

**DISERTASI**

**PENGARUH ASAP ROKOK TERHADAP GSH,  
MMP-8 DAN MMP-9 PADA PATOGENESIS  
EMFISEMA**



**JONI ANWAR**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2011**

**DISERTASI**

**PENGARUH ASAP ROKOK TERHADAP GSH, MMP-8 DAN MMP-9 PADA  
PATOGENESIS EMFISEMA**



**JONI ANWAR**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA  
2011**

**PENGARUH ASAP ROKOK TERHADAP GSH, MMP-8 DAN MMM-9 PADA  
PATOGENESIS EMFISEMA**

**DISERTASI**

**Untuk memperoleh Gelar Doktor**

**Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran pada program pasca Sarjana Universitas**

**Airlangga dan Dipertahankan Dihadapan Panitia Ujian Doktor Terbuka**

**Pada hari : Kamis**

**Tanggal : 29 September 2011**

**Pukul : 10<sup>00</sup> - 12<sup>00</sup>**



**Oleh :**

**JONI ANWAR**

**NIM : 090315289.D**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA  
2011**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**DESERTASI INI TELAH DISETUJUI  
PADA 5 OKTOBER 2011**

**Oleh:**

**Promotor**

**Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., SpP(K)**  
**NIP: 19470810.197412.1.002**

**Ko – promotor I**

**Ko – promotor II**

**Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D**  
**NIP: 19500217.197803.1.002**

**Prof. Retno Handajani, dr.,MS.,Ph.D**  
**NIP: 19481012.197603.2.001**

**Telah diuji pada Ujian Tertutup**

**Tanggal 24 Agustus 2011**

**Panitia penguji Disertasi**

**Ketua : Prof. Dr. Yoes Prijatna D, dr., MSc., SpPar**

**Anggota :**

- 1. Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., SpP (K)**
- 2. Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D**
- 3. Prof. Retno Handajani, dr, M.S., Ph**
- 4. Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., SpBK**
- 5. Prof. H Kuntoro, dr., MPH., Dr, PH**
- 6. Prof. Dr. Ida Bagus Ngurah Rai, dr., Sp.P**
- 7. Dr. Sunaryo, dr., MS., MSc**

**Ditetapkan dengan Surat keputusan Rektor**

**Universitas Airlangga**

**Nomor : 1998/H3/KR/2001**

**Tanggal : 8 September 2011**

**RINGKASAN****PENGARUH ASAP ROKOK TERHADAP GSH, MMP-8 DAN MMP-9 PADA PATOGENESIS EMFISEMA**

Emfisema adalah kelainan paru yang ditandai oleh adanya pelebaran abnormal dan permanen ruang udara distal dari bronkiolus terminalis disertai destruksi dinding alveoli dan tanpa fibrosis yang nyata. Emfisema dan bronkitis kronik tidak dimasukkan ke dalam PPOK karena emfisema adalah kelainan anatomis sedangkan bronkitis kronik adalah diagnosis klinis. Selain itu keduanya tidak menggambarkan kelainan faal paru pada saluran napas (Senior dan Shapiro, 1998; PDPI, 2011).

Menurut perediksi WHO (*World Health Organization*) tahun 2020, prevalensi PPOK akan meningkat dari peringkat ke-12 menjadi peringkat ke-5 untuk penyakit yang paling sering ditemukan sedangkan mortalitas juga meningkat dari penyebab kematian ke-6 menjadi penyebab kematian ke-3 di dunia (Barnes dkk, 2003; Barnes, 2004).

Tidak terdapat data yang akurat di Indonesia tentang prevalensi PPOK ini, tetapi pada Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) DEPKES RI tahun 1986 didapatkan penyakit asma, bronkitis kronik dan emfisema menduduki peringkat ke-10 sebagai penyebab kematian. Survei Kesehatan Rumah Tangga tahun 1992 menunjukkan angka kematian karena penyakit asma bronkial, bronkitis kronik dan emfisema menduduki peringkat ke-7 dari 10 penyebab kematian di Indonesia dan pada SKRT 1995 penyakit sistem pernapasan merupakan penyebab kematian ke-2 dari 10 penyakit penyebab kematian (Litbangkes, 1999).

Paru merupakan organ yang paling sering terpapar dengan oksidan atau radikal bebas terutama asap rokok yang dapat menyebabkan kerusakan pada protein, lipid dan DNA. Asap rokok terdiri dari fase gas dan fase solid. Fase gas mengandung  $10^{15}$  oksidan (terutama alkil dan peroksil) dan 500 – 1000 ppm nitrit oksida (NO) pada setiap hisapan sedangkan fase solid atau fase tar mengandung  $10^{18}$  radikal bebas per gram yang terdiri dari radikal hidroksil dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), metal chelator dan zat organik kuinon-hidrokuinon.

