

DISERTASI

PERAN GEN ADAM33 PADA PATOMEKANISME MOLEKULER PENYAKIT PARU OBSTRUKTIF KRONIK (PPOK)

*Kajian : Ekspresi mRNA gen ADAM33, kadar protein ADAM33,
IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9 dan Indeks Brinkmann.*

THE ROLE OF ADAM33 GENE IN MOLECULAR PATHOMECHANISM
OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE (COPD).
STUDY: ADAM33 GENE mRNA EXPRESSION, ADAM33, IL-6, IL-8,
IL-10 AND MMP-9 PROTEIN LEVELS, AND BRINKMANN INDEX

MUHAMMAD FACHRI
(NPM : P0200315003)



Optimization Software:
www.balesio.com

PROGRAM STUDI S3 KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019

DISERTASI

PERAN GEN ADAM33 PADA PATOMEKANISME MOLEKULER PENYAKIT PARU OBSTRUKTIF KRONIK (PPOK)

*Kajian : Ekspresi mRNA gen ADAM33, kadar protein ADAM33,
IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9 dan Indeks Brinkmann.*

THE ROLE OF ADAM33 GENE IN MOLECULAR PATHOMECHANISM OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE (COPD). STUDY: ADAM33 GENE mRNA EXPRESSION, ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10 AND MMP-9 PROTEIN LEVELS, AND BRINKMANN INDEX

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

MUHAMMAD FACHRI

P0200315003

Kepada

**PROGRAM STUDI S3 KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



DISERTASI

**PERAN GEN ADAM33 PADA PATOMEKANISME MOLEKULER
PENYAKIT PARU OBSTRUKTIF KRONIK (PPOK)**

***Kajian : Ekspresi mRNA gen ADAM33, kadar protein ADAM33,
IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9 dan Indeks Brinkmann***

Disusun dan diajukan oleh

MUHAMMAD FACHRI
Nomor Pokok P0200315003

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 6 Februari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,



Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, SpMK(K)
Promotor



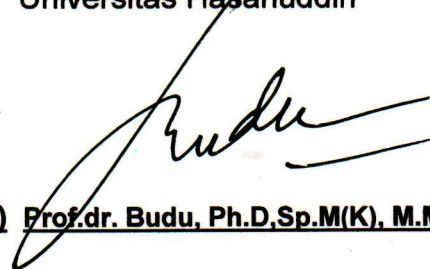

Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, PhD
Ko-Promotor



dr. Arif Santoso, SpP(K), PhD
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin



Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK (K) Prof.dr. Budu, Ph.D,Sp.M(K), M.Med.Ed



TIM PENILAI UJIAN PROMOSI DOKTOR

Promotor : Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, SpMK(K)

Ko-promotor : Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, PhD
dr. Arif Santoso, SpP(K), PhD

Penilai : Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, SpBS(K)
Prof. dr. Faisal Yunus, SpP(K), PhD
Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, Mkes
Prof. dr. Rosdiana Natzir, PhD, SpBiok
dr. Cahyono kaelan, PhD, SpS, SpPA
dr. Rahmawati Minhajat, PhD, SpPD-KHOM



PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Fachri
Nomor Mahasiswa : P0200315003
Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 06 Februari 2019

Yang menyatakan,

Muhammad Fachri



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allahusubhanawata'ala, Tuhan yang Maha Esa pemilik ilmu pengetahuan, atas rahmat dan karuniaNya lah disertasi penelitian ini berhasil penulis selesaikan.

Pembuatan disertasi ini berawal dari gagasan untuk meneliti tentang Penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) dengan karakteristik gejala pernapasan yang menetap dan keterbatasan aliran udara dikarenakan oleh abnormalitas saluran napas dan atau alveolus yang biasanya disebabkan oleh pajanan partikel-partikel berbahaya atau gas berbahaya. PPOK diperkirakan menjadi penyebab utama kematian ke-3 di dunia pada tahun 2020 dan akan meningkat dalam waktu mendatang karena penduduk terus terpajan dengan faktor risiko PPOK seperti pajanan asap rokok. Pajanan terhadap faktor risiko PPOK menyebabkan terjadinya peradangan atau inflamasi kemudian menyebabkan kerusakan paru. Kerusakan paru akibat PPOK dipengaruhi oleh faktor-faktor inflamasi seperti gen ADAM33 dan faktor lainnya seperti IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9. Masalah kesehatan ini yang mendorong penulis untuk meneliti faktor-faktor inflamasi seperti Ekspresi Gen ADAM33 (Ekspresi mRNA ADAM33 dan soluble ADAM33), sitokin proinflamasi (IL-6 dan IL-8) sitokin antiinflamasi (IL-10), MMP-9 dan efek merokok melalui Indeks Brinkmann yang menyebabkan terjadinya kerusakan paru.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Prof. dr. Mochammad Hatta,

) sebagai Promotor dan Purna Ketua Program studi S3 Ilmu
Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang dengan
perhatian dan kearifan senantiasa memotivasi penulis untuk maju,



membuka wawasan, membimbing, mendorong dan meluangkan waktu ditengah kesibukan untuk penulis sejak awal penelitian ini hingga akhir penulisan disertasi ini.

Ucapan terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya juga disampaikan kepada Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, sebagai Ko-Promotor sekaligus Wakil Rektor IV Universitas Hasanuddin Makassar yang telah dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan bimbingan, semangat, motivasi, ide dan membantu sejak awal penelitian hingga selesainya disertasi ini.

Terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya juga disampaikan kepada dr. Arif Santoso, Ph.D, SpP(K), sebagai Ko-Promotor dan sekaligus sebagai teman dan sahabat penulis yang telah meluangkan waktu dan penuh ketekunan dalam membimbing, memberikan perhatian dan masukan yang tulus sehingga selesainya disertasi ini.

Ucapan terimakasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya disampaikan kepada para penguji : Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, SpBS(K), Prof. dr. Faisal Yunus, SpP(K), PhD (Penguji eksternal), Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, Mkes, Prof. dr. Rosdiana Natzir, PhD, SpBiok, dr. Cahyono Kaelan, PhD, SpS, SpPA, dr. Rahmawati Minhajat, PhD, SpPD-KHOM.

Pada kesempatan ini, penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terimakasih yang tak terhingga kepada Ibu Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti sampai menyelesaikan Pendidikan Program Studi S3 Doktor Ilmu Kedokteran di Universitas Hasanuddin Makassar.

Ucapan terimakasih yang tak terhingga kepada Bapak Rektor Universitas Jakarta, Prof. Dr. Saiful Bahri, SH, MH yang telah berkenan memberi



penulis kesempatan untuk mengikuti Program Studi S3 Doktor. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan membalas amal kebajikannya.

Ucapan terimakasih kepada Dr. dr. Toha Muhaimin, MSc dan dr. Slamet Sudi Santoso, MPdKed, mantan Dekan Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Jakarta yang telah berkenan memberi penulis kesempatan untuk mengikuti Program Pendidikan Doktor. Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebajikannya.

Ucapan terimakasih kepada Prof. dr. Budu, Sp.M(K), Ph.D, MMedEd selaku dekan dan Prof Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, juga kepada dr. Agussalim Bukhari, M.Clin, Med, Ph.D, Sp.GK(K) Ketua Program Studi S3 Doktor Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, yang telah berkenan memberi penulis kesempatan untuk mengikuti Program Pendidikan Doktor. Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebajikannya.

Penulis juga menyampaikan banyak terimakasih kepada Direktur dan seluruh jajaran dari RS Islam Jakarta Pondok Kopi dan RS Islam Jakarta Sukapura yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di tempat tersebut. Terimakasih sedalam-dalamnya kepada Bapak Romi Usman, BSc dan Staff Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Bagian Mikrobiologi FK UNHAS yang telah banyak memberikan bantuan selama proses dan pemeriksaan sampel penelitian ini. Penghargaan terimakasih setinggi-tingginya kepada semua Pasien yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini, termasuk keluarga dan kerabatnya. Sehingga besar

hasil penelitian ini bermanfaat bagi pasien, umat manusia dan ilmu pengetahuan.



Rasa hormat dan sujud bakti ananda kepada ayahanda almarhum H. Marlys Umar, SE, MM dan Ibunda almarhumah dr. Hj. Amna Muchtar, Sp.JP, FIHA. Sangat besar peran orang tua yang telah sabar mendidik, membesarkan, mendorong dengan semangat dan memberikan nasihat yang sangat berarti kepada penulis. Semoga Allahusubhanawata'ala melapangkan kuburnya dan menerima amal serta ibadahnya. Rasa tersayang dan terimakasih kepada adinda dr. H. Muhammad Zaim, Sp.FK yang telah menjadi saudara yang baik dan kasih sayang dalam hidup bersaudara dan berkeluarga. Terimakasih yang tak terhingga atas segala jasa Ibu Mertua Hj. Suhartini Masna dan Bapak Mertua H. Amirudin Masna yang saya cintai dan selalu memberikan dukungan moral yang sangat berharga. Serta rasa terimakasih yang tak terhingga untuk adik-adik iparku, Aria Rajasa Masna, S.Kom dan dr. Astari Karina Masna, Sp.An

Yang terpenting semua keberhasilan ini adalah karena dukungan dari istriku tercinta dr. Ina Ariani Kirana Masna, Sp.P dan anandaku tersayang Muhammad Faiz Fachri dengan penuh kesabaran dan pengertian yang telah memberikan pengorbanan waktu dan senantiasa memberikan semangat selama penulis mengikuti sampai menyelesaikan Pendidikan, penelitian dan disertasi ini.

Semoga Allahusubhanawata'ala selalu melimpahkan Rahman dan Rahiim-Nya kepada seluruh pihak yang telah membantu pelaksanaan sampai selesainya disertasi ini dan kepada penulis sekeluarga.

Penulis menyadari tulisan ini masih jauh dari sempurna, terdapat kekurangan dan ketebatasan penelitian dan disertasi ini, kritik dan saran agar perbaikan tulisan ini sangat penulis harapkan. Semoga disertasi ini bermanfaat bagi kita semua dan Allahusubhanawata'ala memberkahi setiap usaha dan pengabdian kita, Aamiin Yaa



Akhirnya kata perkenankan penulis memohon maaf atas segala kesalahan dan kehilafan selama Pendidikan hingga selesainya disertasi ini.

Makassar, 14 Januari 2019

Muhammad Fachri



ABSTRAK

MUHAMMAD FACHRI Peran Gen ADAM-33 pada Patomekanisme Molekuler Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK): Kajian Ekspresi mRNA Gen ADAM-33, Kadar Protein ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9, dan Indeks Brinkmann (dibimbing oleh Mochammad Hatta, Muhammad Nasrun Massi, dan Arif Santoso).

Penelitian ini bertujuan mengetahui patomekanisme molekuler penyakit paru obstruktif (PPOK) stabil yang ditinjau dari hubungan ekspresi m-RNA gen ADAM-33, kadar soluble ADAM-33, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9, dan indeks Brinkmann.

Penelitian ini merupakan kajian kasus kontrol terhadap 37 pasien PPOK sebagai kelompok kasus dan 29 bukan pasien PPOK sebagai kelompok kontrol. Ekspresi gen m-RNA didapat dengan pemeriksaan *real time polymerase chain reaction* (RT-PCR). Kadar *soluble* didapat dengan pemeriksaan *enzyme immunosorbent linked assay* (ELISA).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ekspresi m-RNA gen ADAM-33, kadar *soluble* ADAM-33, IL-6, IL-8, IL-10, dan MMP-9 pada pasien PPOK dengan bukan pasien PPOK ($p < 0,001$). Terdapat korelasi linear bermakna antara kadar *soluble* IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9, ADAM-33, dan ekspresi m-RNA ADAM-33 dengan indeks Brinkmann pada pasien PPOK ($p < 0,001$). Terdapat korelasi bermakna ekspresi m-RNA ADAM33 dengan kadar *soluble* MMP-9 pada pasien PPOK ($r = 0,899$, $p < 0,001$). Terdapat korelasi bermakna kadar *soluble* ADAM-33 dengan kadar *soluble* MMP-9 pada pasien PPOK ($r = 0,967$, $p < 0,001$). Terdapat korelasi bermakna kadar *soluble* sitokain IL-6, IL-8, dan IL-10 dengan kadar *soluble* MMP-9 pada pasien PPOK ($p < 0,001$). Terdapat korelasi bermakna kadar *soluble* sitokain IL-6, IL-8, IL-10, dan ekspresi m-RNA gen ADAM-33 dengan kadar *soluble* ADAM-33 pada pasien PPOK ($p < 0,001$).

Kata kunci: pasien PPOK, gen ADAM-33, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9, ekspresi m-RNA, kadar *soluble*, reaksi inflamasi, patomekanisme PPOK



ABSTRACT

MUHAMMAD FACHRI. *The Role of ADAM33 gene in Molecular Pathomechanism of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Study: ADAM 33 Gene mRNA Expression, ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10, and MMP-9 Protein Levels, and Brinkmann Index* (supervised by **Mochammad Hatta, Muhammad Nasrum Massi, and Arif Santoso**)

This study aimed to determine the molecular pathomechanism of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) stable in terms of the relationship of ADAM33 gene mRNA expression, ADAM33 levels of soluble IL-6, IL-8, IL-10, and MMP-9, and Brinkmann Index


The study was a case control study of 37 patients with COPD in the case group and 29 non-COPD patients as the control group. The expression of the mRNA gene was obtained through the examination of the realtime polymerase chain reaction (RT-PCR). The soluble levels were obtained through the examination of enzyme linked to the immunosorbent assay (ELISA). The data analysis of Univariate and Bivariate with T-test parametric test (Independent sample t-test) and the non-parametric test (Spearman Correlation), and SPSS version 23 program.

The study results indicated that there were significant differences in the ADAM33 gene mRNA expression, soluble levels of ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10, and MMP-9 in COPD patients with non-COPD patients ($p < 0.001$). There was a significant linear correlation between the levels soluble IL-6, IL-8, MMP-9, ADAM33 and ADAM33 mRNA expression and Brinkmann Index in COPD patients ($p < 0.01$). There was a significant correlation between ADAM33 mRNA expression and the soluble MMP-9 levels in COPD patients ($r = 0.899$, $p < 0.001$). There was a significant correlation between the soluble ADAM33 levels and the soluble MMP-9 levels in COPD patients ($r = 0.967$, $p < 0.001$). There was a significant correlation between the levels of soluble cytokines of IL-6, IL-8, and IL-10, and the soluble MMP-9 levels in COPD patients ($p < 0.001$). There was a significant correlation between the levels of IL-6, IL-8, and IL-10 soluble cytokines and ADAM33 gene mRNA expression, and the soluble ADAM33 levels in COPD patients ($p < 0.001$). Thus, there was a role of ADAM33 gene, proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8, and the anti-inflammatory cytokines IL-10 as the biomarkers of inflammatory reaction and MMP-9 in matrix destruction in COPD patients. There was a significant correlation between smoking exposure dose (Brinkmann Index) with the soluble levels of IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9, ADAM33, and ADAM33 mRNA expression with COPD patients. There was an interaction between ADAM33 and MMP-9, and the interaction between cytokine IL-6, IL-8, and IL=10, and ADAM33 in the pathomechanism of COPD.

Keywords: *COPD patients, ADAM33 gene, IL-6, IL-8 IL-10, MMP-9, mRNA expression, soluble levels, inflammatory reaction, COPD pathomechanism*



DAFTAR ISI

	hal
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBARAN PENGESAHAN	iii
TIM PENILAI UJIAN PRA PROMOSI	iv
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GRAFIK	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SKEMA	xviii
DAFTAR TABEL	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1.Latar Belakang Masalah	1
1.2.Rumusan Masalah	5
1.3.Tujuan Penelitian	
1.3.1.Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	6
1.4.Manfaat Penelitian	
1.4.1.Aspek Pengembangan Ilmu	8
1.4.2.Aspek Aplikasi Klinis	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
 ru Obstruktif Kronik (PPOK)	9
Patofisiologi Gen ADAM33	40
Ekspresi mRNA gen ADAM33	41
Metode Pemeriksaan Ekspresi mRNA gen ADAM 33	42
1. Ekstraksi Asam Nukleat	42

2.2.2.2. Metoda Realtime PCR Untuk Menentukan Profil Ekspresi mRNA gen ADAM 33	43
2.2.2.3. Perhitungan Kurva Kalibrasi Dengan Ct (Cycle threshold)	46
2.3. Penanda Biologis IL-6	48
2.4. Penanda Biologis IL-8	50
2.5. Penanda Biologis IL-10	54
2.6. Penanda Biologis MMP-9	63
2.6.1. Struktur Matrix Metalloproteinase	63
2.7. Cara Kerja Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Untuk Menentukan Kadar Protein gen ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9	68
2.8. Mekanisme Inflamasi Terkait Dengan IL-6, IL-8, IL-10 Hubungan Dengan Penanda Biologis Gen Adam 33 Pada PPOK	70

BAB III KERANGKA TEORI

3.1. Kerangka Teori	79
---------------------	----

BAB IV KERANGKA KONSEP

4.1. Kerangka Konsep	80
4.2. Penjelasan Kerangka Konsep	80
4.3. Variabel	81
4.4. Hipotesis	82
4.5. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	83
4.5.1. Penyakit Paru Obstruksi Kronik (PPOK)	83
4.5.2. Kriteria PPOK Berdasarkan Gejala	83
4.5.3. PPOK Stabil Dalam Penelitian Ini	85
4.5.4. Status Merokok	85
4.5.5. Keterpaparan Merokok Dengan Indeks Brinkmann	85
4.5.6. Pengukuran Fungsi Paru Dengan Spirometer	85
4.5.7. Uji Bronkodilator	86
4.5.8. Penanda Biologis gen ADAM 33	86
4.5.8.1. Ekspresi mRNA gen ADAM 33	86
4.5.9. Penanda Biologis IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9 dan ADAM 33 Serum	89
4.5.9.1. Kadar Protein IL-6, IL-8, IL-10, MMP-9 dan ADAM 33 Serum	89

BAB V METODE PENELITIAN



Penelitian	91
Penelitian Target	91
Penelitian Terjangkau	91
Penelitian	91

5.3.1. Kriteria Sampel	91
5.3.1.1. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Kasus	91
5.3.1.2. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Kontrol	92
5.3.2. Teknik Sampling	92
5.3.3. Besar Sampel	92
5.4. Tempat dan Waktu	93
5.5. Instrumen Pengumpul Data	93
5.6. Rencana Pengolahan dan Analisis Data	94
5.7. Etika Penelitian	94
5.8. Alur Penelitian	95

BAB VI HASIL PENELITIAN

6.1. Karakteristik Subjek Penelitian	96
6.2. Peranan ADAM33 Pada Pasien PPOK	101
6.3. Peranan Sitokin Proinflamasi (IL-6, IL-8) dan Sitokin Antiinflamasi (IL-10) Pada Pasien PPOK	103
6.4. Kerusakan Matriks Metalloproteinase Pada Pasien PPOK	107
6.5. Interaksi Antara ADAM33, Sitokin (IL-6, IL-8, IL-10) dan MMP-9 Pada Patomekanisme PPOK	109
6.5.1. Interaksi ADAM33 Dengan MMP-9 Pada Patomekanisme PPOK	109
6.5.2. Interaksi Sitokain (IL-6, IL-8, dan IL-10) Dengan MMP-9	109
6.5.3. Interaksi Ssitokain (IL-6, IL-8, dan IL-10) Dengan ADAM33	110
6.6. Dosis Keterpaparan Rokok (Indeks Brinkmann) Terhadap Ekspresi mRNA ADAM33, Kadar Soluble ADAM33, Sitokin dan MMP-9 Pada PPOK	115
6.7. Hubungan Derajat PPOK berdasarkan gejala dan PPOK Derajat Obstruksi GOLD Dengan Biomarker (Kadar Soluble IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9 dan ADAM33)	119

BAB VII PEMBAHASAN

7.1. Karakteristik Subjek Penelitian	120
7.2. Peranan ADAM33 Pada Pasien PPOK	121
7.3. Peranan Sitokin Proinflamasi (IL-6, IL-8) dan Sitokin Antiinflamasi (IL-10) Pada Pasien PPOK	133
7.4. Kerusakan Matriks Metalloproteinase Pada Pasien PPOK	135
7.5. Interaksi Antara ADAM 33, Sitokin (IL-6, IL-8, IL-10) dan MMP-9 Pada patomekanisme PPOK	139
7.5.1. Interaksi ADAM33 Dengan MMP-9 Pada Patomekanisme PPOK	139
Interaksi Sitokain (IL-6, IL-8, dan IL-10) Dengan MMP-9	141
Interaksi Sitokain (IL-6, IL-8, dan IL-10) Dengan ADAM33	142



7.6. Dosis Keterpaparan Rokok (Indeks Brinkmann) Terhadap Ekspresi mRNA ADAM33, Kadar Soluble ADAM 33, Sitokin dan MMP-9 pada PPOK	143
7.7. Hubungan Derajat PPOK Berdasarkan Gejala dan PPOK Derajat Obstruksi GOLD Dengan Biomarker (Kadar Soluble IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9 dan ADAM33)	147
7.8 Keterbatasan Penelitian	150

