head injury, but up till now the mechanism of increased creatine phosphokinase and increased reactive oxygen species activity in such cases is still not fully known.

The General purpose of this study is to reveal the mechanism of increased creatine phosphokinase in the cerebrospinal fluid after severe head injury and the role played by superoxide dismutase (SOD), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), and malondialdehyde (MDA). This study has 3 objectives. First to study the effect of severe head injury in the CSF content of CPK, SOD,  $H_2O_2$ , and MDA. Second, the relation between CPK content and that of SOD,  $H_2O_2$ , and MDA. in the CSF and third the relation between the said variable (CPK, SOD,  $H_2O_2$ , and MDA.) and the severity of head injury as measured by the Glasgow Coma Scale (GCS).

Using a protocol approved by our institutional ethical review board, 23 cerebrospinal fluid samples, consisting of 18 cerebrospinal fluid samples from 7 patients with severe head injury (Glasgow Coma Scale score  $\leq 8$ ) and 5 controls samples were studied. Cerebrospinal fluid was routinely drained as part of the standard examination and care in patients with and was assessed on day 1,3, and 5.

The results showed that on day 1, as compared to control CPK was significantly increased ( $86.00 \pm 53.39$  U/l versus  $4.4 \pm 2.79$  U/l,  $p = 0.0035$ ). SOD was significantly reduced ( $10.033 \pm 2.073$  U / ml versus  $12.213 \pm 0.22$  U / ml.,  $p = 0.016$ ). Hydrogen peroxide was significantly reduced ( $34.17 \pm 14.52$  CPM versus  $74.71 \pm 16.44$  CPM,  $p = 0.0005$ ), and malondialdehyde was significantly increased ( $192.97 \pm 77.5$  nmol/ml versus  $18.04 \pm 3.39$  nmol/ml,  $p = 0.0005$ ). The result also showed a significantly correlation between CPK and SOD on day 1 ( $p = 0.010$ ) and on day 5 ( $p = 0.044$ ). Further, it also showed significant correlation between  $H_2O_2$  and GCS ( $p = 0.007$ ), between MDA and GCS ( $p = 0.001$ ) and between CPK and GCS ( $p = 0.000$ )

It could thus be concluded that, first severe head injury could cause an increase in of cretine phosphokinase in CSF and increase in reactive oxygen species activity as shown by the decrease superoxide dismutase and hydrogen peroxide, and increase malondialdehyde in CSF. Second, it could be concluded that the increase of creatine phosphokinase its correlated with superoxide dismutase and third, the changes of hydrogen peroxide, malondialdehyde and cretine phosphokinase in the CSF is correlated with the severity of head injury as measured by the Glasgow Coma Scale.

Considering there findings, it could be suggested that changes in, superoxide dismutase, hydrogen peroxide and malondialdehyde in the CSF could be used as valuable

aid in diagnosis and treatment of severe head injury and could be used in monitoring antioxidant treatment studies in the future.

**ABSTRACT****The role of superoxide dismutase, hydrogen peroxide, and malondialdehyde in the mechanism of increased cerebrospinal fluid enzyme creatine kinase after severe head injury**

Isdwiranto Iskanto

Recently much evidence has been reported that reactive oxygen species could be one of the major mechanisms in the primary and secondary damage of traumatic brain injury. Most of this evidence is experimental, while clinical data are more rare. The primary and secondary mechanisms of traumatic brain injury may lead to tissue death with the resultant release of the cellular enzyme creatine kinase into the cerebrospinal fluid. In order to investigate the reactive oxygen species after severe head injury and study the correlation with the brain enzyme creatine kinase, we have performed this study.

The first purpose of this study is to analyze the level of reactive oxygen species and creatine kinase in the CSF after severe head injury and its correlation with the severity of trauma. The second purpose is to clarify the relationship between reactive oxygen species and creatine kinase after severe head injury.

Using a protocol approved by our institutional review board, 18 cerebrospinal fluid samples from 7 patients with severe head injury (Glasgow Coma Scale score  $\leq$  8) and 5 controls were studied. Cerebrospinal fluid was drained as standard care after severe head injury. CSF was assessed on day 1, 3, and 5 after ventricular drain placement. Biochemical markers of reactive oxygen species included antioxidant superoxide dismutase, hydrogen peroxide, and malondialdehyde.

Creatine kinase after severe head injury was markedly increased versus control on day 1 ( $86,00 \pm 53,39$  U/l versus  $4.4 \pm 2.79$  U/l,  $p = 0.0035$ ). Antioxidant superoxide dismutase was reduced versus control ( $10.033 \pm 2.073$   $\mu$  / ml versus  $12.213 \pm 0.22$   $\mu$  / ml,  $p = 0.016$ ). Hydrogen peroxide was markedly reduced ( $34,17 \pm 14,52$  CPM versus  $74,71 \pm 16,44$  CPM,  $p = 0,0005$ ), and malondialdehyde was markedly increased versus control ( $192.97 \pm 77.5$  nmol/ml versus  $18.04 \pm 3.39$  nmol/ml,  $p = 0,0005$ ).

The result showed a correlation between the reactive oxygen species with creatine kinase in the CSF of patients with severe head injury and a correlation between reactive oxygen species and creatine kinase with the severity of trauma ( $p < 0.05$ ). The results also showed that CSF biochemical markers measurement may help both from the point of view of diagnostics and individualization of antioxidants administration, and also these markers could be used to monitor antioxidant strategies in clinical trials.

**Keywords:** reactive oxygen species, superoxide dismutase, hydrogen peroxide, malondialdehyde, creatine kinase, cerebrospinal fluid, severe head injury.