Anion superoksida akan dinetralkan oleh superoksid dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida akan dinetralkan oleh katalase dan glutathione peroxidase dengan bantuan glutathione (GSH). Glutathione merupakan pertahanan antioksidan utama pada paru. Penurunan kadar GSH menyebabkan sebagian  $H_2O_2$  tidak dapat dinetralkan bebas masuk ke dalam sel dan mendegradasi ikatan I $\kappa$ B dengan faktor transkripsi *Nuclear-factor kappa B* (NF $\kappa$ B) sehingga NF $\kappa$ B yang bebas akan memasuki nukleus, merangsang faktor transkripsi, meningkatkan produksi mediator pro-inflamasi dan menyebabkan terjadi rekrutmen netrofil dan makrofag. Netrofil dan makrofag memproduksi enzim matriks metaloproteinase yang dapat mendegradasi matriks ekstrasel. Netrofil memproduksi enzim matriks metaloprotein (MMP) yaitu MMP-8 dan MMP-9 sedangkan makrofag memproduksi MMP-9 yang merupakan enzim elastolitik utama yang dapat mendegradasi matriks ekstrasel.

Untuk melihat pengaruh asap rokok terhadap paru dilakukan penelitian observasional menggunakan desain potong lintang (*cross-sectional*) terhadap 18 orang perokok dengan emfisema sebagai kelompok studi dan 19 orang perokok tanpa emfisema sebagai kelompok kontrol. Variabel yang diteliti adalah GSH, MMP-8 dan MMP-9 dari sputum yang induksi dengan salin hipertonik.

Pada penelitian ini didapatkan penurunan tidak bermakna kadar GSH ( $12.37 \pm 4.10$ )  $\mu$ M pada kelompok perokok dengan emfisema dibandingkan ( $16.28 \pm 9.47$ )  $\mu$ M pada kelompok perokok tanpa emfisema ( $p > 0.05$ )

Dari penelitian ini didapatkan aktivitas MMP-8 yang lebih tinggi pada perokok dengan emfisema ( $1024.87 \pm 488.49$ ) ng/mL dibandingkan tanpa emfisema ( $263.50 \pm 60.45$ ) ng/mL dengan perbedaan yang sangat bermakna ( $p < 0.002$ ).

Pada penelitian ini didapatkan aktivitas MMP-9 yang lebih tinggi pada perokok dengan emfisema ( $2080.47 \pm 1712.94$ ) ng/mL dibandingkan perokok tanpa emfisema ( $749.92 \pm 331.64$ ) ng/mL dengan perbedaan yang bermakna ( $p < 0.05$ )

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan tidak bermakna kadar GSH dan peningkatan bermakna MMP-8 dan MMP-9 pada perokok dengan emfisema dibandingkan perokok tanpa emfisema. Peningkatan aktivitas MMP-8 dan MMP-9 dapat merusak elastin pada matriks ekstrasel dan menyebabkan terjadinya emfisema.

## SUMMARY

## THE IMPACTS OF CIGARETTE SMOKE TO GSH, MMP-8 AND MMP-9 IN PATHOGENESIS OF EMPHYSEMA

Emphysema is defined as a condition of the lung characterized by abnormal and permanent enlargement of distal airspaces from the terminal bronchiole, accompanied by the destruction of their walls, and without obvious fibrosis.

The prevalence and burden of COPD are projected to increase in the coming decades due to continued exposure to COPD risk factors and the changing age structure of the world's population. The Global Burden of Disease Study has projected that COPD, which ranked sixth as the cause of death in 1990, will become the third leading cause of death worldwide by 2020.

There is no accurate data in Indonesia about the prevalence of COPD but according to National Health Survey by Indonesian Ministry of Health in 1986 were found that Asthma, Chronic Bronchitis and Emphysema is the number ten cause of death among 10 common causes of deaths. National Health Survey in 1992 were found that the disease of respiratory system is the second common cause of death among 10 common causes of deaths.