BAB VIII KESIMPULAN DAN SARAN

8.1 Ringkasan	151
8.2 Kesimpulan	152
8.3 Saran	153

KEPUSTAKAAN	154
--------------------	-----

LAMPIRAN	173
-----------------	-----

DAFTAR GRAFIK

	Hal
1. Titik-titik Amplifikasi Pada <i>Realtime</i> PCR	47
2. Bloxplot Perbedaan Ekspresi mRNA Gen ADAM33 Pada Pasien PPOK dan bukan PPOK	102
3. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble Gen ADAM33 Pada PPOK dan bukan PPOK	103
4. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble IL-6 Pada Pasien PPOK dan Bukan Pasien PPOK	105
5. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble IL-8 Pada Pasien PPOK dan Bukan Pasien PPOK	106
6. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble IL-10 Pada Pasien PPOK dan bukan Pasien PPOK	107
7. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble MMP-9 Pada PPOK Dan Bukan PPOK	108
8. Grafik Regresi Linier Antara Kadar Soluble IL-6 Dengan Kadar Soluble ADAM 33 Serum Pada Pasien PPOK	112
9. Grafik Regresi Linier Antara Kadar Soluble IL-8 Dengan Kadar Ssoluble ADAM 33 Serum Pada Pasien PPOK	112



10. Grafik Regresi Linier Antara Kadar Soluble IL-10 Dengan Kadar Soluble ADAM33 Serum Pada Pasien PPOK	113
11. Grafik Regresi Linier Antara Kadar Soluble ADAM33 Dengan Kadar Soluble ADAM33 Serum Pada Pasien PPOK	114
12. Grafik Regresi Linier Antara Kadar Soluble ADAM 33 Dengan Kadar Soluble ADAM33 Serum Pada Pasien PPOK	114
13. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble ADAM 33 Dengan Setiap Derajat Indeks Brinkmann Pada Pasien PPOK	116
14. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble IL-6 Dengan Setiap Derajat Indeks Brinkman Pada Pasien PPOK	117
15. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble IL-8 Dengan Setiap Derajat Indeks Brinkman Pada Pasien PPOK	117
16. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble IL-10 Dengan Setiap Derajat Indeks Brinkman Pada Pasien PPOK	118
17. Bloxplot Perbedaan Kadar Soluble MMP-9 Dengan Setiap Derajat Indeks Brinkmann Pada Pasien PPOK	118

DAFTAR GAMBAR

	Hal
1. ABCD Assessment Tool	27
2. Kuesioner CAT	30
3. Kuesioner CAT (dalam Bahasa Indonesia)	31
4. Alat Real Time PCR	45
5. Struktur Dasar Dari Area MMP	64
6. Struktur MMP Berdasarkan Substrat Dan Lokasi	65
7. Struktur MMP Berdasarkan Substrat Dan Lokasi Dari MMP-9	68
8. Struktur MMP Berdasarkan Substrat Dan Lokasi Dari MMP-9	70
9. Struktur MMP Berdasarkan Substrat Dan Lokasi Dari MMP-9 pada Pasien Fenotip Asmatis	74



10. Komponen Patogenesis Genetik PPOK.	76
--	----

DAFTAR SKEMA

	Hal
1. Mekanisme Inflamasi Pada PPOK	13
2. Proses Inflamasi Pada PPOK	14
3. Kompleksitas Inflamasi Pada PPOK	16
4. Stres Oksidatif Pada PPOK	17
5. Inflamasi Sistemik dan Penyakit Penyerta Pada PPOK	21
6. Mekanisme Regulasi IL-10 Melalui Beberapa Jalur Hilir Dari TLR	56
7. Regulasi MMP	67
8. Mekanisme Inflamasi Pada PPOK	78

DAFTAR TABEL

	Hal
1. Klasifikasi PPOK Derajat Obstruksi GOLD	27
2. Kuesioner mMRC	29
3. Kuesioner mMRC (dalam Bahasa Indonesia)	30
4. Diagnosis PPOK	33
5. Area Saklar Sistein dan Ikatan Zn Pada MMP	66
6. Karakteristik Dasar Pasien PPOK dan Bukan PPOK	96
Derajat Pasien PPOK Berdasarkan Gejala	97
Pasien PPOK Derajat Obstruksi GOLD	97
Penyerta Pada Pasien PPOK	98



10. Korelasi Kadar Soluble IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9, ADAM33 dan Ekspresi mRNA ADAM33 Dengan Penyakit Penyerta Pada Pasien PPOK	99
11. Obat-obat Yang Digunakan Pasien PPOK Jangka Panjang	100
12. Korelasi Kadar Soluble IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9, ADAM33 dan Ekspresi mRNA ADAM33 Dengan Pemakaian Obat Jangka Lama Pada Pasien PPOK	100
13. Perbedaan Ekspresi mRNA Gen ADAM33 dan Kadar Soluble Gen ADAM33 Pada PPOK dan Bukan PPOK	101
14. Perbedaan Kadar Soluble IL-6, IL-8, IL-10 Pada Pasien PPOK dan Bukan PPOK	104
15. Perbedaan Kadar Soluble MMP-9 Serum Pada PPOK dan Bukan PPOK	108
16. Korelasi Kadar Soluble ADAM 33 dan Ekspresi mRNA ADAM 33 Dengan MMP-9 Pada Pasien PPOK dan Bukan Pasien PPOK	109
17. Korelasi Kadar Soluble Sitokain (IL-6, IL-8 dan IL-10) Dengan MMP-9	110
18. Korelasi Kadar soluble Sitokain (IL-6, IL-8 dan IL-10) Dengan ADAM33	111
19. Korelasi Kadar Soluble IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9, ADAM 33 dan Ekspresi mRNA ADAM33 dengan Indeks Brinkmann Pada PPOK Dan Bukan PPOK	115
20. Korelasi Kadar soluble IL-6, IL-10, IL-8, MMP-9 Dan ADAM33 Penyakit Penyerta pada Pasien PPOK dan Penggunaan Obat Dalam Waktu Lama Serta Dengan Derajat PPOK Berdasarkan Gejala dan PPOK Derajat Obstruksi GOLD	119



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) diperkirakan menjadi penyebab utama kematian ke-3 pada tahun 2020 di dunia dan akan meningkat dalam waktu mendatang karena penduduk terus terpajan dengan faktor risiko PPOK (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016). Prevalens PPOK pada populasi umum diperkirakan 1% dan meningkat secara bertahap hingga lebih 10% pada kelompok umur di atas 40 tahun (Fabbri LM, et al, 2006).

Obstruksi saluran napas pada PPOK berbeda sifatnya dengan penyakit asma. Pada PPOK bersifat irreversibel sedangkan asma bersifat reversibel. Proses inflamasi pada patomekanisme asma dan PPOK yang umumnya digunakan dan sitokin yang terlibat pada asma, seperti IL-4 dan IL-13 yang berbeda dengan sitokin pada PPOK, seperti IL-6, IL-8 dan IL-10. Penyakit asma dengan serangan sesak yang berulang dan inflamasi yang berulang dapat menyebabkan terjadinya remodeling pada saluran napas dan terjadi kerusakan matriks ekstraseluler, sedangkan pada PPOK inflamasi pada saluran napas juga terjadi remodeling dapat langsung menyebabkan terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler. Pada penyakit asma dengan inflamasi berulang dan terjadi remodeling pada saluran napas dengan pajanan kronik

gas beracun dapat menjadi PPOK yang disebut ACO (*asthma-
ap*) (Global Initiative for asthma, 2018).



Pada suatu penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa tingkat prevalens ACO dilaporkan 15 dan 55%, dengan variasi berdasarkan jenis kelamin dan usia; rentang yang luas ini mencerminkan kriteria yang berbeda untuk mendiagnosis asma dan PPOK (Global Initiative for asthma, 2018). literatur lain termasuk penelitian yang dilakukan oleh Lange P dkk pada penelitian berbasis populasi di kota Copenhagen, Denmark, mendapatkan subjek penelitian 8382 peserta, yang terdiri dari 2199 subjek bukan perokok, 5435 subjek perokok, 158 subjek pasien asma, 320 pasien PPOK, 68 pasien ACO dengan *early-onset asthma* dan 202 pasien ACO dengan *late-onset asthma*. Sehingga pada populasi di daerah tersebut dari 8382 subjek penelitiannya, terdapat 158 pasien asthma saja, 320 pasien PPOK saja dan 270 pasien ACO, ini menandakan perbandingan jumlah pasien ACO yang relatif banyak dibandingkan pasien asma saja dan PPOK saja (Lange P, et al, 2016).

Patomekanisme terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler diketahui karena peran soluble / protein yang dihasilkan oleh MMP (matriks metalloproteinase) yang lebih spesifik banyak diteliti pada berbagai literatur, yaitu oleh MMP-9. Peran MMP-9 ini menyebabkan terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler pada penyakit asma dan PPOK. Sehingga diduga pada PPOK lebih cepat dan lebih mudah terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler. Pada penelitian-penelitian yang terdapat pada beberapa literatur menunjukkan peningkatan kadar MMP-9 pada penyakit PPOK lebih tinggi dibandingkan pada asma. Pada *review article* oleh Katarzyna Grzela dkk berdasarkan penelitian dari Cataldo et al. 2002, Gagliardo et al. 2009, Lee et al. 2009, dan Mulya-em-jabbar et al. 1999, terdapat peningkatan kadar MMP-9



ditemukan dalam serum, dahak dan *bronchoalveolarlavage* dari pasien asma eksaserbasi. Pada pasien PPOK, *review article* tersebut berdasarkan penelitian oleh Brajer et al. 2008 dan Erlewyn-La-jeunesse et al. 2008 juga menunjukkan peningkatan kadar MMP-9 serum, yang lebih berkorelasi negatif dengan indeks Tiffeneau-Pinelli (rasio FEV1 / FVC). Tingkat dan aktivitas MMP-9 dari sampel sputum pasien PPOK menurut penelitian Culpitt et al. 2005, ditemukan 12 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Jadi peningkatan kadar MMP-9 serum pasien asma tidak setinggi pada pasien PPOK (Grzela K, et al, 2016).

Penelitian-penelitian terdahulu pada pasien asma dalam proses inflamasi telah diketahui terdapat peran gen ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) 33 dan sitokin-sitokin yang spesifik terlibat, tetapi sitokin-sitokin yang spesifik terlibat pada penyakit asma berbeda dengan pada PPOK seperti yang telah dijelaskan di atas pada patomekanisme terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler. Penelitian oleh Folley menunjukkan peningkatan regulasi ADAM33 dalam epitel bronkial aktif pada asma. (Foley SC, 2007). Penelitian Isao Ito menemukan bahwa ekspresi mRNA ADAM33 pada sel-sel otot polos pada pasien asma lebih tinggi dibanding kontrol ($p = 0,002$). (Ito I, et al, 2007).

Peran gen ADAM33 melalui ekspresi mRNA gen ADAM33 dan kadar soluble ADAM33 pada PPOK belum banyak diteliti pada PPOK, termasuk yang akhir-akhir ini terdapat pada beberapa literatur baru menjelaskan peran gen ADAM33 melalui polimorfisme gen tersebut. Seperti penelitian oleh wang dkk bahwa ADAM33 terlibat dalam patogenesis PPOK di populasi dengan mempengaruhi peradangan saluran napas dan respons



kekebalan tubuh. Inflamasi yang terjadi pada PPOK yang ditandai oleh perubahan pada sitokin-sitokin sebagai mediator inflamasi dapat lebih mudah terjadi bila pada seseorang tersebut terdapat polimorfisme pada gen ADAM33 yang mengkode inflamasi tersebut (Wang X, et al, 2014; Wang X, Li L, Xiao J, Jin C, Huang K, Kang X, Wu X, Lv F, 2009; Zhou DC, Zhou CF, Toloo S, Shen T, Tong SL, Zhu QX, 2015).

Asap rokok yang mengandung banyak partikel beracun kemungkinan besar dapat memperberat kerusakan matriks ekstraseluler jaringan paru pada penderita PPOK sebagaimana yg terjadi pada penyakit asma. Untuk mengetahui dosis pajanan asap rokok, salah satu cara yg dapat digunakan adalah mengukur Indeks Brinkmann pada setiap individu yg merokok. Indeks Brinkmann, yaitu jumlah batang rokok per hari dikalikan lama merokok dalam tahun.

pada penelitian ini akan mengetahui peran ekspresi gen ADAM33 dalam patomekanisme kerusakan jaringan matriks ekstraseluler berdasarkan teori inflamasi yang melibatkan sitokin-sitokin proinflamasi (IL-6 dan IL-8) dan antiinflamasi (IL-10) dan MMP-9 serta mengetahui efek dan mekanisme merokok dengan menggunakan Indeks Brinkmann pada pasien PPOK (Brinkmann GL, et al, 1962).



1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah tersebut di atas, maka permasalahan penelitian dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

Bagaimana peran ekspresi gen ADAM33 dalam patomekanisme kerusakan jaringan matriks ekstraseluler pada pasien PPOK berdasarkan teori inflamasi yang melibatkan IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9. Mengetahui efek dan mekanisme inflamasi merokok pada pasien PPOK.

Adapun uraian pertanyaan penelitian adalah sebagai berikut:

1.2.1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi mRNA gen ADAM33 dan kadar soluble ADAM33 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.2. Apakah terdapat perbedaan kadar soluble IL-6, IL-8 dan IL-10 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.3. Apakah terdapat perbedaan kadar soluble MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.4. Apakah terdapat hubungan ekspresi mRNA gen ADAM33 dan soluble ADAM33 dengan kadar soluble IL-6 dan IL-8 dan IL-10 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.5. Apakah terdapat hubungan kadar soluble IL-6, IL-8 dan IL-10 dengan kadar soluble MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?



Apakah terdapat hubungan ekspresi mRNA ADAM 33 dan kadar soluble ADAM33 dengan kadar soluble MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.7. Apakah terdapat hubungan Indeks Brinkmann dengan ekspresi mRNA ADAM33 dan kadar soluble ADAM33 pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.8. Apakah terdapat hubungan Indeks Brinkmann dengan MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK ?

1.2.9. Apakah terdapat hubungan Indeks Brinkmann dengan interleukin proinflamasi (IL-6 dan IL-8) dan interleukin antiinflamasi (IL-10) pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.2.10. Apakah terdapat hubungan interleukin proinflamasi (IL-6 dan IL-8), interleukin antiinflamasi (IL-10) dengan kadar soluble MMP-9 serum pada pasien PPOK dan bukan PPOK?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui peran ekspresi gen ADAM33 dalam patomekanisme kerusakan jaringan matriks ekstraseluler pada pasien PPOK berdasarkan teori inflamasi yang melibatkan IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9. Mengetahui efek dan mekanisme inflamasi akibat rokok pasien PPOK.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui perbedaan ekspresi mRNA gen ADAM33 dan kadar soluble ADAM33 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

2. Mengetahui perbedaan kadar soluble IL-6, IL-8 dan IL-10 pada PPOK dan bukan PPOK.



1.3.2.3. Mengetahui perbedaan kadar soluble MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.4. Mengetahui hubungan ekspresi mRNA gen ADAM33 dan soluble ADAM33 dengan kadar soluble IL-6 dan IL-8 dan IL-10 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.5. Mengetahui hubungan kadar soluble IL-6, IL-8 dan IL-10 dengan kadar soluble MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.6. Mengetahui hubungan ekspresi mRNA ADAM 33 dan kadar soluble ADAM33 dengan kadar soluble MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.7. Mengetahui hubungan Indeks Brinkmann dengan ekspresi mRNA ADAM33 dan kadar soluble ADAM33 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.8. Mengetahui hubungan Indeks Brinkmann dengan MMP-9 pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.9. Mengetahui hubungan Indeks Brinkmann dengan interleukin proinflamasi (IL-6 dan IL-8) dan interleukin antiinflamasi (IL-10) pada pasien PPOK dan bukan PPOK.

1.3.2.10 Mengetahui hubungan interleukin proinflamasi (IL-6 dan IL-8), interleukin antiinflamasi (IL-10) dengan kadar soluble MMP-9 serum pada

PPOK dan bukan PPOK.



1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Dari Aspek Pengembangan Ilmu

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan gambaran Patomekanisme molekuler gen ADAM33, IL-6, IL- 8, IL-10 dan MMP-9 pada pasien PPOK. Hasil ini diharapkan dapat menjadi acuan bahwa terdapat hubungan ekspresi mRNA gen ADAM33 dengan kadar soluble ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9 serta efek keterpaparan rokok (Indeks Brinkmann) pada pasien PPOK dan bukan PPOK khususnya pada orang Indonesia.

1.4.2. Manfaat Dari Aspek Aplikasi Klinis

Hasil penelitian diharapkan dapat dipakai sebagai petanda kerusakan matriks ekstraseluler pada saluran napas melalui peran ekspresi gen ADAM33 (ekspresi mRNA gen ADAM33 dan kadar soluble ADAM33), MMP-9, kadar sitokin (IL-6, IL-8 dan IL-10) pada pasien PPOK.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK)

A. Definisi

PPOK adalah penyakit paru kronik yang dapat dicegah dan diobati. dengan karakteristik gejala pernapasan yang menetap dan keterbatasan aliran udara dikarenakan oleh abnormalitas saluran napas dan atau alveolus yang biasanya disebabkan oleh paparan partikel-partikel berbahaya atau gas berbahaya. Penyebab utama kematian ke-3 diperkirakan adalah PPOK pada tahun 2020 dan akan meningkat dalam waktu mendatang karena penduduk terus terpajan dengan faktor risiko PPOK (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

B. Etiologi dan Epidemiologi PPOK

Prevalens PPOK pada populasi umum diperkirakan 1% dan meningkat secara bertahap hingga lebih dari 10% pada kelompok umur diatas 40 tahun (Fabbri LM, et al, 2006). Di indonesia diperkirakan terdapat 4,8 juta pasien dengan prevalens 5,6%. Angka ini bisa meningkat dengan semakin banyak jumlah perokok karena 90% pasien PPOK adalah perokok atau mantan perokok (Amin M, et al, 2016). Di Indonesia belum ada data yang akurat tentang prevalens PPOK. Berdasarkan hasil SUSENAS



(Survei Sosial Ekonomi Nasional) tahun 2001, sebanyak 54,5% penduduk laki-laki dan 1,2% perempuan merupakan perokok, 92,0% dari perokok menyatakan kebiasaannya merokok didalam ruangan ketika bersama keluarga atau teman-teman dengan demikian sebagian orang merupakan perokok pasif (Rasyid L, Fachri M, 2014).

Faisal Yunus dkk (dan kawan-kawan) melaporkan bahwa PPOK menduduki peringkat 5 dari jumlah pasien yang berobat serta menduduki peringkat 4 dari jumlah pasien yang dirawat di RS. Persahabatan dari tahun 1997 sampai tahun 1999. Diprediksi angka ini akan terus meningkat karena paparan terus menerus dengan faktor risiko seperti merokok dan polusi serta semakin meningkatnya jumlah orang berusia lanjut oleh karena meningkatnya usia harapan hidup orang Indonesia. Penyakit ini memberikan dampak yang besar terhadap kualitas hidup penderita dan keluarganya (Yunus F, 2000).

Menurut para ahli ada 2 faktor yang mempengaruhi terjadinya PPOK yaitu faktor eksogen dan endogen namun para ahli belum memiliki kesatuan tentang etiologi patogenesis. Faktor endogen (genetik) dapat bermanifestasi menjadi PPOK tanpa adanya pengaruh dari luar (eksogen), tapi yang banyak dijumpai adalah kecenderungan untuk PPOK akan meningkat akibat adanya interaksi antara faktor endogen dan eksogen (Halphin DMG, 2001).



C. Gejala PPOK

Gejala yang paling sering terjadi pada pasien PPOK adalah sesak napas. Sesak napas juga biasanya menjadi keluhan utama pada pasien PPOK karena terganggunya aktivitas fisik akibat gejala. Sesak napas biasanya menjadi keluhan ketika $VEP_1 < 60\%$ prediksi (Yuwono S, Hendarsyah S, 2014). Pasien biasanya mendefinisikan sesak napas sebagai peningkatan usaha untuk bernapas, rasa berat saat bernapas, *gaspings* dan *air hunger*. Batuk bisa muncul secara hilang timbul, tapi biasanya batuk kronik adalah gejala awal perkembangan PPOK. Gejala ini juga biasanya merupakan gejala klinis yang pertamakali disadari pasien (Pauwels RA, et al, 2004). Batuk kronik biasanya bisa muncul tanpa ada dahak (Vesbo J, et al, 2014). Faktor risiko PPOK berupa merokok, genetik, paparan terhadap partikel berbahaya, usia, hiperreaktivitas bronkus, status sosioekonomi dan infeksi.

Berikut gejala yang sering timbul pada PPOK :

- a. Sesak napas kronis dan progresif
- b. Batuk
- c. Produksi sputum
- d. Mengi disertai dada sesak
- e. Gejala penyerta: kelelahan, penurunan berat badan, anoreksia, sinkop, patah tulang rusuk, pergelangan kaki bengkak, depresi serta cemas (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

Patogenesis dan Patomekanisme PPOK



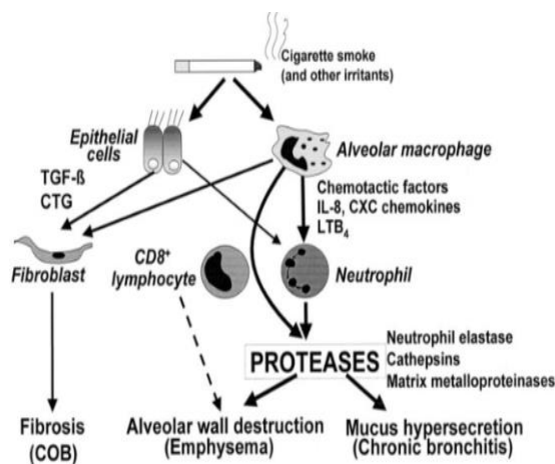
Perubahan patologi karakteristik PPOK ditemukan di saluran napas, parenkim dan vaskuler paru. Perubahan patologis akibat inflamasi kronik terjadi karena peningkatan sel inflamasi kronik di berbagai bagian paru yang menimbulkan kerusakan dan perubahan struktural akibat cedera dan perbaikan berulang. Secara umum, perubahan inflamasi dan struktural saluran napas akan tetap berlangsung sesuai dengan beratnya penyakit walaupun sudah berhenti merokok.

Perubahan patologis yang terjadi pada PPOK adalah pada saluran napas proksimal (trakea, bronkus diameter > 2 mm), terjadi perubahan struktural ; peningkatan sel goblet, pembesaran kelenjar submukosa (kedua-duanya menyebabkan hipersekresi mukus) metaplasia sel epitel skuamosa. Kemudian pada saluran napas perifer (bronkiolus diameter < 2 mm). Selanjutnya pada parenkim paru (bronkiolus pernapasan dan alveoli), terjadi perubahan struktural : kerusakan dinding alveolus, apoptosis sel epitel dan endotel, sehingga terjadi emfisema sentrilobuler (dilatasi dan kerusakan bronkiolus; paling sering terlihat pada perokok) dan emfisema panacinar (perusakan alveolus dan bronkiolus; paling sering terlihat pada kekurangan α -1 antitrypsin. Serta pada pembuluh darah paru terjadi perubahan struktural (penebalan intima, disfungsi sel endotel, penebalan otot polos (hipertensi pulmonal)).

Inflamasi saluran napas pasien PPOK merupakan amplifikasi dari respons inflamasi normal akibat iritasi kronik



seperti asap rokok (Skema. 1). Mekanisme untuk amplifikasi ini belum dimengerti, kemungkinan disebabkan oleh faktor genetik. Beberapa pasien PPOK dengan tanpa merokok, respons inflamasi pada pasien ini belum diketahui. Inflamasi paru diperberat oleh stress oksidatif dan kelebihan proteinase. Semua mekanisme ini mengarah pada karakteristik perubahan patologis PPOK.

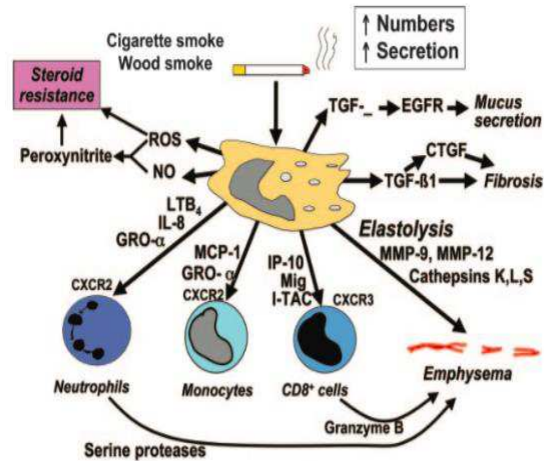


Skema 1. Mekanisme inflamasi pada PPOK.

((Dikutip dari: (Barners PJ, 2004))

Sel inflamasi PPOK ditandai dengan pola tertentu peradangan yang melibatkan peningkatan jumlah sel CD8+ (sitotoksik) Limfosit Tc1 yang terjadi pada perokok, Bersama sel netrofil, makrofag, melepaskan mediator inflamasi dan enzim yang berinteraksi dengan sel saluran napas, parenkim paru dan vaskular paru (Skema. 2).





Skema 2. Proses Inflamasi pada PPOK.

((Dikutip dari: (Barners PJ, 2004)).

Sel-sel yang menjadi sel inflamasi pada PPOK, antara lain:

Netrofil : meningkat dalam dahak perokok. Peningkatan netrofil pada PPOK sesuai dengan beratnya penyakit. Netrofil ditemukan sedikit pada jaringan. Keduanya mungkin berhubungan dengan hipersekresi mukus dan pelepasan protease.

Makrofag : banyak ditemukan di lumen saluran napas, perenkim paru dan cairan *bronchialveolar lavage* (BAL). Berasal dari monosit yang mengalami diferensiasi di jaringan paru. Makrofag meningkatkan mediator inflamasi dan protease pada pasien PPOK sebagai respons terhadap asap rokok dan menunjukkan fagositosis yang tidak sempurna.

Limfosit T : sel CD4⁺ dan CD8⁺ (Tc1) dan sel Th1 yang mensekresi interferon-γ dan mengekspresikan reseptor kemokin CXCR3, mungkin merupakan sel sitotoksik untuk sel-sel alveolar yang berkontribusi terhadap kerusakan alveolar.



Limfosit B : meningkat dalam saluran napas perifer dan folikel limfoid sebagai respons terhadap kolonisasi kuman dan infeksi saluran napas.

Eosinofil : meningkat di dalam sputum dan dinding saluran napas selama eksaserbasi

Sel epitel : mungkin diaktifkan oleh asap rokok sehingga menghasilkan mediator.

Berbagai macam mediator inflamasi yang telah terbukti meningkat pada pasien PPOK menarik sel inflamasi dari sirkulasi (faktor kemotaktik), menguatkan proses inflamasi (sitokin pro inflamasi) dan mendorong perubahan struktural (faktor pertumbuhan).

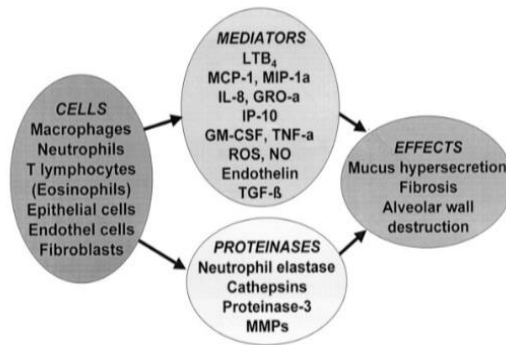
Berikut contoh-contoh mediator inflamasi dalam PPOK seperti pada skema. 3 :

Faktor kemotaktik : terdiri dari lipid mediator, misalnya, leukotriene B₄ (LTB₄) menarik netrofil dan limfosit T. Dan Kemokin, misalnya, IL-8 menarik netrofil dan monosit.

Sitokin Proinflamasi : misalnya TNF- α , IL-1 β dan IL-6 memperkuat proses inflamasi dan berkontribusi terhadap efek sistemik PPOK.

Faktor pertumbuhan : misalnya TGF- β dapat menyebabkan fibrosis pada saluran napas perifer.





Skema 3. Kompleksitas Inflamasi pada PPOK.

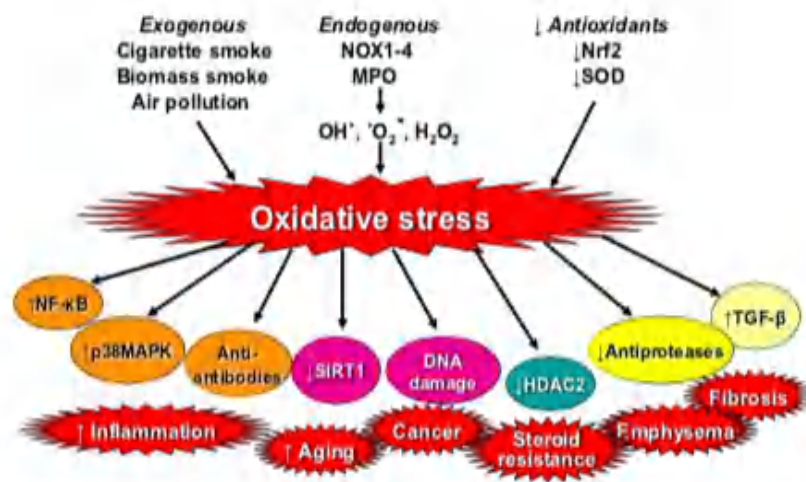
((Dikutip dari: (Barners PJ, 2004))

Stres oksidatif merupakan mekanisme penting dalam PPOK. Biomarker stress oksidatif (misalnya, Peroksida hydrogen, 8-iso-prostan) meningkat dalam dahak, kondensat hembusan napas dan sirkulasi sistemik pada pasien PPOK. Stres oksidatif meningkat saat eksaserbasi. Oksidan yang dihasilkan oleh asap rokok dan partikulat yang dihirup lainnya yang dilepaskan dari sel-sel inflamasi (seperti makrofag dan netrofil) diaktifkan. Mungkin juga ada penurunan antioksidan endogen pada pasien PPOK (Skema. 4).

Stres oksidatif memiliki beberapa konsekuensi yang merugikan di paru, termasuk aktivasi gen inflamasi, inaktivasi antiproteases, stimulasi sekresi lender dan stimulasi eksudasi plasma meningkat. Banyak dari efek samping dimediasi oleh *peroxynitrate*, yang dibentuk melalui interaksi antara anion superoksida dan oksidat nitrat. Oksida nitrat yang dihasilkan oleh sintase oksida nitrat induktif, terdapat pada saluran udara perifer dan parenkim paru pasien PPOK. Stres oksidatif juga dapat mencakup pengurangan dalam kegiatan histone deacetylase



pada jaringan paru dari pasien PPOK, yang dapat menyebabkan peningkatan ekspresi gen inflamasi dan juga pengurangan tindakan anti-inflamasi glukokortikosteroid. Yang menjadi peningkatan protease adalah *Serin protease*, *netrofil elastase*, *sistein proteinase* dan *matrix metalloproteinase* (MMPs (MMP-8, MMP-9, MMP12)). Sedangkan sebagai penurunan antiprotease adalah α -1 *antitrypsin* dan *tissue inhibitor of MMP-1-4* (TIMP 1-4).



Skema 4. Stres oksidatif pada PPOK.

((Dikutip dari: (Barners PJ, 2014))

E. Patofisiologi PPOK

Saluran napas dan paru berfungsi untuk proses respirasi yaitu pengambilan oksigen untuk keperluan metabolisme dan pengeluaran karbondioksida dan air sebagai hasil metabolisme. Proses ini terdiri dari tiga tahap, yaitu ventilasi, difusi dan perfusi.

Ventilasi adalah proses masuk dan keluarnya udara dari dalam paru. Difusi adalah peristiwa pertukaran gas antara alveolus dan



pembuluh darah, sedangkan perfusi adalah distribusi darah yang sudah teroksigenasi. Gangguan ventilasi terdiri dari gangguan restriksi yaitu gangguan pengembangan paru serta gangguan obstruksi berupa perlambatan aliran udara di saluran napas. Parameter yang sering dipakai untuk melihat gangguan restriksi adalah kapasitas vital (KV), sedangkan untuk gangguan obstruksi digunakan parameter volume ekspirasi paksa detik pertama (VEP₁) dan rasio volume ekspirasi paksa detik pertama terhadap kapasitas vital paksa (VEP₁/KVP) (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

Perubahan patologis karakteristik PPOK ditemukan di saluran napas, parenkim dan vaskular paru. Perubahan patologis akibat inflamasi kronik terjadi karena peningkatan sel inflamasi kronik di berbagai bagian paru yang menimbulkan kerusakan dan perubahan struktural akibat cedera dan perbaikan berulang. Secara umum, perubahan inflamasi dan struktural saluran napas akan tetap berlangsung sesuai dengan beratnya penyakit walaupun sudah berhenti merokok. Keterbatasan aliran udara dan *air trapping* merupakan salah satu perubahan fisiologi utama pada PPOK yang diakibatkan oleh adanya peradangan dan penyempitan saluran napas perifer (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

Mekanisme terjadinya PPOK adalah sebagai berikut:

1. Keterbatasan Aliran Udara dan *Air Trapping*



Penurunan VEP_1 merupakan gejala yang khas pada PPOK, obstruksi jalan napas perifer ini menyebabkan udara terperangkap dan mengakibatkan hiperinflasi. Hiperinflasi mengurangi kapasitas inspirasi seperti peningkatan kapasitas residual fungsional, khususnya selama latihan (kelainan ini sebagai hiperinflasi dinamis), yang terlihat sebagai *dyspnea* dan keterbatasan kapasitas latihan. Hiperinflasi yang berkembang pada awal penyakit merupakan mekanisme utama timbulnya sesak pada aktivitas.

2. Mekanisme Pertukaran Gas

Ketidakseimbangan pertukaran gas menyebabkan kelainan hipoksemia dan hiperkapnia yang terjadi karena beberapa mekanisme. Secara umum, pertukaran gas akan memburuk selama penyakit berlangsung.

3. Hipersekresi Mukus

Terjadi karena asap rokok atau iritasi polutan inhalasi yang mengakibatkan batuk produktif kronik, adalah gambaran dari bronkitis kronik tidak selalu dikaitkan dengan keterbatasan aliran udara. Beberapa mediator dan protease merangsang hipersekresi mukus melalui aktivitas reseptor faktor *epidermal growth factor receptor* (EGFR). Namun tidak semua pasien dengan PPOK memiliki gejala hipersekresi mukus.

4. Hipertensi Pulmoner

Respon inflamasi dalam pembuluh darah sama dengan yang terlihat di saluran napas dengan bukti terlihatnya

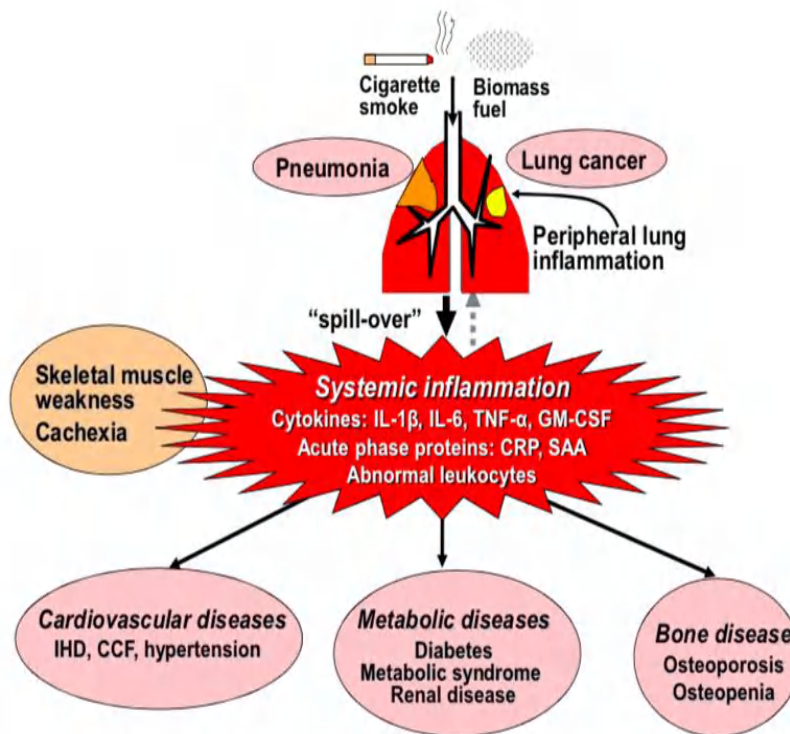


disfungsi sel endotel. Hilangnya kapiler paru pada emfisema juga dapat menyebabkan peningkatan tekanan dalam sirkulasi paru sehingga terjadi hipertensi pulmoner yang progresif sehingga mengakibatkan hipertrofi ventrikel kanan dan berlanjut menjadi gagal jantung kanan. (Halphin DMG, 2001; White AJ, 2004; Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

5. Gambaran Dampak Sistemik

Beberapa studi melaporkan bahwa PPOK memberikan gambaran sistemik, khususnya pada PPOK yang berat. Hal ini berdampak besar terhadap kualitas hidup. Kakeksia umumnya terlihat pada pasien PPOK berat, disebabkan oleh hilangnya massa otot rangka dan kelemahan otot akibat apoptosis yang meningkat dan atau tidak digunakannya otot-otot tersebut. Peningkatan proses osteoporosis, depresi dan anemia kronik juga terjadi pada PPOK. Peningkatan konsentrasi mediator inflamasi, termasuk TNF- α , IL-6, radikal bebas oksigen dan turunannya konsentrasi / kadar sitokin anti inflamasi, dapat menimbulkan efek sistemik. Peningkatan risiko penyakit kardiovaskuler, berkorelasi dengan peningkatan protein C-reaktif (CRP). Skema. 5 memperlihatkan hubungan PPOK dengan berbagai penyakit penyerta.





Skema 5. Inflamasi Sistemik dan penyakit penyerta pada PPOK.
(Dikutip dari: (Barners PJ, 2014))

Keterangan: Inflamasi paru perifer menyebabkan "meluapnya" sitokin seperti IL-6, IL-1 β dan tumour necrosis factor (TNF)- α , yang masuk ke dalam sirkulasi sistemik serta meningkatkan protein seperti C-reactive protein (CRP). Inflamasi sistemik juga mengakibatkan atrofi otot polos dan kaheksia serta menginisiasi perburukan kondisi komorbid dan meningkatkan kejadian kanker paru.

F. Faktor Risiko

a. Faktor Genetik

Risiko keluarga yang signifikan terhadap keterbatasan aliran udara telah diamati pada orang-orang yang merokok dan



merupakan saudara kandung. Hal itu menunjukkan bahwa genetika dengan faktor lingkungan dapat mempengaruhi kerentanan ini. Defisiensi hereditas yang berat dari *alpha-1 antitrypsin (AATD)* sebagai penghambat utama protease serin. Meskipun defisiensi *AATD* hanya relevan untuk sebagian kecil populasi dunia, namun ini menggambarkan interaksi antara gen dan eksposur lingkungan yang mempengaruhi individu.

Beberapa studi asosiasi genomik telah menghubungkan lokus genetik dengan PPOK (*VEP₁/KVP* sebagai fenotip) termasuk reseptor asetilkolin alfa-nikotin, protein interaksi (HHP) dan yang lainnya. Tetapi masih belum pasti apakah gen ini bertanggung jawab langsung terhadap PPOK atau hanya merupakan penanda gen kausal (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

Faktor yang paling sering terjadi adalah mutasi gen *Serphina-1* yang mengakibatkan kekurangan α -1 antitripsin sebagai inhibitor dari protease serin, sifat resesif ini sering terjadi pada penduduk asli Eropa Utara. Risiko obstruksi aliran udara yang diturunkan secara genetik telah diteliti pada perokok yang mempunyai keluarga dengan PPOK berat. Hasil penelitian menunjukkan keterkaitan bahwa faktor genetik mempengaruhi kerentanan timbul PPOK.

Usia dan Jenis Kelamin

Di Masa lalu, sebagian besar penelitian telah melaporkan bahwa prevalens dan mortalitas PPOK lebih besar laki-laki dari



pada perempuan, namun data terbaru prevalens PPOK sekarang hampir sama pada pria dan wanita. Walaupun masih kontroversial, beberapa penelitian bahkan mengatakan wanita lebih rentan terhadap efek asap tembakau daripada pria. Berdasarkan hasil penelitian Fani Shamara menunjukkan bahwa kelompok usia 60-69 tahun merupakan kelompok usia pasien PPOK stabil terbanyak yang berobat di klinik paru RS Islam Jakarta Sukapura Periode 18 Maret 2013 – 27 September 2014. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Muhammad Fachri yang melaporkan perbandingan nilai hormon testoteron dan *growth hormon* pada berbagai derajat PPOK stabil memperoleh jumlah pasien PPOK terbanyak dengan rerata 65 tahun. (Shamara F, Fachri M, 2014; Staton GW, 2006; Amin M, 2016)

c. Pertumbuhan dan Perkembangan Paru

Proses yang terjadi selama masa kehamilan, kelahiran dan proses selama masa kanak-kanak dan remaja mempengaruhi pertumbuhan paru. Fungsi paru yang dicapai maksimal bisa mengidentifikasi individu yang berisiko tinggi mengalami PPOK. Faktor apapun dapat mempengaruhi pertumbuhan paru selama masa gestasi dan anak-anak berpotensi meningkatkan risiko seseorang dalam perkembangan penyakit PPOK. Selain itu studi metaanalisa menyatakan bahwa berat lahir mempengaruhi nilai VEP_1 pada Masa kanak-kanak.

Pajanan Terhadap Partikel dan Gas Berbahaya



Diseluruh dunia, merokok merupakan faktor risiko yang paling sering pada pasien PPOK. Jenis tembakau dan ganja lainnya juga merupakan faktor risiko PPOK, paparan pasif terhadap asap rokok, juga diketahui sebagai asap rokok universal, yang dapat menyebabkan sesak napas dengan peningkatan jumlah partikel dan gas inhalasi di paru, sebuah studi observasional *cross-sectional* menunjukkan bahwa paparan terhadap debu dan asap di tempat kerja dilaporkan tidak hanya terkait dengan keterbatasan aliran udara dan gejala pernapasan, tetapi bisa terkait dengan emfisema.

e. Asma dan Hipereaktivitas Saluran Napas

Asma bisa menjadi faktor risiko perkembangan keterbatasan aliran udara kronik dan PPOK, pada studi epidemiologi tentang PPOK, orang dewasa dengan asma memiliki risiko PPOK 12 kali lipat lebih tinggi dari waktu ke waktu dibandingkan dengan mereka yang tidak menjadi pasien asma. Dalam survei kesehatan di Eropa, faktor risiko yang utama PPOK adalah merokok dan setelah merokok adalah hipereaktivitas saluran napas sebanyak 15% populasi yang berisiko tinggi. Untuk memisahkan asma dari PPOK pada orang dewasa sulit secara klinis. Respon hipereaktivitas saluran napas dapat terjadi tanpa diagnosis klinis asma dan telah terbukti sebagai pra independen.