The lung is the organ that frequently exposed to oxidants or free radicals which caused the degradation of protein, lipid, deoxyribonucleic acid (DNA). Cigarette smoke is the most commonly encountered factors for pulmonary emphysema and the elimination of these factors is an important step toward prevention and control of pulmonary emphysema. Oxidants from cigarette smoke consist of gas and solid phase. Gas phase contains  $10^{15}$  oxidants (especially alkyl and peroxy) and 500–1000 ppm nitrite oxide (NO). Solid phase contains  $10^{17}$  free radicals that consist of hydroxyl radical, hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), metal-chelator and quinone-semiquinone. Glutathione system will neutralize hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) into water ( $H_2O$ ).

Macrophages and neutrophils produce matrix metalloproteinases (MMPs), especially neutrophil elastase (MMP-8) and gelatinase B (MMP-9) which degrade most of matrix extracellular (especially elastin) as the cause of lung emphysema. Because of direct impacts of superoxide anion and hydrogen peroxide to the



formation of radicals hydroxyl and indirectly were the increase MMP-8 and MMP-9 activity, that's importance to study the concentration of GSH, MMP-8 and MMP-9 activity in pathogenesis of emphysema

To study the impacts of cigarette smoke in the pathogenesis of emphysema, a cross-sectional analytical study was conducted to cigarette smokers with emphysema as the study group and cigarette smokers without emphysema as the control group. The study variables were the concentration of GSH, MMP-8 and MMP-9 activity. The statistical analyses comprised of homogeneity test, normality test, Mann-Whitney test and Independent T-test. All participants are men, 18 cigarette smokers with emphysema and 19 cigarette smokers without emphysema.

It was found that the decrease concentration of GSH ( $12.37 \pm 4.10$ )  $\mu\text{M}$  in the study group was lower than the control group ( $16.28 \pm 9.47$ )  $\mu\text{M}$  and the difference was not significant ( $p > 0.05$ ). There was significant increase of MMP-8 activity ( $1024.87 \pm 488.49$ ) ng/ml in the study group in comparison ( $263.50 \pm 60.45$ ) ng/ml with the control group ( $p < 0.05$ ). There was significant increase activity of MMP-9 ( $2080.47 \pm 1712.94$ ) ng/ml in comparison with the control group ( $749.92 \pm 331.64$ ) ng/ml.

Observing the results of this study, it could be concluded that there was not significant decrease of the concentration of GSH that could caused accumulation of  $\text{H}_2\text{O}_2$ , recruitments and activation of macrophages and neutrophils to produced more MMP-8, MMP-9 which degrade most of elastin in matrix extracellular as the cause of lung emphysema.

## ABSTRACT

## THE IMPACTS OF CIGARETTE SMOKE TO GSH, MMP-8 AND MMP-9 IN PATHOGENESIS OF EMPHYSEMA

**Background** : Emphysema is a condition of lung characterized by abnormal and permanent enlargement of distal airspaces from terminal bronchiole, accompanied by destruction of their walls, and without obvious fibrosis. The aims of this study is to know the impacts of cigarette smoke in pathogenesis of emphysema. A cross-sectional analytical study was conducted to cigarette smokers with emphysema as the study group and cigarette smokers without emphysema as the control group.

**Methods** : The study variables were GSH concentration, MMP-8 and MMP-9 activity. The statistical analyses comprised of homogeneity, normality and independent T test. All participants are men, 18 patients are cigarette smokers with emphysema as the study group and 19 cigarette smokers without emphysema as the control group. The examination of GSH, MMP-8 and MMP-9 were using ELISA method.

**Results** : It was found that the decrease concentration of GSH ( $12.37 \pm 4.10$ )  $\mu\text{M}$  in the study group was lower than the control group ( $16.28 \pm 9.47$ )  $\mu\text{M}$  and the difference was not significant ( $p > 0.05$ ). There was a significant increase of MMP-8 activity ( $1024.87 \pm 488.49$ ) ng/ml in the study group in comparison ( $263.50 \pm 60.45$ ) ng/ml with the control group ( $p < 0.05$ ). There was an increase activity of MMP-9 ( $2080.47 \pm 1712.94$ ) ng/ml in comparison with the control group ( $749.92 \pm 331.64$ ) ng/ml, the difference was significant ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion** : There is not significant decreased of the concentration of GSH and there are significant increased of MMP-8 and MMP-9 activity which degrade most of elastin in matrix extracellular as the cause lung emphysema.