Bronkitis Kronik



Dalam studi kesehatan oleh Fletcher dkk, bronkitis kronik tidak dikaitkan dengan penurunan fungsi paru yang dipercepat. Namun, penelitian selanjutnya telah mengamati hubungan antara hipersekresi mukus dan peningkatan penurunan VEP₁ dan pada orang dewasa muda yang merokok, kehadiran bronkitis kronik dikaitkan dengan kemungkinan peningkatan PPOK. Bronkitis kronik juga dikaitkan dengan peningkatan risiko pada Jumlah total serta tingkat beratnya eksaserbasi.

g. Infeksi Saluran Napas Berulang

Infeksi virus dan bakteri berperan dalam patogenesis dan progresivitas PPOK. Kolonisasi bakteri menyebabkan inflamasi jalan napas, berperan secara bermakna menimbulkan eksaserbasi. Riwayat infeksi pernapasan anak yang parah akan menyebabkan penurunan fungsi paru dan meningkatkan gejala pernapasan di masa dewasa. Kerentanan terhadap infeksi berperan dalam PPOK eksaserbasi namun efeknya pada pengembangan penyakit kurang jelas. Ada bukti bahwa infeksi HIV mempercepat timbulnya emfisema dan PPOK yang berhubungan dengan merokok, tuberkulosis juga telah diidentifikasi sebagai faktor risiko untuk PPOK. Riwayat Infeksi tuberkulosis berhubungan dengan obstruksi jalan napas pada usia lebih dari 40 tahun.

Sosial Ekonomi

Sosial ekonomi sebagai faktor risiko terjadinya PPOK belum dapat dijelaskan secara pasti. Kemajuan ekonomi dan



peningkatan daya beli menyebabkan peningkatan polusi udara dan berkembangnya berbagai industri serta peningkatan kendaraan bermotor. (Staton GW, 2006; Amin M, 2016)

G. Tipe Eksaserbasi

Klasifikasi beratnya eksaserbasi pada pasien PPOK eksaserbasi akut berdasarkan 3 gejala utama, yaitu peningkatan sesak, produksi sputum meningkat dan adanya perubahan konsistensi atau warna sputum sesuai yang tercatat pada rekam medis yang dikategorikan atas:

1. Tipe I (eksaserbasi berat): apabila memiliki 3 gejala utama
2. Tipe II (eksaserbasi sedang): apabila hanya memiliki 2 gejala utama
3. Tipe III (eksaserbasi ringan) apabila memiliki 1 gejala utama ditambah adanya infeksi saluran napas atas lebih dari 5 hari, demam tanpa sebab lain, peningkatan batuk, peningkatan mengi atau peningkatan pernapasan $> 20\%$ *baseline* atau frekuensi nadi $> 20\%$ *baseline* (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

H. Klasifikasi

- a. Klasifikasi PPOK Stabil Derajat Obstruksi GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Terdapat ketidak sesuaian antara nilai VEP_1 dan gejala pasien, oleh sebab itu perlu diperhatikan kondisi lain. Klasifikasi PPOK berdasarkan hasil pengukuran VEP_1 dan KVP (Kapasitas Vital Paksa dengan spirometri setelah pemberian bronkodilator



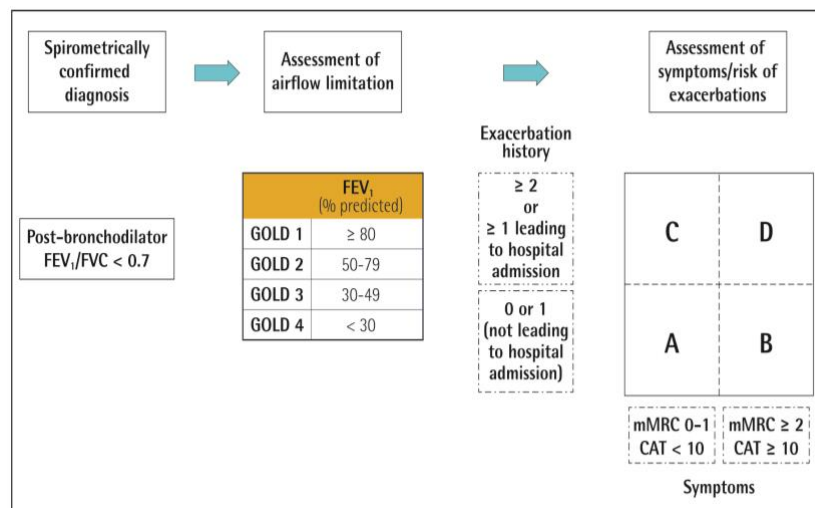
dibagi menjadi GOLD 1, 2, 3 dan 4. Pengukuran spirometri harus memenuhi kapasitas udara yang dikeluarkan secara paksa dari titik inspirasi maksimal (*Forced Vital Capacity*), kapasitas udara yang dikeluarkan (*Forced Expiratory Volume in One Second*) dan rasio kedua pengukuran tersebut. (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016)

Tabel 1. Klasifikasi PPOK Derajat Obstruksi GOLD

In patients with FEV ₁ /FVC < 0.70:		
GOLD 1:	Mild	FEV ₁ ≥ 80% predicted
GOLD 2:	Moderate	50% ≤ FEV ₁ < 80% predicted
GOLD 3:	Severe	30% ≤ FEV ₁ < 50% predicted
GOLD 4:	Very Severe	FEV ₁ < 30% predicted

(Dikutip dari: (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017))

b. Klasifikasi Derajat PPOK Berdasarkan Gejala Klinis/ Tipe PPOK



Gambar 1. ABCD Assessment Tool

(Dikutip dari: (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017))



Klasifikasi pasien PPOK berdasarkan gejala:

1. Kelompok A – Rendah risiko, sedikit gejala

Pasien dengan klasifikasi GOLD 1 atau 2, mengalami eksaserbasi paling banyak 1 kali dalam setahun dan tidak pernah mengalami perawatan rumah sakit akibat eksaserbasi, serta hasil penilaian *COPD Assessment Test* (CAT) score < 10 atau *Modified British Medical Research Council* (mMRC) grade 0-1

2. Kelompok B – Rendah risiko, banyak gejala

Pasien dengan klasifikasi GOLD 1 atau 2 mengalami eksaserbasi paling banyak 1 kali dalam setahun dan tidak pernah mengalami perawatan rumah sakit akibat eksaserbasi, serta hasil penilaian CAT score > 10 atau mMRC grade > 2.

3. Kelompok C – Tinggi risiko, sedikit gejala

Pasien dengan klasifikasi GOLD 3 atau 4, dan/ atau mengalami eksaserbasi sebanyak > 2 kali pertahun atau > 1 kali mengalami perawatan rumah sakit akibat eksaserbasi, serta hasil penilaian CAT score < 10 atau mMRC grade 0-1.

4. Kelompok D – Tinggi risiko, banyak gejala

Pasien dengan klasifikasi GOLD 3 atau 4, dan/ atau mengalami eksaserbasi sebanyak > 2 kali pertahun atau > 1 kali mengalami perawatan rumah sakit akibat eksaserbasi, serta hasil penilaian CAT score > 10 atau mMRC grade >2



(Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

I. Penilaian Gejala PPOK

a. Modified British Medical Research Council Questionnaire

Di Masa lalu, PPOK dipandang sebagai penyakit yang sebagian besar ditandai dengan sesak napas. ukuran sederhana sesak napas seperti mMRC.

Tabel 2. Kuesioner mMRC

PLEASE TICK IN THE BOX THAT APPLIES TO YOU (ONE BOX ONLY) (Grades 0-4)	
mMRC Grade 0. I only get breathless with strenuous exercise.	<input type="checkbox"/>
mMRC Grade 1. I get short of breath when hurrying on the level or walking up a slight hill.	<input type="checkbox"/>
mMRC Grade 2. I walk slower than people of the same age on the level because of breathlessness, or I have to stop for breath when walking on my own pace on the level.	<input type="checkbox"/>
mMRC Grade 3. I stop for breath after walking about 100 meters or after a few minutes on the level.	<input type="checkbox"/>
mMRC Grade 4. I am too breathless to leave the house or I am breathless when dressing or undressing.	<input type="checkbox"/>

(Dikutip dari: ((Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017))



Tabel 3. Kuesioner mMRC (dalam Bahasa Indonesia)

Skala mMRC Dyspnea yang telah dimodifikasi	
0	Sesak napas hanya muncul saat melakukan aktivitas yang melelahkan
1	Kehabisan napas ketika berjalan cepat di jalan yang datar atau berjalan yang menanjak
2	Berjalan lebih lambat dari pada orang-orang sebaya di jalan mendatar karena kehabisan napas, atau harus berhenti ketika berjalan dengan kecepatan normal di jalan mendatar
3	Berhenti untuk mengambil napas setelah beberapa menit berjalan dengan kecepatan normal di jalan mendatar
4	Napas terlalu sesak untuk dapat meninggalkan rumah atau untuk mengganti pakaian.

(Dikutip dari: (Amin M, et al, 2016))

b. COPD Assessment Test (CAT)

For each item below, place a mark (X) in the box that best describes you currently. Be sure to only select one response for each question.

Example: I am very happy (0) (X) (1) (2) (3) (4) (5) I am very sad

Item	Response Scale (0-5)	Item	Response Scale (0-5)	SCORE
I never cough	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	I cough all the time	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
I have no phlegm (mucus) in my chest at all	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	My chest is completely full of phlegm (mucus)	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
My chest does not feel tight at all	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	My chest feels very tight	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
When I walk up a hill or one flight of stairs I am not breathless	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	When I walk up a hill or one flight of stairs I am very breathless	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
I am not limited doing any activities at home	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	I am very limited doing activities at home	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
I am confident leaving my home despite my lung condition	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	I am not at all confident leaving my home because of my lung condition	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
I sleep soundly	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	I don't sleep soundly because of my lung condition	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
I have lots of energy	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	I have no energy at all	(0) (1) (2) (3) (4) (5)	<input type="checkbox"/>
				TOTAL SCORE <input type="checkbox"/>

Reference: Jones et al. ERJ 2009; 34 (3); 648-54.

Gambar. 2. Kuesioner CAT

(Dikutip dari: (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017))



Pertanyaan COPD Assessment Test.

Lembar pertanyaan ini akan membantu Anda dan Dokter Anda untuk menilai dampak PPOK (Penyakit Paru Obstruksi Kronik) terhadap kesejahteraan/kualitas hidup¹ dan kehidupan Anda sehari-hari. Jawaban-jawaban dan nilai skor Anda dapat digunakan untuk membantu memperbaiki penanganan PPOK dan untuk mendapatkan manfaat terbaik dari pengobatan. Untuk masing-masing pertanyaan di bawah ini, berilah jawaban yang tepat untuk menggambarkan kondisi Anda saat ini dengan memberi tanda silang (X) pada kotak. Pastikan Anda hanya memilih satu jawaban untuk masing-masing pertanyaan.

Contoh: Saya sangat gembira 0 1 2 3 4 5 Saya sangat sedih

Saya tidak pernah batuk	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Saya selalu batuk	<input type="text"/>
Saya tidak mengeluarkan dahak (riak) sama sekali	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Saya mengeluarkan atau dada saya penuh dengan dahak (riak)	<input type="text"/>
Saya tidak merasa ada-rasa berat (tertekan) di dada	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Saya merasa dada saya terasa berat (tertekan) sekali	<input type="text"/>
Ketika saya jalan mendaki / naik tangga, saya tidak sesak.	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Ketika saya jalan mendaki / naik tangga, saya sangat sesak	<input type="text"/>
Aktivitas saya sehari-hari di rumah tidak terbatas	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Aktivitas sehari-hari saya di rumah sangat terbatas	<input type="text"/>
Saya tidak khawatir keluar rumah meskipun saya menderita penyakit paru	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Saya sangat khawatir keluar rumah karena kondisi paru saya	<input type="text"/>
Saya dapat tidur dengan nyenyak	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Saya tidak dapat tidur nyenyak karena kondisi paru saya	<input type="text"/>
Saya sangat bertenaga	<input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Saya tidak punya tenaga sama sekali	<input type="text"/>
<small>COPD Assessment Test dan logo CAT merupakan merek dagang GlaxoSmithKline grup 2009 GlaxoSmithKline. Hak Cipta dilindungi.</small>			TOTAL SKOR
			<input type="text"/>

Gambar 3. Kuesioner CAT (dalam Bahasa Indonesia)

(Dikutip dari: (Amin M, et al, 2016))

COPD Assessment Test memberikan dampak simptomatik PPOK tetapi tidak mengategorikan pasien dalam kelompok keparahan gejala untuk tujuan pengobatan. *St. George's Respiratory Questionnaire*) adalah ukuran yang paling banyak digunakan: dengan skor < 25 jarang terjadi pada pasien PPOK yang terdiagnosis dan skor > 25 sangat jarang terjadi pada orang sehat (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).



J. Diagnosis

Gejala dan tanda PPOK sangat bervariasi, mulai dari tanda dan gejala ringan hingga berat. Pada pemeriksaan fisik mulai dari tidak ada kelainan sampai ditemukan kelainan yang jelas dan tanda inflasi paru. Diagnosis PPOK dipertimbangkan bila timbul tanda dan gejala secara rinci yang dapat dilihat pada

Tabel 4. Diagnosis PPOK

Gejala	Keterangan
Sesak Napas	Progresif dari waktu ke waktu Diperberat dengan aktivitas Menetap sepanjang hari
Batuk Kronis	Hilang timbul atau <i>unproductive</i> Mengi yang sering kambuh
Produksi sputum kronis Dan Infeksi saluran naoas bawah berulang	
Riwayat terpajan faktor risiko	Asap rokok Genetik Debu dan bahan kimia di tempat kerja Polusi udara
Riwayat keluarga dengan PPOK atau faktor pada masa kecil	Infeksi pernapasan pada masa kecil, berat badan pada saat lahir

(Dikutip dari: (Amin M, et al, 2016))



Diagnosis berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan foto thoraks dapat menentukan PPOK secara klinis. Apabila dilanjutkan dengan pemeriksaan spirometri akan dapat menentukan diagnosis PPOK sesuai dengan derajat penyakitnya.

Gambaran Klinis

1) Anamnesis

- a. Keluhan
- b. Riwayat Penyakit

Contohnya:

- Riwayat merokok atau bekas perokok dengan atau tanpa gejala pernapasan
- Riwayat terpajan zat iritan yang bermakna di tempat kerja
- Riwayat penyakit emfisema pada keluarga
- Batuk berulang dengan atau tanpa dahak
- Sesak dengan atau tanpa bunyi mengi

- c. Faktor Predisposisi

2) Pemeriksaan Fisis

PPOK umumnya tidak ada kelainan

- a. Inspeksi
- b. Palpasi
- c. Perkusi
- d. Auskultasi

Pemeriksaan Penunjang

- a. Faal Paru



1. Spirometri

Spirometri menggunakan alat ukur spirometer dapat mungkin secara obyektif berbagai hal, antara lain: beratnya derajat obstruksi jalan napas dan menilai perbaikan atau perubahan obstruksi setelah pengobatan

2. Uji bronkodilator

Dilakukan dengan menggunakan spirometer, bila tidak ada gunakan APE meter. Uji bronkodilator dilakukandengan memberikan obat bronkodilator inhalasi diantara dua pemeriksaan spirometry pada pasien PPOK stabil.

K. Tatalaksana

Prinsip penatalaksanaan PPOK diantaranya adalah sebagai berikut:

- Berhenti Merokok
- Terapi farmakologis dapat mengurangi gejala, mengurangi frekuensi dan beratnya eksaserbasi dan memperbaiki status kesehatan dan toleransi aktivitas.
- Regimen terapi farmakologis sesuai dengan pasien spesifik, tergantung beratnya gejala, risiko eksaserbasi, availabilitas obat dan respon pasien.
- Vaksinasi Influenza dan Pneumococcal

Semua pasien dengan napas pendek ketika berjalan harus diberikan rehabilitasi yang akan memperbaiki gejala, kualitas



hidup, kualitas fisik dan emosional pasien dalam kehidupannya sehari-hari (Rasyid L, Fachri M, 2014).

Terapi Farmakologi

A. Bronkodilator

Bronkodilator adalah pengobatan yang berguna untuk meningkatkan VEP_1 atau mengubah variable spirometri dengan cara mempengaruhi tonus otot polos pada jalan napas.

- β_2 Agonist (*short-acting dan long-acting*)

Prinsip kerja dari β_2 agonis adalah relaksasi otot polos jalan napas dengan menstimulasi reseptor β_2 adrenergik dengan meningkatkan C-AMP dan menghasilkan antagonisme fungsional terhadap bronkokonstriksi. Efek bronkodilator dari short acting β_2 agonist biasanya dalam waktu 4-6 jam. Penggunaan β_2 agonis secara reguler akan memperbaiki VEP_1 dan gejala. Penggunaan dosis tinggi short acting β_2 agonist pro renata pada pasien yang telah diterapi dengan long acting broncodilator tidak didukung bukti dan tidak direkomendasikan.

Long acting β_2 agonist inhalasi memiliki waktu kerja 12 jam atau lebih. Formoterol dan salmeterol memperbaiki VEP_1 dan volume paru, sesak napas, *health related quality of life* dan frekuensi eksaserbasi secara signifikan, tapi tidak mempunyai efek dalam penurunan mortalitas dan fungsi paru.



Salmeterol mengurangi kemungkinan perawatan di rumah sakit. Indacaterol merupakan Long acting β_2 agonist baru dengan waktu kerja 24 jam dan bekerja secara signifikan memperbaiki VEP_1 , sesak dan kualitas hidup pasien. Efek samping adanya stimulasi reseptor β_2 adrenergik dapat menimbulkan sinus takikardia saat istirahat dan mempunyai potensi untuk mencetuskan aritmia. *Tremor somatic* merupakan Masalah pada pasien lansia yang diobati obat golongan ini.

- Antikolinergik

Obat yang termasuk pada golongan ini adalah *Ipratropium*, *Oxitropium* dan *Tiotropium bromide*. Efek utamanya adalah memblokir efek asetilkolin pada reseptor muskarinik. Efek bronkodilator dari *short acting anticholinergic* inhalasi lebih lama dibanding *short acting β_2 agonist*. *Tiotropium* memiliki waktu kerja lebih dari 24 jam. Aksi kerjanya dapat mengurangi eksaserbasi dan hospitalisasi, memperbaiki gejala dan status kesehatan, serta memperbaiki efektivitas rehabilitasi pulmonal. Efek samping yang bisa timbul akibat penggunaan antikolinergik adalah mulut kering. Meskipun bisa menimbulkan gejala pada prostat tapi tidak ada data yang dapat membuktikan hubungan kausatif antara gejala prostat dan penggunaan obat tersebut.

B. Methylxanthine



Contoh obat yang tergolong methylxanthine adalah teofilin. Obat ini dilaporkan berperan dalam perubahan otot-otot inspirasi. Namun obat ini tidak direkomendasikan jika obat lain tersedia.

C. Kortikosteroid

Kortikosteroid inhalasi yang diberikan secara regular dapat memperbaiki gejala, fungsi paru, kualitas hidup serta mengurangi frekuensi eksaserbasi pada pasien dengan VEP₁ < 60 % prediksi.

D. Phosphodiesterase-4 inhibitor

Mekanisme dari obat ini adalah untuk mengurangi inflamasi dengan menghambat pemecahan intraselular C-AMP. Tetapi, penggunaan obat ini memiliki efek samping seperti mual, menurunnya nafsu makan, sakit perut, diare, gangguan tidur dan sakit kepala.

Terapi Farmakologis Lain

- Vaksin : vaksin pneumococcus direkomendasikan untuk pada pasien PPOK usia > 65 tahun
- *Alpha-1 Augmentation therapy* : Terapi ini ditujukan bagi pasien usia muda dengan defisiensi *alpha-1 antitripsin* herediter berat. Terapi ini sangat mahal, dan tidak tersedia di hampir semua negara dan tidak direkomendasikan untuk pasien PPOK yang tidak ada hubungannya dengan defisiensi *alpha-1 antitripsin*.



- Antibiotik : Penggunaannya untuk mengobati infeksi bakterial yang mencetuskan eksaserbasi
- Mukolitik (mukokinetik, mukoregulator) dan antioksidan: Ambroksol, *erdostein*, *carbocysteine*, *ionated glycerol* dan *N-acetylcysteine* dapat mengurangi gejala eksaserbasi.
- Immunoregulators (immunostimulators, immunomodulator)
- Antitusif : Golongan obat ini tidak direkomendasikan.
- Vasodilator
- Narkotik (morfin)
- Lain-lain : Terapi herbal dan metode lain seperti akupunktur dan hemopati) juga tidak ada yang efektif bagi pengobatan PPOK

Terapi non farmakologis lain

1. Rehabilitasi
2. Konseling nutrisi
3. Edukasi Terapi Lain

L. Pemantauan dan *Follow Up*

Follow up rutin penting pada penatalaksanaan semua pasien termasuk PPOK. Fungsi paru bisa diperkirakan memburuk, bahkan dengan pengobatan terbaik. Gejala dan pengukuran objektif dari keterbatasan aliran udara harus dimonitor untuk menentukan kapan dilakukan modifikasi



terapi dan untuk identifikasi beberapa komplikasi yang bisa timbul.

Pemantauan progresifitas penyakit dan komplikasi

- Spirometri

Penurunan fungsi paru terbaik diukur dengan spirometri, dilakukan sekurang-kurangnya setiap 1 tahun sekali. Kuesioner seperti CAT bisa dilakukan setiap 2 atau 3 bulan.

- Gejala

Pada setiap kunjungan, tanyakan perubahan gejala dari saat kunjungan terakhir termasuk batuk dan dahak, sesak napas, fatiq, keterbatasan aktivitas dan gangguan tidur.

- Merokok

Pada setiap kunjungan, tanyakan status merokok terbaru dan pajanan terhadap rokok. Pemantauan farmakoterapi dan terapi medis lain agar penyesuaian terapi sesuai sejalan dengan berjalannya penyakit, setiap *follow up* harus termasuk diskusi mengenai regimen terapi terbaru. Modifikasi terapi harus dianjurkan untuk menghindari polifarmasi yang tidak diperlukan.

11 Pemantauan Riwayat Eksaserbasi

Evaluasi frekuensi, beratnya dan penyebab terjadinya eksaserbasi. Peningkatan jumlah sputum, perburukan akut sesak



napas dan adanya sputum purulen harus dicatat. Penyelidikan spesifik terhadap kunjungan yang tidak terjadwal, panggilan telepon terhadap petugas kesehatan dan penggunaan fasilitas emergensi adalah penting. Tingkat beratnya eksaserbasi bisa diperkirakan dari peningkatan penggunaan obat bronkhodilator atau kortikosteroid dan kebutuhan terhadap terapi antibiotik. Perawatan di rumah sakit harus terdokumentasi, termasuk fasilitas, lamanya perawatan dan penggunaan ventilasi mekanik (Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; Amin M, et al, 2016).

2.2. Penanda Biologis Gen Adam (*A Disintegrin and metalloprotease*)³³

Gen ini mengkode anggota dari *family ADAM domain* (a disintegrin and metalloprotease). Anggota *family* ini secara struktur protein membrannya terkait dengan disintegrin bisa ular dan telah terlibat dalam berbagai proses biologi yang melibatkan sel-sel dan sel-matriks interaksi, termasuk fertilisasi, perkembangan otot dan neurogenesis. Protein ini adalah protein tipe I transmembran yang berpengaruh pada penyakit asma dan bronkial hiperresponsif. Hasil *splicing* alternatif pada beberapa transkrip varian mengkodekan *isoform* yang berbeda (Zhou DC, et al, 2015).

Gen ini memiliki organisasi domain identik dengan yang dilaporkan sebelumnya pada family ADAM, dan berisi *zinc* mengikat urutan konsensus

domain metalloprotease dan pola *sistein* lokalisasi di domain EGF-
misalnya motif. Protein manusia menunjukkan identitas 44%
opus ADAM13, 40% dengan ADAM19 manusia, dan 39% dengan



ADAM12 manusia. Yoshinaka dkk menunjukkan bahwa gen ADAM33 terdiri dari 22 ekson dan panjang lebih dari 14 kb dan memetakan gen ADAM33 manusia untuk kromosom 20p13. Van Eerdewegh dkk melakukan *scan genomewide* dari 460 keluarga Kaukasia dan diidentifikasi lokus pada kromosom 20p13 yang dikaitkan dengan asma dengan skor lod dari 2.94 dan untuk hyperresponsiveness bronkial dengan skor lod dari 3.93. Sebuah survei dari 135 polimorfisme di 23 gen mengidentifikasi gen ADAM33 dikaitkan dengan asma menggunakan kasus-kontrol, ketidakseimbangan transmisi dan analisis haplotype ($p=0,04$). Protein ADAM adalah suatu metalloproteases membrane memiliki fungsi beragam, termasuk terdapatnya protein permukaan sel seperti sitokin dan reseptor sitokin, Van Eerdewegh dkk menjelaskan identifikasi ADAM33 sebagai gen yang terkait asma harus berpengaruh dengan patogenesis dan riwayat penyakitnya (Yoshinaka, et al, 2002; Van Eerdewegh, et al, 2002).

2.2.1. Ekspresi mRNA gen ADAM33

A disintegrin and metalloproteinase 33, anggota *family* ADAM yang baru ditemukan, telah ditemukan berperan dalam patofisiologi asma. Serupa dengan anggota ADAM jenis protease lainnya, urutan aktif ADAM33 terletak pada *domain metalloprotease*, yang menyiratkan bahwa protein ini mendorong pemrosesan faktor pertumbuhan, berbagai molekul adhesi, sitokinin, dan reseptor sitokin. Ekspresi mRNA gen ADAM33 meningkat sesuai dengan

dan *remodelling* pasien asma (Foley SC, 2007). ADAM33 lebih spresikan pada sel otot polos, fibroblas dan myofibroblas, tetapi sel T, sel epitel, atau sel inflamasi. *A disintegrin and*



metalloproteinase 33 telah dikaitkan dengan peradangan alergi saluran udara, namun perannya dalam patofisiologi asma tetap harus dibuktikan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kim dkk memberikan wawasan penting mengenai mekanisme 1,25 (OH) 2D3 mengatur ekspresi ADAM33 yang diinduksi oleh *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan proliferasi sel ADAM, sebagai efek dari senyawa ini pada berbagai jalur pensinyalan seluler yang mendasarinya seperti tekanan fosforilasi *Vascular Endothelial Growth Factor* Receptor (VEGFR) 2 dan ERK 1 / 2. Temuan ini memperluas pengetahuan kita tentang peran 1,25 (OH) 2D3 dalam remodeling saluran napas, dan diharapkan dapat memungkinkan pengembangan terapi yang efektif untuk penyakit saluran napas seperti asma (Foley SC, 2007; Kim, et al, 2017).

2.2.2. Metoda Pemeriksaan Ekspresi mRNA gen ADAM33

2.2.2.1. Ekstraksi asam nukleat.

Volume sampel sekitar 100 µl darah dimasukkan ke dalam 900 µl larutan 'L6' yang terdiri dari 120g Guanidium thyocianate (GuSCN) (Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland, cat no. 50990) dalam 100 ml 0.1 M Tris HCl, pH 6.4, 22 ml 0.2 M Ethylen Diamine Tetra Acetat (EDTA) pH 8.0 dan 2.6g Triton X-100 (Packard, Instrumens) dengan konsentrasi akhir 50 mM Tris HCl, 5 M GuSCN, 20 mM EDTA, 0.1 % Triton X-100. Selanjutnya diputar dengan kecepatan 12.000 rpm. Sedimen ditambahkan suspensi diatom 20 µl yang terdiri dari 50ml 100 µl dari 32 % (w/v) 'Celite' ('diatom') (Jansen Chimica, Beerse, 846.79). Yang mana 20 µl suspensi diatom ini dapat mengikat 10 kemudian dilakukan "vortex" dan disentrifus di dalam tabung



ependorf 1.5 ml dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan sedimen dicuci dengan larutan 'L2' yang terdiri dari 120 g GuSCN dalam 100 ml 0.1 M Tris HCl, pH 6.4 yaitu dengan menambahkan 1 ml larutan 'L2'. Selanjutnya divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit, kemudian pencucian diulangi sebanyak 2 kali dengan menggunakan larutan 'L2', dilanjutkan dengan pencucian dengan 1 ml etanol 70% sebanyak 2 kali dan 1 ml aseton. Hasilnya kemudian dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 56°C selama 10 menit dan ditambahkan 60 µl larutan Tris-EDTA (TE) yang terdiri dari 1 mM EDTA dalam 10 mM Tris HCL pH 8.0, kemudian dilakukan vortex dan dilanjutkan sentrifuse dengan kecepatan 13.000 rpm selama 30 detik, kemudian diinkubasi dalam oven selama 10 menit pada suhu 56°C. Kemudian dilakukan vortex dan sentrifuse ulang selama 30 detik pada kecepatan 13.000 rpm dan diambil supernatannya. Supernatan dari proses ini akan diperoleh hasil ekstraksi nukleotida dan disimpan pada suhu -80°C sebelum dilakukan analisis PCR. (Boom, et al, 1990; Song, et al,1993; Hatta and Smits, 2007).

2.2.2.2. Metoda Realtime PCR Untuk Menentukan Profil Ekspresi mRNA gen ADAM33.

Proses pemeriksaan gen spesifik oligonukleotida primer untuk menentukan profil ekspresi mRNA gen ADAM33 dengan menggunakan Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) sebagai 'housekeeping gene' (internal control). Gen mRNA Adam33 dideteksi dengan

... primer spesifik *forward* dan *Reverse* : FW ADAM33, forward 5'-CCAGCTATTATC-3' dan reverse, 5'-TGGTTCAAGTTT-3'; dan GAPDH, forward 5'-



GGCCAAAAGGGTCATCATC-3' dan reverse, 5'-
GTGATGGCATGGACTGTGG-3'.

Pada Protokol PCR dilakukan penggandaan DNA dengan siklus 94°C selama 3 menit, siklus diulang 38 kali dengan 94°C (30 detik). Gen GAPDH dideteksi dengan menggunakan protokol PCR : 94°C (10 menit); 32 siklus 54°C (30 detik) sesuai dengan protokol Sung-Ho Kim. Kit yang digunakan adalah Macrogen dari Oligo™. Proses *Real-time reverse transcription-PCR* (QRT-PCR) menggunakan *One Step Sybr Green QRT-PCR master mix kit*. Protokol ini dioptimalkan untuk instrumen Mx4000. Protokol disesuaikan menggunakan instrumen dengan mengubah pengenceran pewarna berdasarkan petunjuk manual dan mengikuti instrumen pabrik yang direkomendasikan untuk program siklus RT-PCR (Giulietti A, Overbergh L, Valckx D, Decallonne C, Bouillon R, Mathieu C, 2001; Kim SH, 2017).

Referensi pewarna pasif dimasukkan dalam tabung reaksi, diencerkan 1:500. Larutan yang mengandung pewarna dijauhkan dari cahaya. Kemudian mengencerkan 2 x *SYBR @Green QRT-PCR master mix* dan disimpan di atas es serta mengikuti pencairan awal master mix, bagian yang tidak digunakan disimpan pada 40°C dengan catatan, menghindari siklus beku-cair yang berulang. *SYBR @Green* adalah senyawa yang berfluorescent yang digunakan untuk mewarnai DNA yang mengandung bahan N',N'-dimethyl-N-[4-[(E)-(3-methyl-1,3-benzothiazol-2-ylidene)methyl]-1-phenylquinolin-1-ium-2-yl]-N-propylpropane-1,3-diamine(IUPAC). Tabung reaksi percobaan disiapkan

dan tambahkan komponen-komponen berikut. Disiapkan campuran dalam tabung reaksi menggunakan beberapa komponen seperti di tabel 1. Campuran reagen dengan mengambil volume akhir 25 µl (termasuk



RNA percobaan)12,5 μ l dari 2 x *SYBR Green QRT-PCR master mix* ditambah x μ l dari primer awal (konsentrasi dioptimalkan) ditambah lagi Nuklease – bebas PCR – tingkat H2 x μ l primer akhir (konsentrasi dioptimalkan) dan juga 0,375 μ l larutan pewarna referens dari tahap 1 (pilihan) serta 1,0 μ l dari Reverse transcriptase (RT) yang membawa enzim modular polimerase dan ribonuclease H (RNase H) campuran enzim blok dengan 50 μ l total volume reaksi juga dapat digunakan. Tabung reaksi dicampur secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung (tidak dirotasi), kemudian distribusikan campuran ke tabung reaksi percobaan dengan menambahkan x μ l RNA percobaan pada setiap tabung reaksi. Tabung reaksi dicampur secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung (tidak dirotasi). Kemudian tabung reaksi disentrifus dengan singkat dan reaksi ditempatkan dalam instrumen dan program PCR siap dijalankan dengan menggunakan mesin Realtime PCR (CFX Connect system, Biorad Laboratories, Real Time PCR 96 well 0.1 ml, USA) (**Gambar 5**) (Kim SH, et al, 2017; Tang and Chen, 2009).



Gambar 4. Alat Real Time PCR



2.2.2.3. Perhitungan Kurva Kalibrasi dengan Ct (Cycle threshold).

Pengukuran kuantifikasi relatif ekspresi pada gen Human Telomerase RNA ADAM33 maka dibuat kalibrasi kurva dimana RNA GAPDH, sebagai 'housekeeping' enzim, digunakan sebagai kontrol endogen. Kurva kalibrasi sebagai xy (scatter) dan plot mewakili log dari jumlah input (log ng mRNA total awal) sebagai sumbu x dan Ct sebagai sumbu y. Persamaan yang berasal dari garis kurva kalibrasi. Dua rumus untuk log gen ADAM33 dan GAPDH adalah sebagai berikut:

Konsentrasi ekspresi mRNA gen ADAM33 = - slope X log (ng mRNA sampel awal) + Ct (r= 0.998).

Contoh:

Konsentrasi ekspresi mRNA gen ADAM33 = -3.26x + 28.63 (r=0,999)

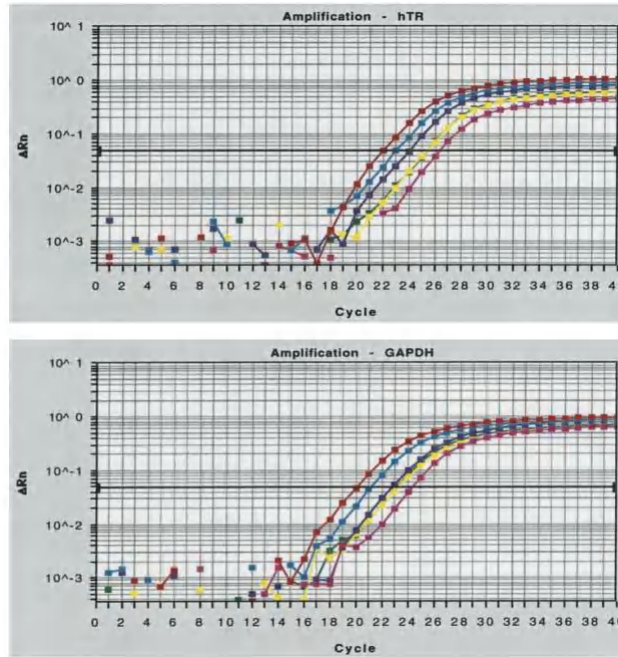
Konsentrasi ekspresi mRNA gen GAPDH = -3.19x + 26.46 (r= 0.997).

Biasanya berat sampel awal sekitar 50 ng mRNA (= log50 = 1.698)

Bila nilai Ct sampel adalah dimasukkan kedalam rumus untuk gen ADAM33 atau GAPDH maka konsentrasi gen ADAM33 atau GAPDH dapat dihitung. Untuk menormalkan perbedaan dalam jumlah total RNA ditambahkan ke setiap reaksi, GAPDH adalah terpilih sebagai kontrol RNA endogen. Normalisasi konsentrasi gen ADAM33, jumlah dengan sendirinya dapat digunakan untuk membandingkan jumlah relatif gen ADAM33 di berbagai sampel, ditentukan dengan membagi konsentrasi gen ADAM33 oleh konsentrasi GAPDH (Kim SH, et al, 2017). Tata cara kalibrasi tersebut juga

digunakan untuk mengukur amplifikasi gen ADAM33 dan GAPDH. Perhitungan ADAM33 tersebut akan menghasilkan grafik amplifikasi gen ADAM33 (grafik 1).





Grafik 1. Titik-titik amplifikasi pada *Realtime* PCR

(Dikutip dari: (Kim SH, et al, 2017))

Proses yang dilakukan untuk membandingkan 2 sampel gen, setelah RT-PCR maka dilakukan kuantisasi amplifikasi gen dengan menentukan ambang siklus (Ct). Kuantisasi relatif ekspresi gen hTR dievaluasi menggunakan metode perbandingan Ct. Nilai ΔCt ditentukan dengan cara mengurangi target Ct masing-masing sampel dengan nilai Ct dari β -actinnya. Perhitungan $\Delta\Delta Ct$ ialah nilai rata-rata ΔCt sampel ASC sebagai kalibrator dikurangi nilai rata-rata ΔCt sampel kelompok normal. Kelipatan perubahan dari ekspresi dari gen target yang setara dengan $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

RUMUS: Perbedaan kelipatan dalam membandingkan ekspresi gen 1 dengan ekspresi gen 2 = $[2^{-\Delta\Delta Ct}]$

dan diketahui :

{rata-rata (triplicate) Ct (ΔCt_1) sampel 1} – {rata-rata (triplicate) Ct sampel 2} (Kim SH, et al, 2017; Tang and Chen, 2009).



2.3. Penanda Biologis IL-6

Interleukin-6 (IL-6) adalah protein imun dari famili hematopoetin, memiliki banyak nama sebelumnya, antara lain adalah Interferon-SS2 (IFN-SS2), protein 26-kD, B-cell stimulasi factor-2 (BSF-2) , Hepatosit Stimulating Factor (HSF), Cytotoxic T-cell Differentiation Factor (CDF), Interleukin-HP1 (IL-HP1), Monocyte Granulocyte Inducer type 2 (MGI-2) dan Hybridoma/Plasmacytoma Growth Factor (HPGF/HGF), kemudian perbedaan itu berakhir setelah disepakati satu nama ialah IL-6 pada pertemuan ilmiah 'New York Academy of Sciences', 14 Desember 1988 (Sehgal, et al, 1995) Sitokin itu adalah monomer dari 184 asam amino yang diproduksi oleh sel T, makrofag dan sel endotel yang memiliki gen tunggal pada lokasi 7p21 (Sehgal, et al, 1986; Ray, et al, 1989).

Interleukin-6 memiliki peran penting dalam mekanisme pertahanan juga dikenal sebagai faktor hepatosit-stimulating, interferon β_2 , protein dengan bobot 26 kD, faktor pertumbuhan hibridoma, dan faktor perangsang sel B dan memiliki beberapa fungsi biologis beragam (Castell et al.,1988; Kishimoto ,1989; Hirano et al.,1990; Bauer and Herrman, 1991). IL-6 adalah sitokin pleiotropik yang dihasilkan oleh berbagai jenis sel imun dan non imun (Taga and Kishimoto,1997). Sitokin ini adalah pengimbas yang ampuh dari diferensiasi sel-B, sintesa imunoglobulin, dan respon fase akut (Akira and Kishimoto,1992), serta diproduksi di dalam otak oleh sel glial dan juga oleh sel

ada paparan terhadap rangsangan yang berbeda (Schobitz et al.,
et al., 1998).



Interleukin-6 merupakan sitokin *immunoregulator* yang mengaktifkan perakitan signaling permukaan sel terdiri dari IL-6, IL-6RA (IL-6R), dan berbagi sinyal reseptor gp130 (IL-6ST) (Boulanger, et al, 2003). Weissenbach dkk melakukan kloning cDNA (*complement deoxyribonucleic acid*) untuk mRNA (*messenger ribonucleic acid*) 1.3-kb, menggunakan IFNB2 (*interferon beta 2*), yang berbeda dari IFNB1 (*interferon beta 1*) dan diproduksi interferon biologis aktif dalam fibroblas manusia yang diinduksi. *Interferon beta 2* mRNA tidak berhibridisasi dengan probe IFNB1 cDNA dan sebaliknya (Weissenbach et al, 1980). Zilberstein dkk melakukan kloning cDNA full-length untuk IFNB2. Transkripsi dan translasi secara *in vitro* menunjukkan bahwa mengkode protein asam 212-amino dengan massa molekul dihitung dari 23,7 kb. IFNB2 memiliki 2 situs glikosilasi diduga dan sangat hidrofobik 30-amino acid N terminus, menunjukkan itu mungkin diproses sebelum sekresi (Zilberstein, et al, 1986).

Hirano dkk memperoleh cDNA *full-length encoding* BSF2 manusia. Protein ini disimpulkan mengandung 212 asam amino, termasuk asam 28-amino N-terminal signal peptida. Protein asam 184-amino dewasa memiliki massa molekul dihitung dari 20,7 kD (kilo Dalton). Sel T manusia memurnikan BSF2 yang memiliki massa molekul jelas dari 21 kD dengan SDS-PAGE. Analisis Northern blot mendeteksi mRNA 1.3-kb dalam limfosit diaktifkan dan sel T, tetapi tidak dalam limfosit yang tidak distimulasi. Seperti yang dibahas oleh Sehgal dkk, IFNB2 identik dengan BSF2. Hal ini juga identik dengan HGF, yang telah ditunjukkan untuk meningkatkan proliferasi hibridoma dan a sel (Hirano, et al, 1986; Sehgal, et al, 1987).

Boulanger dkk memecahkan struktur kristal kompleks sinyal IL-6-IL-6R-gp130 resolusi 3,65-angstrom, yang mengekspresikan



hexameric. Perakitan kompleks *hexameric* terjadi secara berurutan, yaitu : IL-6 pertama kali terlibat dengan IL-6R dan kemudian dipresentasikan kepada gp130 dalam geometri yang tepat untuk memfasilitasi transisi kooperasi ke dalam afinitas tinggi, *heksamer sinyal-kompeten*. Boulanger dkk juga mengemukakan bahwa struktur kuaterner dari selain IL-6 / IL-12 merupakan keluarga sinyal kompleks yang kemungkinan dibangun dengan cara cetak biru *topologic* yang serupa (Boulanger, et al,2003).

2.4. Penanda Biologis IL-8

Interleukin-8 (IL8) adalah anggota keluarga kemokin CXC Protein pengikat heparin kecil ini bersifat proinflamasi dan terutama memediasi aktivasi dan migrasi netrofil ke jaringan dari darah tepi (Hull, et al, 2001). Dengan menggunakan uji CAT dan RACE 3-prime, Yu dan Chadee menentukan bahwa lokasi IL-8 *polyadenylation* terletak di nukleotida 3152 dari daerah UTR yang tidak berurutan 1.248 basis. Analisis gen reporter menunjukkan bahwa peregangan yang kaya AU, unsur-unsur yang diketahui terlibat dalam destabilisasi mRNA, di region (nukleotida 2387 sampai 2743 DNA genom) UTR 3-utama sangat penting untuk penekanan posttranskripsi terhadap gen IL8 ekspresi (Yu dan Chadee, 2001). Modi dkk memetakan gen IL-8 menjadi 4q12-q21 oleh hibridisasi sel somatik dan hibridisasi in situ. Modi dkk menunjukkan bahwa ini adalah lokasi kromosom yang sama dengan 3 anggota lain dari faktor superfamili platelet factor-4: faktor platelet-4 (PF4; 173460), aktivitas stimulasi

melanoma (GRO1; 155730), dan interferon- Faktor gamma-
YB10; 147310) (Modi, et al, 1989, 1990).