**Key word** : Emphysema, GSH, MMP-8 and MMP-9

## DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN .....	i
SAMPUL DALAM .....	ii
PRASYARAT GELAR .....	iii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
RINGKASAN .....	ix
SUMMARY .....	xiv
ABSTRACT .....	xix
DAFTAR ISI .....	xviii
DAFTAR TABEL .....	xxii
DAFTAR GAMBAR .....	xxiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMPIRAN .....	xxiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang masalah .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	6
1.3 Tujuan penelitian .....	6
1.4 Tujuan umum .....	6
1.5 Tujuan khusus .....	6
1.6 Manfaat penelitian .....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2,1 Organ paru.....	7
2.1.1 Anatomi Paru.....	9
2.1.2 Matriks ekstrasel (MES) .....	10
2.1.2.1 Kolagen .....	10
2.1.2.2 Elastin.....	10
2.1.2.3 Proteoglikan .....	11
2.1.2.4 Fibronektin .....	12
2.1.2.5 Laminin .....	13
2.1.3 Peranan Sel pada Paru .....	13
2.1.3.1 Netrofil .....	13
2.1.3.2 Makrofag Alveolar .....	14
2.1.3.3 Limfosit T .....	15
2.1.3.4 Eosinofil .....	15
2.1.3.5 Sel Dendrit .....	15
2.1.3.6 Sel Epitel .....	16
2.2 Penyakit Paru Obstruktif Kronik.....	16
2.2.1 Faktor Risiko .....	18
2.2.1 Etiologi .....	18
2.2.1.1 Asap Rokok .....	18
2.2.1.2 Polusi Udara dan lingkungan Kerja .....	19
2.2.1.3 Faktor Genetik .....	19
2.2.1.4 Faktor Lain .....	20
2.2.2 Patogenesis PPOK.....	22
2.2.2.1 Inflamasi.....	23
2.2.2.2 Stres oksidatif .....	23

2.2.2.3	Protease - antiprotease	24
2.3	Emfisema	24
2.3.1	Patogenesis Emfisema	24
2.3.1.1	Elastase - Antielastase	25
2.3.1.2	Oksidan – Antioksidan	25
2.3.1.2.1	Oksidan atau Radikal bebas	26
2.2.1.2.1.1	Produksi Radikal Bebas	26
2.3.1.2.1.1	Dampak terhadap inflamasi	30
2.3.1.2.1,2	Dampak oksidan terhadap Netrofil	31
2.3.1.2.1.3	Dampak oksidan terhadap Makrofag Alveolar	31
2.3.1.2.1.4	Dampak Negatif Oksidan	32
2.3.1.2.1.5	Dampak Negatif Terhadap terhadap Membran sel	33
2.3.1.2.1.6	Dampak Negatif Terhadap DNA	34
2.3.1.2.1.7	Dampak Negatif Terhadap Protein	34
2.3.1.2.1.8	Dampak Positif Oksidan	35
2.3.1.2.2	Antioksidan	35
2.3.1.2.2.1	Mekanisme Kerja Antioksidan	36
2.3.1.2.2.1.1	Antioksidan Pencegah	37
2.3.1.2.2.1.2	Antioksidan Pemutus Rantai	37
2.3.1.2.2.1.3	Superoksid Dismutase	39
2.3.1.2.2.1.4	Glutation	41
2.3.1.2.2.1.5	Glutation Peroksidase	42
2.3.1.2.2.1.6	Vitamin E	44
2.3.1.2.2.1.7	Vitamin C	44
2.3.1.2.2.1.8	Vitamin A	45
2.3.1.2.2.1.8	Seruloplasmin	45
2.3.1.2.2.2	Pertahanan Sel	45
2.3.1.2.2.2.1	Pertahanan Intrasel	46
2.3.1.2.2.2.2	Pertahanan Pada Membran Sel	46
2.3.1.2.2.2.3	Pertahanan Ekstrasel	46
2.3.1.3	Protease- Antiprotease	47
2.3.1.3.1	Klasifikasi Protease	48
2.3.1.3.1.1	Matriks Metaloproteinase	49
2.3.1.3.1.1.1	Struktur MMP	50
2.3.1.3.1.2	Kolagenase	51
2.3.1.3.1.2.1	Human Kolagenase	52
2.3.1.3.1.2.2	Kolagenase Netrofil (MMP-8)	52
2.3.1.3.1.3	Gelatinase	52
2.3.1.3.1.3.1	Gelatinase A (MMP-2)	53
2.3.1.3.1.3.2	Gelatinase B (MMP-9)	53
2.3.1.3.1.3.3	Makrofag Elastase (MMP-12)	54
2.3.2	Diagnosis Emfisema	55
2.3.2.1	Gambaran Klinis	55
2.3.2.1.1	Anamnesis	55
2.3.2.1.2	Pemeriksaan Fisik	55
2.3.2.2	Pemeriksaan Penunjang	56
2.3.2.2.1	Pemeriksaan Rutin	57
2.3.2.2.2	Pemeriksaan Faal paru	58
2.3.2.2.3	Pemeriksaan Radiologi	58
2.3.2.3	Pemeriksaan Khusus	59