Pemetaan hibrid radiasi telah mengindikasikan bahwa 11 gen mengkodekan keluarga kemokin CXC, IL-8 adalah menjadi anggotanya, berada pada kromosom 4q, mencakup wilayah sekitar 2,75 Mb (Modi dan Chen, 1998). Dengan analisis PCR dan pemetaan klon YAC, O'Donovan dkk melokalkan sejumlah gen kemokin CXC menjadi 4q12-q21. Mereka mengusulkan bahwa orde di wilayah ini adalah sentromer – IL-8 - GRO1 / PPBP (121010) / PF4 - SCYB5 (600324) / SCYB6 (138965) - GRO2 (139110) / GRO3 (139111) - SCYB11 (604852) - SCYB10 - MIG (601704) - telomere. Gen IL-8 dilokalisasi menjadi 4q12-q13 (O'Donovan, et al, 1999). Chemokines adalah kelompok kecil (sekitar 8-14 kD), sebagian besar merupakan molekul dasar dan terkait struktur yang mengatur perdagangan sel berbagai jenis leukosit melalui interaksi dengan subset dari 7-transmembran, reseptor protein G yang digabungkan. Chemokines juga memainkan peran mendasar dalam pengembangan, homeostasis dan fungsi sistem kekebalan tubuh dan efeknya pada sel-sel sistem saraf pusat dan juga pada sel endotel yang terlibat dalam angiogenesis atau angiostasis. Chemokines dibagi menjadi 2 subfamilies utama, CXC dan CC, berdasarkan susunan 2 pertama dari 4 residu sistein yang dilestarikan; 2 sistein dipisahkan oleh satu asam amino dalam kemokin CXC dan berdekatan dengan kemokin CC. Kemokin CXC dibagi lagi menjadi jenis ELR dan non-ELR berdasarkan ada tidaknya urutan glu-leu-arg yang bersebelahan dan terminal N dengan motif CXC (Strieter et al, 1995; Zlotnik dan Yoshie, 2000) .

Studi pada populasi Jepang, Emi dkk menunjukkan hubungan antara alel kemokin IL-8 dan panbronchiolitis difus (604809), penyakit paru kronis yang ditemukan terutama di populasi Asia. Interleukin-8 telah



terlibat dalam patogenesis infeksi saluran pernapasan bawah bronkiolitis, yang disebabkan oleh virus pernapasan syncytial (RSV). Penyakit ini bertanggung jawab atas epidemi utama setiap tahun, dengan ribuan bayi membutuhkan perawatan di rumah sakit. Kadar IL-8 yang tinggi ditemukan pada sekret hidung dan aspirasi trakea pada bayi dengan bronkiolitis RSV, dan tingkat IL-8 tampaknya berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit (Smyth et al, 2000).

Bruun dkk. (2001) menyelidiki apakah IL-8 diproduksi di jaringan adiposa manusia secara in vitro. Pada fragmen jaringan adiposa, interleukin 1-beta (IL1B; 147720) (3 nM) dan tumor necrosis factor-alpha (TNFA; 191160) (0,6 nM) mampu merangsang produksi IL-8 masing-masing 12 kali lipat dan 5 kali lipat, Saat diinkubasi selama 48 jam. Inkubasi dengan adiposit terisolasi dilakukan hingga 6 jam, dan IL-1B dan TNF- α meningkatkan produksi IL-8 secara signifikan sebesar 50 sampai 60%. Dexamethasone (50 nM) menurunkan produksi IL-8 dari fragmen jaringan adiposa sebesar 57% dan dari adiposit sebesar 37%. Efek sitokin proinflamasi dan deksametason pada produksi IL-8 pada jaringan adiposa tampaknya dimediasi pada tingkat transkripsi. Para penulis menyimpulkan bahwa IL-8 diproduksi dan dilepaskan dari jaringan adiposa manusia dan dari adiposit yang terisolasi secara in vitro, yang dapat mengindikasikan bahwa IL-8 dari jaringan adiposa dapat dilibatkan dalam beberapa komplikasi terkait obesitas.

Interleukin-8 menginduksi mobilisasi cepat sel progenitor hematopoietik (HPC). Mobilisasi dapat dicegah sepenuhnya pada tikus dengan *pretreatment* dengan anti-IL-8. Anti-IL-8 juga dapat mencegah mobilisasi HPC. Anti-IL-8 dapat menjadi inhibitor yang efektif penetralsir terhadap beta-2-integrin Lfa1 (CD11A; 153370).

Anti-IL-8 juga dapat mencegah mobilisasi HPC *murine* tidak mengekspresikan Lfa1, menunjukkan bahwa HPC memerlukan populasi sel aksesori. Pruijt dkk. (2002) menunjukkan



bahwa sel polimorfonuklear (PMN) berfungsi sebagai pengatur utama dalam mobilisasi HPC yang menginduksi IL-8. Peran PMN dipelajari pada tikus yang diberi neutropenik dengan pemberian satu dosis antibodi antineutrofil. Neutropenia absolut diamati hingga 3 sampai 5 hari, dengan netrofil rebound pada hari ke 7. Kapasitas penggerak yang diinduksi IL-8 berkurang secara signifikan selama fase neutropenik, muncul kembali dengan kekambuhan PMN dan meningkat secara proporsional selama fase netrofil. Data menunjukkan bahwa mobilisasi HPI yang diinduksi IL-8 memerlukan aktivasi PMN beredar secara in vivo (Pruijt, et al, 2002).

Cystic fibrosis yang disebabkan oleh mutasi pada gen CFTR, ditandai dengan peradangan paru yang berat. Proses peradangan disebabkan oleh kelebihan produksi IL-8 sebagai protein proinflamasi, dan tingkat IL-8 yang tinggi di *Cystic fibrosis* paru, sebagai mekanisme sentral di balik patofisiologi *Cystic fibrosis* paru. Srivastava dkk. menunjukkan bahwa digitoksin, pada konsentrasi sub-nM, dapat menekan hipersekresi IL-8 dari sel epitel paru CF yang dikultur. Beberapa glikosida jantung lainnya juga aktif namun dengan potensi lebih sedikit. Mekanisme khusus tindakan digitoksin adalah untuk memblokir fosforilasi inhibitor faktor nuklir kappa-B. Fosforilasi ini merupakan langkah yang diperlukan dalam pengaktifan jalur sinyal NF-kappa-B (lihat 164011) dan ekspresi IL-8 berikutnya. Digitoksin juga memiliki efek pada ekspresi gen global pada sel *Cystic fibrosis*. Srivastava dkk menemukan bahwa gen informatif yang ditunjukkan oleh garis sel *Cystic fibrosis* epitel, 58 secara signifikan dipengaruhi oleh terapi gen dengan CFTR wildtype. Dari 58 gen (62%) juga terpengaruh oleh digitoxin dan analog aktif yang terkait. Interpretasikan hasil ini karena menyarankan bahwa digitoxin juga dapat



secara parsial meniru konsekuensi genom terapi gen dengan CFTR. Srivastava dkk mengemukakan bahwa digitoxin, dengan sejarah panjang penggunaannya manusia, harus dianggap sebagai obat kandidat untuk menekan inflamasi paru tergantung IL-8 pada *Cystic fibrosis* (Srivastava, et al, 2004).

2.5. Penanda Biologis IL-10

Respon inflamasi pasca cedera otak sekunder pada ruang intrakranial akan menyebabkan kerusakan jaringan sedang di sisi lain secara simultan terjadi mekanisme perbaikan jaringan saraf (Benveniste, et al. 1995; Balasingam and Yong, 1996; Heesen et al, 1996; Kossman, et al,1996,1997). Sitokin anti inflamasi seperti: IL-10, IL-4, IL-13 dan TGF- β 1 berperan menghambat beberapa aspek proses neuroinflamasi dengan menghambat IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α serta menekan regulasi dan ekspresi Major Histocompatibility Complex-class II (MHC-II), radikal bebas, T-cell, adhesi leukosit dan proliferasi astrosit (de Waal Malefyt et al, 1991; Wahl, 1994). Interleukin-10 menghambat adhesi leukosit ke endotel dan ekstravasasi leukosit melewati SDO serta menghambat produksi ROS dan RNS oleh makrofag (Cunha, et al, 1992; Krakauer, 1995; Knoblach and Faden, 1998; Morganti-Kossmann, et al, 2001; Blumbergs, et al, 2008).

Interleukin-10 yang juga dikenal sebagai Human Cytokine Synthesis Inhibitory Factor (CSIF) merupakan protein homodimer yang terdiri atas subunit

hino (Zdanov, et al, 1995; Eksdale, et al, 1997). Respon imun yang ik kedua antigen terhadap yang mereka terpasang dan kelas diinduksi. Misalnya, humoral (*antibodi-mediated*) dan tertunda-

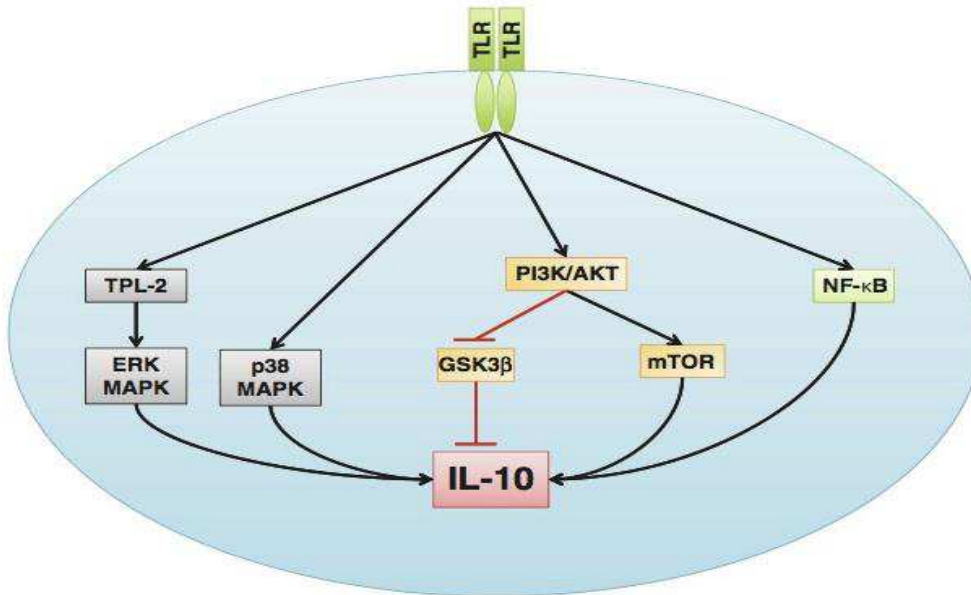


jenis hipersensitivitas (DTH) respon dapat saling eksklusif. Kusta tuberkuloid disertai dengan respon DTH yang kuat yang pada akhirnya membunuh dan membersihkan basil, sementara pada kusta lepromatosa, dengan imunitas diperantarai sel yang lemah, organisme berkembang biak dan penyakit terus berlanjut. Pada tikus ada faktor penghambat sintesis sitokin yang disarankan oleh penelitian dari helper klon T-sel yang berbeda dalam fungsi efektor dan sekresi sitokin patterns. Vieira dkk menunjukkan adanya sitokin manusia faktor sintesis penghambatan, yang juga disebut IL-10. Dengan studi klon cDNA encoding IL-10 manusia diisolasi dari toksin tetanus khusus clone T-sel manusia, mereka menemukan bahwa IL-10 mouse, yang homolog dengan manusia menunjukkan DNA yang kuat dan asam amino urutan homologi ke open reading frame di Epstein-Barr virus (Vieira, et al, 1991).

Pengaturan regulasi dari IL-10 terjadi di makrofag dan sel dendrit dengan ketegantungan stimulasi dari Pattern Recognition Receptors (PRR) dan banyak keluarga dari PRR dan yang diteliti adalah Toll-Like Receptor (TLR)(Akira and Takeda, 2004). Aktivasi sinyal melalui beberapa TLR akan menginduksi IL-10 (Saraiva and O'Garra, 2010). Pengikatan ligan dari TLR akan mengaktifkan jalur MAPK yaitu ERK dan p38. Jalur Akt dan NFkB juga melakukan modulasi produksi Il-10. ERK juga diaktivasi oleh Tumor Progression Locus-2 (TPL-2) dan beberapa studi membuktikan peran penting TPL-2 dalam regulasi Il-10 (Skema. 5) (Yi, et al, 2002; Dillon, et al, 2004; Banerjee, et al, 2006; Jarnicki, et al, 2008; Kim, et al, 2008; Kaiser, et al, 2009;

2014).





Skema 5. Mekanisme regulasi IL-10 melalui beberapa jalur

hilir dari TLR

(Dikutip dari: (Howes, et al, 2014))

Gesser dkk mengidentifikasi 2 domain fungsional IL-10 mengarahkan kegiatan IL-10 yang berbeda, pengamatan yang menunjukkan bahwa segmen yang relatif kecil protein sinyal ini bertanggung jawab untuk fungsi-fungsi biologis tertentu. Pinderski Oslund dkk menemukan bahwa blok IL-10 peristiwa aterosklerosis in vitro dan in vivo. Terkeltaub mengemukakan bahwa IL-10 dapat menangkap dan membalikkan respon inflamasi kronis pada aterosklerosis ditetapkan. Franchimont dkk meneliti kemampuan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) dan IL-10 untuk berbeda-beda mengatur sensitivitas monosit manusia / makrofag untuk glukokortikoid. Deksametason

yang berbeda pada lipopolisakarida yang diinduksi TNF- α dan IL-10 dibandingkan ditekan TNF- α dalam mode tergantung dosis, efeknya



pada sekresi IL-10 adalah *biphasic*, memproduksi stimulasi pada dosis rendah dan penghambatan pada dosis yang lebih tinggi. Konsentrasi *lipopolysaccharide* yang dipekerjakan dipengaruhi efek deksametason pada sekresi IL-10 ($p < 0,001$). *Pretreatment* dengan TNF- α berkurang, dan dengan IL-10 ditingkatkan, kemampuan deksametason untuk menekan sekresi IL-6 dalam kultur sel darah ($p < 0,01$ untuk keduanya) dan untuk meningkatkan IL-1 antagonis reseptor (IL1RN) sekresi oleh U937 sel ($p < 0,05$ untuk keduanya). TNF- α menurun ($p < 0,001$), sedangkan IL-10 meningkat ($p < 0,001$), konsentrasi deksametason situs mengikat di sel-sel ini, tanpa efek dilihat pada afinitas mengikat mereka. Para penulis menyimpulkan bahwa glukokortikoid berbeda-beda memodulasi TNF- α dan IL-10 sekresi oleh monosit manusia dalam mode tergantung dosis lipopolisakarida, dan bahwa sensitivitas sel-sel ini untuk glukokortikoid diubah oleh TNF- α atau IL-10 *pretreatment*; TNF- α bersifat memblok glukokortikoid, sedangkan IL-10 bertindak sinergis dengan glukokortikoid (Gesser, et al, 1997; Pinderski Oslund, et al, 1999; Terkeltaub, 1999; Franchimont, et al, 1999)

Interleukin-10 memediasi efek antiinflamasi secara independen dari IL-10R atau aktivasi dari PIK3 (PIK3CG) atau kinase P70 S6 (Crawley, et al, 1996). Lee dan Chau menunjukkan bahwa IL-10, tapi tidak pada IL-6, menginduksi ekspresi Hmox1 di makrofag tikus melalui kinase p38 MAP (MAPK14), tapi tidak pada jalur ERK atau JNK. Analisis Western blot menunjukkan bahwa pengobatan dengan Hmox1 antisense atau hemoglobin pengambilan karbon monoksida, dihambat dengan penekanan IL-10 dan dimediasi oleh lipopolisakarida yang diinduksi oleh TNF- α ,



memproduksi INOS (NOS2B) dan MMP-9, menunjukkan bahwa karbon monoksida memediasi efek penghambatan IL-10 pada produksi mediator inflamasi. Pemberian IL-10 untuk tikus juga diinduksi oleh Hmox1 dan melindungi tikus dari lipopolisakarida yang diinduksi oleh syok septik. perlindungan terbalik pada tikus juga menerima Hmox1 inhibitor, zinc protoporfirin IX. Pada tikus ini, perlindungan dipulihkan oleh perlakuan karbon monoksida (Crawley, et al, 1996; Lee dan Chau, 2002).

Akbari dkk mencatat bahwa sel Th1 mensekresi IFN- γ mengatur sel Th2 dan mungkin terlibat dalam downregulating hiperreaktivitas jalan napas Th2-driven dan asma. Namun, IFN- γ juga dapat berkontribusi dengan tingkat keparahan penyakit dengan memperburuk peradangan paru. Setelah paparan dari tikus untuk alergen oleh rute pernapasan, sel-sel T-positif peraturan CD4 (Tr) dikembangkan, memproduksi tingkat tinggi IL-10, khas dianggap sebagai sitokin Th2. Sel-sel Tr downmodulated hiperreaktivitas jalan napas alergen yang diinduksi pada tikus sebelumnya peka. Kedua pengembangan dan fungsi dari Tr tergantung pada kehadiran IL-10 dan interaksi dengan ICOS diekspresikan pada sel dendritik. Sel-sel dendritik juga mengungkapkan B7-1, yaitu CD80 dan B7-2, yaitu CD86. Akbari dkk mengemukakan bahwa IL-10 mungkin awalnya terlibat dalam polarisasi respons Th2 tapi memainkan peran regulasi akhir respon imun untuk menipiskan aktivitas inflamasi Th2-driven (Akbari, et al, 2002).



er dkk meneliti persyaratan untuk aktivasi T-regulasi-1 sel (TR1),
sikan sebagai limfosit T CD4-positif yang mengeluarkan IL-10 dan
T-helper. Stimulasi sel T CD4-positif dimurnikan dengan antibodi

monoklonal untuk CD3 dan CD46 di hadapan IL-2 atau anti-CD28 yang disebabkan sekresi jumlah besar IL-10 dan proliferasi berkelanjutan, diukur dengan analisis arus cytometric untuk ekspresi PCNA. CD45RA-positif / CD45RO-negatif sel T (naif) dan CD45RO-positif sel CD45RA-positif / (tinggi-merespons) T diproduksi oleh IL-10 dalam menanggapi agonis ini, sementara tidak pada (memori) sel T CD45RA-negatif / CD45RO-positif. Setelah aktivasi utama anti-CD3 / anti-CD46, bagaimanapun, baik naif dan dengan tinggi menanggapi sel T CD4-positif yang diperoleh dengan memproduksi fenotip memori IL-10 (CD45RA-negatif / CD45RO-positif). Stimulasi sel T CD4-positif dengan anti-CD3 / anti-CD28 tanpa anti-CD46 gagal untuk mendorong produksi IL-10 dan menyebabkan produksi dalam jumlah besar IL-2. Stimulasi dengan anti-CD3 / anti-CD28 di hadapan C3b (120.700) dimer faktor pelengkap mengakibatkan sekresi IL-10 sebanding dengan anti-CD3 / sel T anti-CD28 / anti-CD46-diaktifkan. Supernatan sel T anti-CD3 / anti-CD46-diaktifkan diinduksi penekanan IL-10 dimediasi dan proliferasi oleh sel T penonton. Kemper dkk menyimpulkan bahwa CD46 memiliki peran dalam regulasi-sel T manusia dan bahwa temuan ini membangun hubungan antara sistem komplemen dan kekebalan adaptif. Mereka mengusulkan bahwa sel-sel TR1 penting untuk menjaga toleransi perifer dan mencegah autoimunitas, serta tanggapan banyak pathogen (Kemper, et al, 2003).

Stimulasi kultur darah manusia dengan lipopolisakarida bakteri (LPS) menunjukkan variasi antar-besar di IL-10 sekresi, yang telah terbukti memiliki

genetik lebih dari 70% (Westendorp, et al, 1997). Eskdale dkk untuk menentukan sejauh mana struktur promotor IL-10 kontribusi variasi genetik sekresi LPS diinduksi IL-10. Turner dkk telah



menunjukkan perbedaan dalam IL-10 sekresi, berkaitan dengan ada atau tidak adanya suatu 'A' pada posisi -1082 dari promotor IL-10 manusia, berikut Concanavalin-A stimulasi perifer mononuklear darah cells. Eskdale dkk mendefinisikan alel pada 2 mikrosatelit lokus di 4 kb segera hulu situs inisiasi IL-10 transkripsi manusia dalam 132 individu dari 56 keluarga Belanda dan ditugaskan alel sebagai haplotype. LPS-diinduksi oleh sekresi IL-10 yang diukur dengan ELISA dan terkait dengan haplotype IL-10 promotor terdapat pada 78 individu yang tidak terkait dari keluarga-keluarga ini. Analisis menunjukkan bahwa LPS-diinduksi sekresi IL-10 dari individu yang tidak berhubungan bervariasi dengan haplotype IL-10 promotor ($p = 0,024$). Haplotype yang mengandung alel IL-10.R3 dikaitkan dengan sekresi IL-10 lebih rendah dari haplotype yang mengandung salah alel lainnya IL-10.R; haplotype IL-10.R2 / IL-10.G14 dikaitkan dengan sekresi IL-10 tertinggi secara keseluruhan, sedangkan haplotype IL-10.R3 / IL-10.G7 dikaitkan dengan sekresi IL-10 terendah. Monosit merupakan sumber utama dari IL-10, meskipun banyak jenis sel dapat dirangsang untuk IL-10 sekresi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa heterogenitas genetik tidak hanya mengendalikan apakah antigen tanggap terjadi (melalui kompleks histokompatibilitas utama), tetapi juga melalui sitokin dan reseptor mereka, tingkat dan arah di mana respon yang mungkin berkembang setelah pengakuan antigen telah terjadi (Westendorp, et al, 1997; Eskdale, et al, 1998; Turner, et al, 1997).



monosit telah terbukti dapat digunakan untuk terapi gen. Terapi gen dapat untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh cacat genetik akibatkan reaksi antara keratinosit dengan protein abnormal.

Keratinosit relatif mudah diperoleh dan dapat dengan mudah dipantau oleh ekspresi transgen. Keratinosit dapat digunakan sebagai bioreaktor melepaskan protein transgenik ke dalam sirkulasi dan dapat dipantau efek endokrin serta sistemik dari protein yang dibutuhkan untuk terapi. Interleukin-10 memainkan peran utama dalam menekan respon imun dan inflamasi dengan menghambat produksi sitokin pro inflamasi. Meng dkk meneliti efek sistemik IL-10 yang dilepaskan dari keratinosit tertransduksi. Vektor ekspresi dibangun untuk IL-10 manusia dan disuntikkan ke dalam kulit tikus berbulu. Ekspresi lokal dari mRNA IL-10 dan protein yang terdeteksi oleh RT-PCR dan pewarnaan imunohistokimia. Enzyme-linked immunosorbent assay menunjukkan bahwa jumlah IL-10 dalam keratinosit lokal dan dalam sirkulasi meningkat dengan ditransfernya dosis vektor. Untuk menentukan apakah IL-10 beredar bisa menghambat fase efektor kontak hipersensitivitas pada area yang jauh dari kulit, berbagai dosis vektor yang disuntikkan ke dalam kulit bagian telinga tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat pembengkakan pada telinga tikus diperlakukan secara signifikan lebih rendah dibandingkan pada hewan kontrol negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa IL-10 dilepaskan dari keratinosit yang tertransduksi dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan efek biologis pada daerah yang jauh dari kulit. Oleh karena itu mungkin untuk mengobati penyakit sistemik seperti hemofilia B dengan menggunakan terapi gen keratinosit (Meng, et al, 1998).

Sun dkk menemukan bahwa kekebalan CD8-positif dan CD4-positif

eff) sel adalah sumber utama dari IL-10 selama terjadinya infeksi
za akut pada tikus, dengan sebagian kecil sel CD8-positif yang
, tetapi jumlahnya lebih besar dari produksi IL-10. Sel-sel Teff



memproduksi IL-10 dan sitokin proinflamasi secara bersamaan. Penghambatan IL-10 oleh blokade IL-10r pada hewan subletal yang terinfeksi mengakibatkan meningkatnya peradangan paru, luka dan dipercepat mati dengan tidak ada perubahan pada tingkat pemberantasan virus. Inflamasi yang mematikan bias dikurangi dengan pemberian kortikosteroid. Sun dkk menyimpulkan bahwa IL-10 diproduksi oleh sel Teff mungkin memiliki peran penting dalam mengatur besarnya inflamasi selama infeksi virus akut (Sun, et al, 2009).

Kane dkk menunjukkan bahwa penularan *Mouse retrovirus mammae tumor virus* (MMTV) memerlukan mikrobiota usus komensal dan MMTV terikat ke LPS. Tikus dengan kekurangan TLR4, IL-6, IL-10, atau CD14), tetapi tidak kurang TLR2, hilangnya MMTV pada beberapa generasi berturut-turut. Kane dkk menyimpulkan bahwa jalur 'subversi' LPS-induced TLR4 viral sinyal drive melalui IL-6 dan tergantung produksi IL-10 yang mempromosikan penularan virus. Pada model tikus mdx *Duchenne Muscle Distrofi* (DMD), makrofag M1 memainkan peran utama dalam perburukan cedera otot. Namun, otot mdx mengandung makrofag M2C yang mempromosikan perbaikan jaringan. Villalta dkk menyelidiki faktor yang mengatur keseimbangan antara M1 dan M2C makrofag pada tikus mdx. Ablasi ekspresi IL-10 pada tikus mdx meningkatkan kerusakan otot secara in vivo dan mengurangi kekuatan tikus. Pengobatan makrofag otot mdx dengan IL-10 mengurangi aktivasi fenotip M1, sebagaimana dinilai oleh iNOS ekspresi. Makrofag dari tikus yang tidak banyak terjadi IL-10

ri makrofag tikus wildtype. Real-time PCR dan analisis
mia mendeteksi ekspresi IL-10r di otot mdx. Ablasi ekspresi IL-10
mdx tidak mempengaruhi jumlah sel satelit, tetapi ekspresi



meningkatkan myogenin (MYOG) in vivo selama fase akut dan patologi regeneratif dari mdx. Villalta dkk menyimpulkan bahwa IL-10 memainkan peran penting pada distrofi otot dengan mengurangi aktivasi makrofag M1 dan sitotoksitas, meningkatkan aktivasi makrofag M2C dan modulasi diferensiasi otot (Kane, et al, 2011; Villalta, et al, 2011).

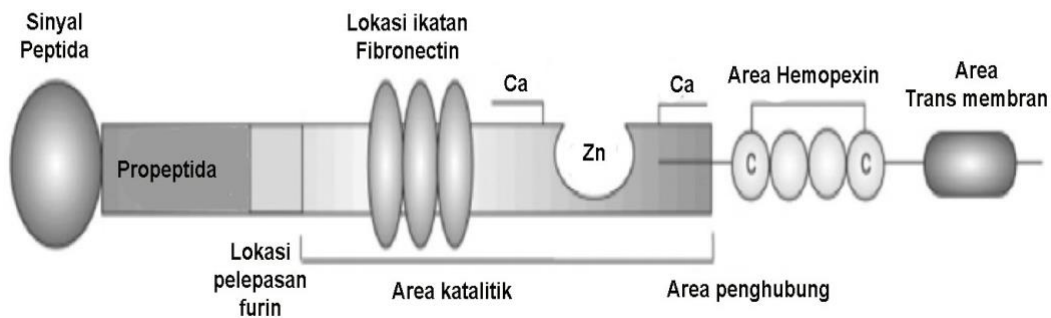
2.6. Penanda Biologis MMP-9

Matrix metalloproteinase (MMP) adalah enzim endo peptidase dalam sub-famili matrixin dari sub-famili zinc metalloprotease M10 sesuai data dasar MEROPS (Nagase, et al, 2006). MMP pertamakali ditemukan oleh Gross dan Lapiere (1962) dari kultur gel kolagen yang dilarutkan dari fragmen ekor kecebong. MMP terdiri atas 28 tipe yang dibagi dalam 4 (empat) kelas yaitu : kolagenase, gelatinase, stromelysin dan tipe membran dan merupakan famili enzim multigen dalam kelas metalloproteinase dan famili istimewa metzincin dari endopeptidase (Woessner, 1994; Rawling and Barrett, 1995; Murphy and Knauper, 1997). Berdasarkan kelompok katalitik dibagi 3 (tiga), yakni: serin, sistein dan aspartik.

2.6.1. Struktur Matrix Metalloproteinase

Semua MMP memiliki daerah propeptida di terminal N yang terdiri atas 80 asam amino dan pada domain atau area katalitik yang terdiri atas 170 asam amino terikat sistein di daerah zinc yang mempertahankan enzim dalam keadaan aktif oleh peptida penghubung atau engsel ('hinge region') dan area hemopexin pada terminal C yang terdiri atas 200 asam amino (Rosenberg ,2002; Nagase et al, 2006) (**Gambar 5**).





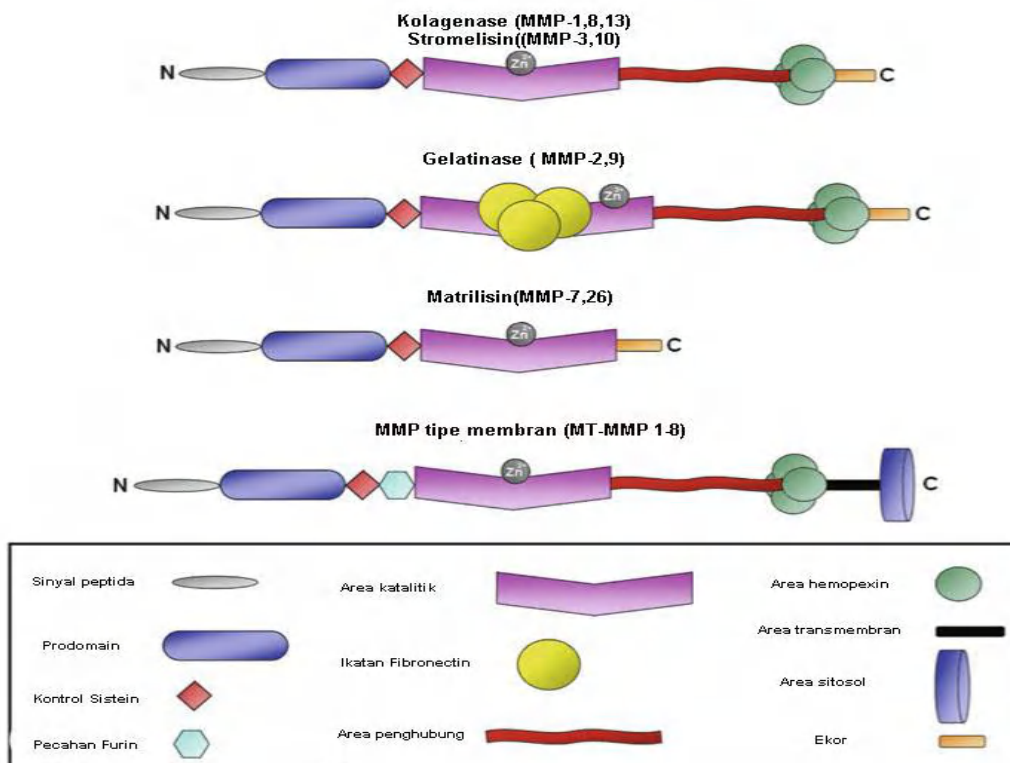
Gambar 5. Struktur dasar dari area MMP .

(Dikutip dari: (Rosenberg, 2002))

Dasar struktur dari MMP terdiri atas 5 (lima) area ialah :

- a. Sinyal peptide yang memungkinkan MMP dapat melekat pada jalur sekresi atau membran plasma.
- b. 'Prodomain' yang mempertahankan enzim tidak aktif pada lokasi Zn sehingga enzim katalitik tidak dapat mencapai substrat target
- c. Area katalitik yang mengandung Zn.
- d. Area hemopexin yang membuat enzim dapat terikat dengan substrat yang spesifik
- e. 'Hinge region' atau area penghubung atau engsel yang berfungsi menghubungkan area hemopexin dan katalitik (**Gambar 6**)





Gambar 6. Struktur MMP berdasarkan substrat dan lokasi

(Dikutip dari: (Vargová, et al, 2012))

Fungsi rangkaian propeptida ialah mempertahankan MMP dalam bentuk laten hingga menunggu adanya sinyal aktivasi. Sejumlah bukti menunjukkan bahwa aktivasi melibatkan saklar sistein. Mekanisme itu melibatkan koordinasi Cys 70-80 pada urutan PRCGVDPV pada titik pusat aktif dari atom Zn. Residu sistein dapat dihambat oleh iodoacetamide sehingga dapat dipertahankan fase latennya. Sedangkan area katalitik mengandung dua ion Zn dan setidaknya satu ion calcium yang terikat pada residu bermacam-macam asam amino. Motif yang disepakati dalam setiap area katalitik adalah HExGHxxGxxH yang mengandung 3 histidin dengan koordinat pada pusat aktif dari ion Zn (Tabel.



Tabel 5. Area saklar sistein dan ikatan Zn pada MMP

MMP	Asal enzim	Area saklar sistein	Area Zn pengikat
MMP-1	Human fibroblast collagenase	68-MKQPRCGVPDVA	193-LHRVAA.HELGHSLGLSHST
MMP-2	Human 72-kDa gelatinase	69-MRKPRCGNPDVA	364-LFLVAA. HEFGHAMGLEHSQ
MMP-3	Human stromelysin	70-MRKPRCGVPDVG	196-LFLVAA.HE IGHSLGLFHSA
MMP-7	Human pump-1	65-MQKPRCGVPDVA	190-FLYAATHELGHSLGMGHSS
MMP-8	Human neutrophil collagenase	66-MKKPRCGVPDSG	191-LFLVAA.HEFGHSLGLAHSS
MMP-9	Human 92-kDa gelatinase	75-MRTPRCGVPDLG	376-LFLVAA.HEFGHSLGLDHS
MMP-10	Human stromelysin-2	69-MRKPRCGVPDVG	195-LFLVAA.HELGHSLGLFHSA

(Dikutip dari: (Vargová et al.2012))

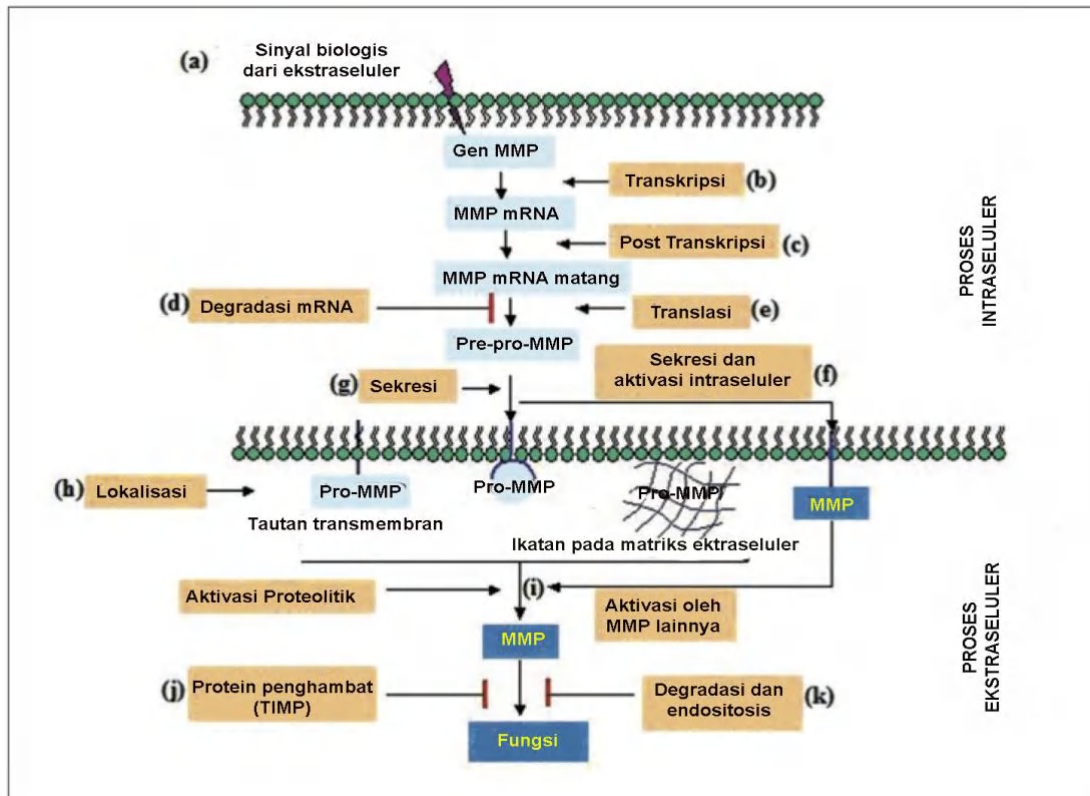
Disamping itu, ada empat area ulangan yang memiliki homolog lemah terhadap hemopexin dan vitronectin. Pada urutan akhir amino adalah area penghubung dan sebuah jembatan disulfide yang menghubungkan ujung paling ekstrim dari area tersebut. Pada MMP terkecil atau MMP-7 tidak terdapat area hemopexin tersebut sedang MMP-1 mempunyai aktivitas katalitik tanpa memiliki area tersebut (Netzel-Arnett, et al, 1994; Lovejoy, et al, 1999).

MMP adalah enzim proteolitik yang berkemampuan merusak jaringan secara luas sehingga ekspresi dan aktivitas dikontrol sangat ketat (YGottschall and Deb,1996;Yong et al.,1998; Overall and Lopez-Otin, 2002).Kontrol ketat tersebut melalui 3 (tiga) mekanisme ialah : kontrol transkripsi gen, aktivasi zymogen (pro enzim inaktif) dan inhibisi spesifik, misalnya Tissue Inhibitor Metalloproteinase-1(TIMP-1) hingga 4 dan α -2 makroglobulin dalam serum (Skema. 6) (Goldring,1993; Willenbrock and Murphy,1994; Gottschall, et

phy and Willenbrock,1995; Rosenberg, 1995; Shapiro, et al, 1995; 1996; van der Zee, et al, 1996; Borkakoti, 2000; Ye, 2000; Khasigov



et al, 2001; Sternlicht and Werb, 2001; Baker et al, 2002; Galis and Khatri, 2002; Mori, 2002; Truettner, et al, 2005; Yong, 2005; Zhang, et al, 2010).



Skema 7. Regulasi MMP.

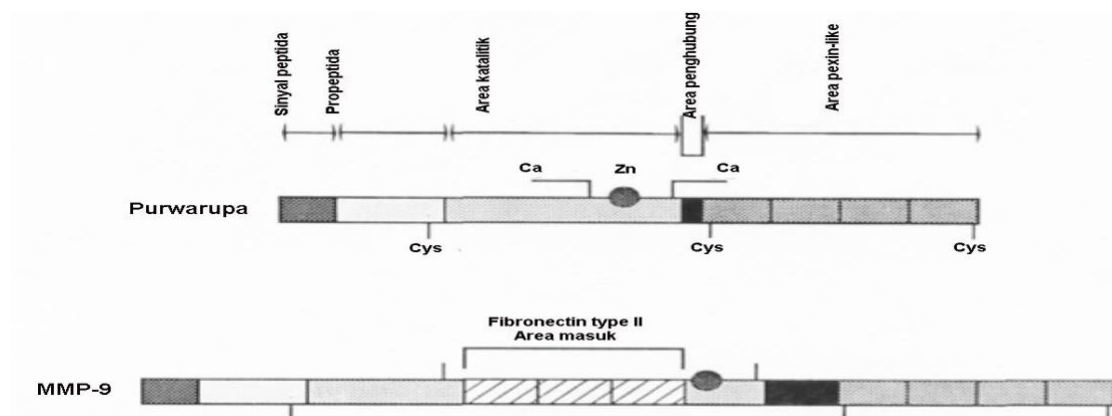
(Dikutip dari: (Sternlicht and Werb, 2001))

Penelitian enzim gelatinase semakin berkembang, yakni enzim MMP-2 (gelatinase A, 72 kD type IV collagenase) dan MMP-9 (gelatinase B, 92 kD type IV collagenase) yang mengandung 3 fibronectin tipe II pada lokasi katalitiknya (Birkedal-Hansen, 1993; Steffensen et al., 1995).



MMP-9 atau matrixin atau gelatinase-B (IUBMB-International Biochemistry and Molecular Biology Enzyme nomenclature : EC dengan area fibronectin II (**Gambar. 7**), pertamakali diketemukan

oleh Sopata pada tahun 1972 pada polimorfonuklear lekosit manusia adalah enzim endopeptidase Zn dependen yang berfungsi untuk memelihara dan remodeling dari matriks ekstraseluler. MMP-9 dibentuk dan diproduksi terutama oleh mikroglia, juga oleh neuron, oligodendrosit dan endotel vaskuler (Sopata and Dancewicz, 1972; Sopata and Wize, 1979; Gottschal, et al, 1995; Rosenberg, et al, 2001; Maskos, Bode, 2003; Mandal, et al, 2003; Zhang, 2010). Salah satu peran penting dari MMP-9 adalah degradasi dari matriks ekstraseluler yang berpotensi terjadinya kerusakan jaringan yang luas sehingga aktivitas dan ekspresi nya diperlukan kontrol atau regulasi yang ketat (Gottschall and Deb,1996; Yong, et al, 1998; Overall and Lopez-Otin, 2002).



Gambar 7. Struktur area dari MMP-9.

(Dikutip dari: (Birkedal-Hansen, et al,1993))

2.7. Cara kerja Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA) Untuk Menentukan Kadar Protein Gen ADAM33, IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9.



el serum penderita sebelum digunakan disiapkan bersama en sesuai dengan KIT yang gunakan yang diperlukan dalam suhu ap sampel dilakukan secara rangkap tiga untuk menjamin

kebenaran atau validitas hasil ELISA. Kemudian diisi paknya semua reagen, dilusi standar dan sampel serum penderita. Buka *mikroplate strip* dan buat susunan dari sampel sesuai dengan jumlah sampel yang akan dimasukkan kedalam sumur. Tahap pertama dilakukan penambahan 100 μ L assay diluent yang berisi protein penyangga kedalam setiap sumur. Selanjutnya ditambahkan 100 μ L cairan standar yang berisi recombinant human gen ADAM33 atau IL-6 atau IL-8 atau IL-10 atau MMP-9 dari KIT yang telah ditentukan atau dilusi sampel dari serum penderita kedalam setiap sumur. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Isap cairan disetiap sumur dan dicuci dengan cairan Phosphate Buffered Saline (PBS) steril. Proses pencucian ini dilakukan 4 kali secara berturut turut. Kemudian ditambahkan 200 μ L cairan 'conjugate' yang berisi streptavidin 'horseradish peroxidase' (HRP) kedalam setiap sumur dan tutup dengan penutup plastik dan inkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Cairan diisap dan selanjutnya dilakukan pencucian ulang sebanyak 4 kali dengan menggunakan cairan PBS steril. Proses berikutnya ditambahkan 200 μ L larutan substrat yang berisi cairan 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) kedalam setiap sumur dan inkubasi selama 20 menit pada suhu kamar yang mana mikroplate disimpan pada keadaan gelap untuk menghindari cahaya. Setelah selesai diinkubasi reaksi dihentikan dengan menambahkan 50 μ L cairan larutan penghenti yang berisi H₂SO₄ kedalam setiap sumur dan dibaca dengan menggunakan ELISA Reader 270 (Biomerieux, Perancis) (**Gambar. 8**) dengan panjang gelombang

nm dalam waktu 30 menit. Selanjutnya, dibaca konsentrasi protein 3 atau IL-6 atau IL-8 atau IL-10 atau MMP-9 dengan satuan pg/ml



(Cuadrado et al, 2008 Kolar et al, 2008; Helmersson-Karlqvist, et al, 2012; Zheng, et al, 2013).