2.3.2.3.1	Pemeriksaan Faal Paru .....	59
2.3.2.3.2	Uji-latih Kardiopulmoner .....	59
2.3.2.3.3	Uji Provokasi Bronkus .....	60
2.3.2.3.4	Uji Kortikosteroid .....	60
2.3.2.3.5	Analisis Gas Darah.....	60
2.3.2.3.6	Pemeriksaan CT-scan Toraks .....	60
2.3.2.3.7	Pemeriksaan Elektrokardiografi .....	61
2.3.2.3.8	Pemeriksaan Ekhokardiografi.....	61
2.3.2.3.9	Pemeriksaan Bakteriologi .....	61
2.3.2.3.10	Pemeriksaan Kadar Alfa-1 Antitripsin .....	61
2.3.2.3.11	Induksi Sputum .....	61
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b>		
3.1.	Kerangka konseptual Penelitian .....	63
3.2.	Keterangan kerangka konseptual.....	64
3.3.	Hipotesis .....	65
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>		
4.1	Jenis dan rancangan penelitian .....	67
4.2	Populasi .....	67
4.2.1	Besar sampel .....	68
4.2.1	Teknik pengambilan sampel .....	68
4.2.2	Variabel penelitian.....	69
4.2.4	Kriteria Penerimaan .....	69
4.2.5	Kriteria Penolakan .....	70
4.2.6	Kriteria Drop-Out .....	70
4.2.7	Definisi Operasional .....	71
4.3.	Bahan penelitian .....	72
4.4.	Instrumen penelitian .....	72
4.5.	Lokasi dan waktu penelitian .....	73
4.6.	Prosedur pengambilan dan pengumpulan data .....	73
4.7.	Tempat Penelitian .....	76
4.8.	Cara pengolahan data .....	76
4.9.	Kerangka Alur Penelitian .....	77
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>		
5.1	Distribusi menurut kelompok umur.....	78
5.2	Distribusi menurut jenis pekerjaan.....	79
5.3	Jumlah rokok yang dihisap setiap hari.....	80
5.4	Distribusi lama merokok (tahun) .....	82
5.5	Jumlah rokok yang dihisap setiap hari dikalikan lama merokok.....	82
5.6	Hasil pemeriksaan laboratorium.....	84
5.7	Hasil pemeriksaan densitas paru dengan CT-scan toraks.....	85
5.9	Hasil analisis pemeriksaan GSH, MMP-8 dan MMP-9.....	86

**BAB 6 PEMBAHASAN**

6.1.1 Hasil penelitian GSH sputum.....	92
6.1.2 Hasil penelitian MMP-8 sputum.....	95
6.1.3 Hasil penelitian MMP-9 sputum.....	96
6.1.4 Hasil temuan baru .....	98
6.1.5 Keterbatasan penelitian .....	99

**BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN**

7.1 Kesimpulan .....	100
7.2 Saran .....	100

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>103</b>
-----------------------------	------------



## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1.1	Tabel Distribusi Menurut Umur.....	79
Tabel 5.2	Tabel Distribusi Menurut Pekerjaan.....	80
Tabel 5.3	Tabel Jumlah batang rokok yang dihisap setiap hari.....	81
Tabel 5.4	Tabel Distribusi Menurut Lama Merokok (tahun).....	82
Tabel 5.5	Tabel Jumlah Rokok yang dihisap dikalikan lama Merokok.....	83
Tabel 5.6	Tabel Analisis hasil laboratorium .....	84
Tabel 5.7	Tabel Analisis pemeriksaan CT-Scan toraks .....	85
Tabel 5.3.2.	Tabel Analisis GSH, MMP-8 dan MMP-9 .....	86

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka Konseptual Penelitian.....	63
Gambar 2. Bagan Rancangan Kerja.....	76
Gambar 3. Kalibrator dan Spirometri.....	114
Gambar 4. Pemeriksaan Spirometri.....	115
Gambar 5. Alat Nebuliser.....	116

NAC mengandung sistein yang diperlukan untuk pembentukan GSH untuk menetralkan  $H_2O_2$  yang dapat memecah ikatan NFkB dengan Ikb. Sistein juga dapat menghambat aktivasi NFkB