Gambar 8. Mesin ELISA microplate reader

2.8. Mekanisme Inflamasi Terkait Dengan IL-6, IL-8, IL-10 dan MMP-9 Hubungan Dengan Penanda Biologis Gen Adam33 Pada PPOK

Hampir 90% dari pasien PPOK disebabkan oleh merokok jangka panjang, namun hanya 25% dari perokok dengan tembakau secara kronik mengakibatkan menjadi pasien PPOK. Penyakit paru obstruktif kronik cenderung terjadi lebih sering pada perokok dengan riwayat keluarga gangguan obstruksi saluran napas termasuk asma dan PPOK. Semua ini menunjukkan bahwa selain merokok, ada faktor genetik yang juga mendasari terjadinya PPOK. Beberapa gen telah diselidiki dan diidentifikasi memiliki keterkaitan dengan PPOK, seperti TLR-9, HHIP, IREB2 dan CHRNA3 / 5. Gen ADAM33, anggota dari keluarga ADAM, diidentifikasi sebagai gen penanda rentan terhadap asma. Temuan ini telah diperkuat pada penelitian di banyak populasi, seperti populasi asma India dan Cina. Protein ADAM terlibat dalam

fungsi sel, sel sinyal dan proteolisis. Perkembangan terakhir ini peran ADAM khususnya ADAM33 dapat diilustrasikan dengan kapasitas melepaskan sitokin, faktor pertumbuhan, atau reseptor mereka dari



permukaan sel dan *remodeling* komponen matriks ekstraseluler. Garlisi dan rekan menunjukkan bahwa ADAM33 adalah proteinase aktif yang mampu membelah α 2-macroglobulin, memegang peranan penting pada sistem pertahanan di paru. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ADAM33 terlibat dalam patogenesis obstruksi jalan napas dengan mempengaruhi remodeling jaringan, merupakan proses fisiologis yang rumit terkait dengan peradangan saluran napas. Penelitian lain telah menunjukkan bahwa polimorfisme nukleotida tunggal (SNP / single nucleotide polymorphisms) pada ADAM33 terkait dengan percepatan penurunan fungsi paru pada populasi umum dan pada pasien asma. Studi terbaru lebih lanjut mengungkapkan bahwa SNP pada ADAM33 penanda kerentanan terhadap terjadinya PPOK pada populasi umum dengan mempengaruhi proses inflamasi saluran napas dan mengubah fungsi paru pada PPOK. Penelitian sebelumnya telah lebih jauh menegaskan hubungan antara ADAM33 polimorfisme gen dan PPOK Pada populasi *Northeastern Chinese Han* (Wang X, et al, 2014; Wang X, Li L, Xiao J, Jin C, Huang K, Kang X, Wu X, Lv F, 2009).

Patofisiologi PPOK adalah proses multifaktorial dengan profil sel inflamasi kompleks termasuk eosinofil, makrofag, netrofil dan limfosit. Kadar beberapa sitokin, seperti IL-8, IL-6, TNF- α dan faktor pertumbuhan endotel vaskuler (VEGF) meningkat pada pasien PPOK stabil sehingga memiliki peranan penting dalam patogenesis PPOK. Oleh karena itu, PPOK terjadi sebagai akibat dari proses yang melibatkan sel-sel inflamasi dan mediator-

amasi, inflamasi lokal di paru sangat penting karena berakibat *remodeling* saluran napas dan kerusakan parenkim. Mungkin ada makrofag yang berbeda secara aktifasinya dan berbeda responsnya.



Dengan memakai model *Murine* (M), makrofag *Murine* M1 klasik diaktifkan adalah proinflamasi, sedangkan M2 atau makrofag alternatif diaktifkan lebih antiinflamasi yang melepaskan IL-10 dan ditandai dengan aktifitas fagositosis. Namun, perbedaan ini kurang jelas dalam makrofag manusia dan penanda permukaan fenotipe ini kurang berbeda bermakna. Secara umum, ada kemungkinan bahwa makrofag M1-terlihat mendominasi pada PPOK, namun studi lebih lanjut masih diperlukan. Peradangan kronik pada PPOK ditandai dengan akumulasi netrofil, makrofag, sel-B, agregat limfoid dan CD8 + T-sel, khususnya di saluran udara kecil, dan tingkat luasnya peradangan dengan tingkat beratnya penyakit yang diklasifikasikan oleh pedoman dari *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (GOLD). Pada gambar berikut menjelaskan interaksi inflamasi dan seluler menghubungkan pajanan rokok kronik dengan peradangan kronik dari penyakit paru obstruktif kronik (PPOK). Aktivasi netrofil, makrofag, sel-sel epitel, sel dendritik, sel-T, sel-B, fibroblas dan saluran napas sel otot polos menyebabkan pelepasan sitokin, kemokin dan protease. Sinyal amplifikasi penting dalam menambah respon inflamasi yang mendukung terjadinya PPOK. Ab (: antibody), Th (*T-helper cell* / sel T-helper), MHC (major histocompatibility complex / kompleks histokompatibiliti utama), TCR (*T cell receptor* / reseptor sel T), CXCL (*CXC chemokine ligand*), IP (*interferon (IFN)-c-inducible protein*), CCL (*CC chemokine ligand*), RANTES (*regulated on activation*), T-sel yang normal diekspresikan dan disekresikan, TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*), IL (interleukin), TNF (tumor necrosis factor), MCP-1 (*monocyte chemotactic protein*), LT (*leukotriene*), CRP (*C-reactive protein*), TGF (*transforming growth factor*), EGF (*epidermal growth factor*), VEGF (*vascular endothelial growth factor*), MMP (*matrix metalloproteinase*).



metalloproteinase) (Wang X, et al, 2014; Barners PJ, 2014; Chung KF and Adcock IM, 2008).

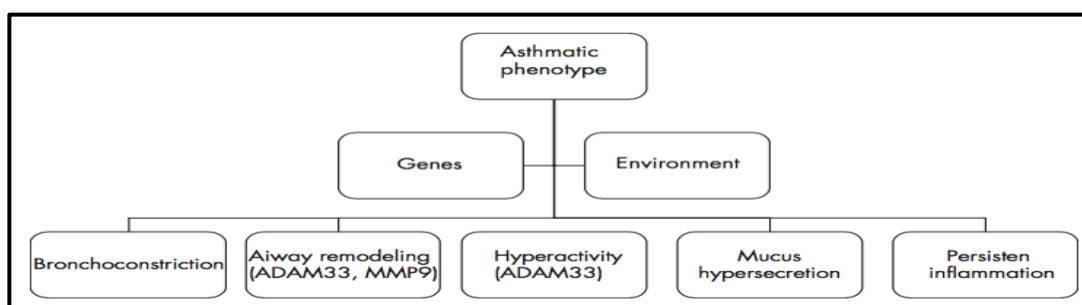
Interleukin-8 memiliki sifat kemotaktik netrofil juga memiliki sifat kemotaktik eosinofil. Pada keadaan bronkitis kronik eksaserbasi, peningkatan ekspresi RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted* / pengaturan aktivasi, sel T normal yang diekspresikan dan disekresikan) telah dilaporkan pada epitel dan subepitelium yang terkait dengan peningkatan jumlah eosinofil di submukosa. Kultur pada Makrofag alveolar (AM) dari perokok dan pasien PPOK menunjukkan terjadi peningkatan pelepasan MMP-1 dan MMP-9 dengan peningkatan imunoreaktivitasnya. Pelepasan MMP-9 di basal meningkat, seperti pelepasan IL-6 dan MCP-1 lipopolisakarida di monosit pada pasien PPOK. Penelitian Jing Zhang dkk menunjukkan bahwa *lipopolysaccharide* (LPS) menyebabkan disfungsi fibroblas paru primer manusia, yang merupakan sel target penting pada PPOK, oleh penurunan proliferasi fibroblast. Pengurangan ini setidaknya karena peningkatan produksi IL-6 dan IL-8 serta penurunan produksi IL-10 oleh fibroblas sebagai respons terhadap stimulasi LPS. Pengaturan regulasi ekspresi Histone Deacetylase (HDAC2) yang rendah oleh fibroblas yang merespons stimulasi LPS dapat berkontribusi pada regulasi produksi IL-6, IL-8 dan IL-10. Investigasi dampak LPS pada peradangan fibroblas dan kapasitas proliferasi memberikan pengetahuan tentang peran fibroblas paru dalam patogenesis PPOK dan juga memberikan target potensial untuk pengobatan di

(Zhang J, et al, 2011).

rokok menginduksi pelepasan IL-1 dan IL-8 dan *granulocyte*



colony-stimulating factor (G-CSF) dari sel epitel bronkial melalui jalur oksidatif, terjadi aktivitas chemotactic netrofil dan monosit yang potensial yang dilepaskan dari epitel. Ekspresi yang lebih tinggi dari CCR2 / MCP-1, TGF- β 1 dan CXCL8 / IL-8 mRNA dan protein telah diamati pada epitel bronchiolar perokok dengan PPOK dibandingkan dengan perokok tanpa PPOK (Chung KF, Adcock IM, 2008). Menurut penelitian Minematsu dkk, MMP-9 -1562C / T *single nucleotide polymorphisms* (SNP), di daerah gen promoter, merupakan faktor risiko yang penting untuk terjadinya emfisema pada pasien PPOK yang terlihat pada CT scan dada konvensional, ditambah dengan pengamatan nilai spirometri oleh Zhou dkk, atau pengamatan dengan *CT Scan* resolusi tinggi oleh Ito dkk, uji fungsi paru tidak menunjukkan perbedaan antara pasien-pasien PPOK dengan alel C dan pasien-pasien dengan alel T. *Single nucleotide polymorphisms* tertentu meningkatkan transkripsi MMP-9, kita dapat menduga bahwa pada PPOK terjadi SNP pada MMP-9 (Sampsonas F, et al, 2007) (Gambar. 9).



Gambar 9. ADAM 33 dan MMP-9 pada pasien fenotip asmatis

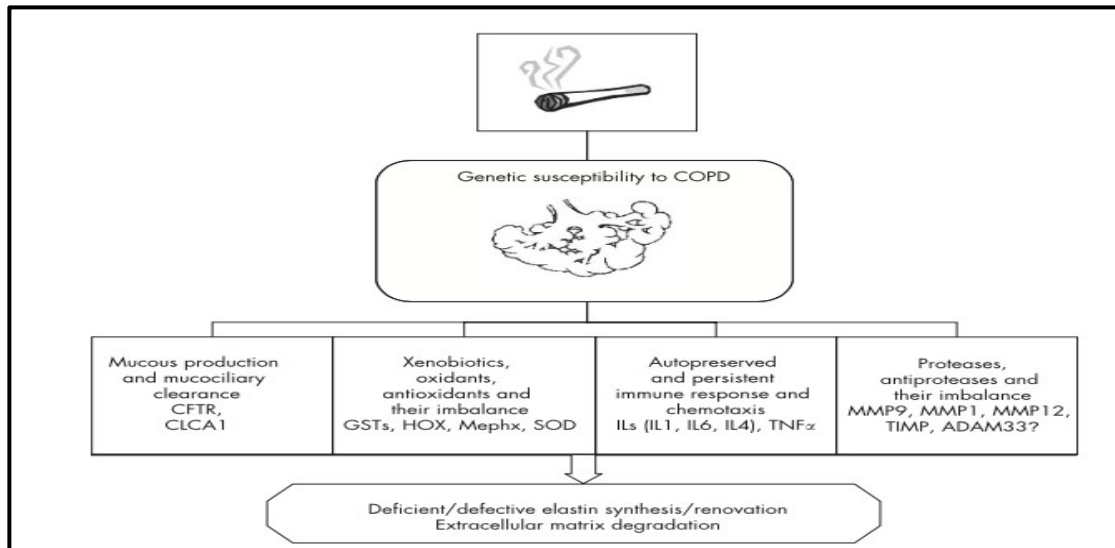
(Dikutip dari: (Sampsonas F, et al, 2007))



isme hiperplasia sel goblet itu sendiri dapat melibatkan aktivasi dapat diregulasi oleh oksidan dalam asap rokok dan pelepasan

sitokin, seperti TNF- α dan CXCL8 / IL-8 dan IL-13. Sitokin dan kemokin yang berpotensi terjadi PPOK, yang dapat dilepaskan dari otot polos saluran napas, termasuk IL-6 dan CXCL8 / IL-8, CCL2 / MCP-1, -2 / CCL8 dan -3 / CCL7, CXCL1 / *growth-related Oncogene* (GRO) -a, protein CXCL10 / IFN-c-inducible protein (IP) -10 dan *granulocyte-makrofag-colony stimulating factor* (GM-CSF). Sitokin pro-inflamasi, seperti: IL-1b, TNF-a dan bradykinin menginduksi pelepasan CXCL8 / IL-8, chemoattractant dan aktivator netrofil yang kuat, sedangkan IFN-c dan TNF- α menginduksi pelepasan CXCL10 / IP-10, yang juga diekspresikan di sel otot polos jalan napas pasien dengan PPOK. Bukti proses inflamasi sistemik pada PPOK dapat ditentukan dari peningkatan kadar sitokin, seperti reseptor TNF- α , 75-kDa TNF- α dan 55-kDa TNF-bersama-sama dengan kadar protein C-reaktif (CRP). Pada pasien PPOK stabil dengan gangguan otot pernapasan, terjadi pada otot peningkatan ekspresi gen dan kadar protein TNF- α dan IL-6 (Chung KF, Adcock IM, 2008). Berikut komponen pathogenesis genetik PPOK yang juga terkait ADAM 33 lainnya, yaitu : (CFTR) *cystic fibrosis transmembrane regulator*, (CLCA1) *human calcium-activated chloride channel 1*, (GST) *glutathione S-transferase*, (HOX) *haeme oxygenase*, (IL) *interleukin*, (mEPHX) *human microsomal epoxide hydrolase*, (SOD) *superoxide dismutase* dan (TIMP) *tissue inhibitor of metalloprotease* (Sampsonas F, et al, 2007). (**Gambar. 10**).





Gambar 10. Komponen patogenesis genetik PPOK.

(Dikutip dari: Sampsonas F, et al, 2007))

Peran sitokin pada pasien PPOK telah diketahui sebelumnya. Banyak laporan menggambarkan peningkatan tingkat CCL1 / I-309, CCL2 / MCP-1, CCL3 / MIP-1a, CCL4 / MIP-1b, CCL11 / eotaxin, CXCL1 / GRO-a, CXCL5 / *epithelial neutrofil-activating peptide* (ENA) -78, CXCL8 / IL-8, IL-1b, IL-6, GM-CSF dan TNF- α , diukur dalam cairan induksi sputum atau cairan BAL (*Bronchoalveolar lavage*) atau dilepaskan dari AM yang terpapar asap rokok pada pasien PPOK. Jumlah netrofil sputum dan kadar CXCL8 / IL-8 dan tingkat sirkulasi TNF- α dan CRP merupakan penanda terbaik yang berkaitan dengan tingkat beratnya pasien PPOK. S100A8 / 14 telah terbukti menjadi faktor endogen dalam sekresi jaringan paru yang dapat merangsang produksi IL-8 oleh sel epitel jalan napas. S100A 8 / 9 dapat langsung menginduksi

dan adhesi netrofil. Analisis *microarray* jaringan paru dari pasien menunjukkan peningkatan ekspresi CX3CL1 / *fractalkine*, yang terlibat dalam migrasi monosit melalui penarikan dan penangkapannya. Peningkatan



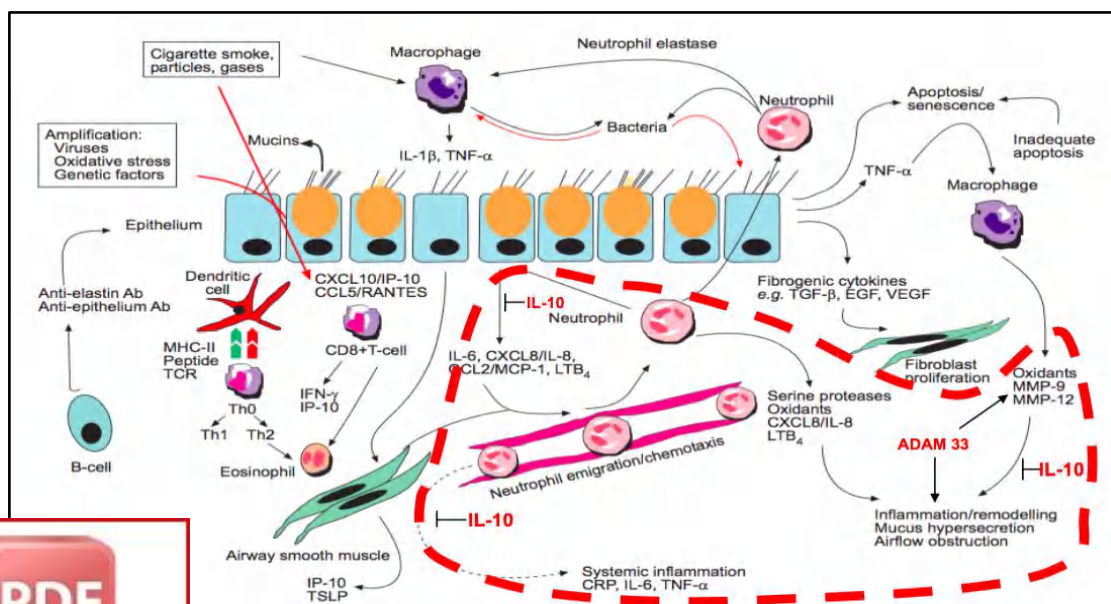
ekspresi mRNA dan kadar protein CCL2 / MCP-1, TGF- β 1 dan CXCL8 / IL-8 telah diamati pada epitel bronkus dan CCR2 pada makrofag perokok dengan PPOK dibandingkan dengan perokok tanpa PPOK (Chung KF, Adcock IM, 2008).

Kemokin yang berbeda ditemukan terlibat dalam chemotaxis monosit pada sputum induksi dari pasien PPOK. Terdapat peningkatan kemotaksis monosit pada pasien PPOK untuk CXCL1 / GRO- α atau CXCL7 / *netrofil activating peptide-2* tetapi tidak untuk CXCL8 / IL-8 atau CXCL5 / ENA-78, mungkin karena perbedaan regulasi reseptor CXCR2 pada pasien PPOK. Selama terjadi PPOK eksaserbasi yang terkait dengan netrofilia yang memerlukan ventilasi, ekspresi gen CXCL5 / ENA-78, CXCL8 / IL-8 dan reseptor CXCR2 meningkat pada jaringan, terutama pada epitel bronkus. CXCL5 / ENA-78 dan CXCL8 / IL-8 mengikat CXCR2 dan merupakan netrofil *chemoattractants*. Eosinofil menjadi lebih menonjol di antara sel-sel yang ditemukan dalam spesimen sputum atau biopsi bronkial. Peran TNF- α pada PPOK diuji dengan mempelajari pengaruh paparan asap rokok kronik pada reseptor TNF- α tikus uji dengan terdapatnya penghambatan parsial peningkatan MMP-9 dan MMP-12, rekrutmen netrofil dan makrofag dan pembesaran alveoli. Namun, uji coba antibodi anti-TNF- α pada PPOK derajat sedang sampai berat tidak menunjukkan manfaat simptomatik atau spirometrik, mungkin mengindikasikan bahwa terjadi perburukan pasien PPOK (Chung KF, Adcock IM, 2008).



esi berlebihan IL-13 dan IFN- γ menggunakan transgenik bersyarat diinduksi menyebabkan emfisema pada tikus. Ekspresi berlebihan

IL-13 mengakibatkan peradangan dan kerusakan paru yang tergantung pada MMP-9 dan MMP-12. Model tikus telah menunjukkan pentingnya interaksi penuaan pada PPOK. Pada paru yang tua, terjadi peningkatan elastin alveolar terfragmentasi, yang dapat mengaktifkan elastase netrofil, yang dapat menyebabkan apoptosis sel alveolar. Tikus dengan delesi protein *anti aging* Klotho menyebabkan awitan dini emfisema, dengan aktivasi MMP-9. Pada sel epitel bronkus, ROS memperkuat induksi mediator inflamasi, seperti enzim GM-CSF, CXCL8 / IL-8, IL-1b, cyclooxygenase 2, nitric oxide synthase-2 dan TNF- α dan antioksidan (glutamat sistein Ligase, Mn SOD dan thioredoxin). Jaringan paru dari pasien dengan tingkat keparahan derajat PPOK yang meningkat menunjukkan penurunan aktivitas HDAC yang bergradasi tinggi, penting untuk penekanan banyak gen inflamasi oleh glukokortikoid, dan peningkatan ekspresi IL-8 dan histon-4 asetilasi pada promotor IL-8. Ekspresi dan aktivitas HDAC2 menurun pada pasien PPOK tanpa perubahan aktivitas histone acetyl-transferase (Chung KF, Adcock IM, 2008). (Skema.7)



Skema 6. Mekanisme Inflamasi pada PPOK (Modifikasi dari Chung KF and Adcock IM, 2008)

