

PERAN POLIMORFISME GEN MATRIKS METALLOPROTEINASE-9 DENGAN KEJADIAN PENYAKIT PARU OBSTRUKTIF KRONIK

WILSON ARTHUR ZEIN¹, YAHWARDIAH SIREGAR², AMIRA P. TARIGAN³

¹Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara

³Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara/RSUP H. Adam Malik Medan

Email. drwilsonarthurzein@gmail.com

DOI : 10.35451/jkf.v3i1.427

Abstract

Excessive secretion of MMP-9 is one of the cause of COPD is which can cause undesirable lung tissue degradation. Increased expression of MMP-9 is associated with increased gene promoter activity. The purpose of this study was to determine the role of mettaloproteinase-9 matrix gene polymorphisms with COPD events. This was a case-control study. With a total sample of 60 patients consisting of 30 COPD patients and 30 non-COPD patients. Samples were amplified by PCR (Polymerase Chain Reaction) The results of DNA amplification were digested with SphI restriction enzyme to see the allele variant of MMP-9 C-1562T. Visualization of restriction results with 2% agarose gel electrophoresis will show 2 bands on the T allele (188bp, 247bp), 1 band on the C allele (435bp). The results obtained were homozygous CC variants in COPD 20 (66.67%) and non-COPD 21 (70%). Heterozygous variant of CT 10 (33.33%) in COPD and 9 (30%) in non-COPD. TT variant is not found at all. Based on the results obtained by the most CC homozygous variants in COPD (66.67%) and non-COPD (70%) and no association was found between MMP-9 polymorphism and COPD events ($p > 0.05$). Based on the results of this study, there is no significant relationship that we can conclude.

Keywords: COPD, MMP-9, Polymorphism

1. PENDAHULUAN

Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK) adalah penyakit paru kronik yang ditandai oleh hambatan aliran udara khususnya udara ekspirasi di saluran napas yang bersifat progressif non reversible atau reversible parsial. Gejala utamanya adalah sesak napas memberat saat aktivitas, batuk dan produksi sputum purulen. PPOK terdiri dari bronchitis kronik dan emfisema atau gabungan keduanya.^{7,10}

PPOK disebabkan oleh pajanan faktor risiko seperti merokok, polusi udara di dalam maupun di luar ruangan. Awal terjadinya penyakit

biasanya pada usia pertengahan dan tidak hilang dengan pengobatan. Didefinisikan sebagai PPOK jika pernah mengalami sesak napas yang bertambah ketika beraktifitas dan / atau bertambah dengan meningkatnya usia disertai batuk berdahak atau pernah mengalami sesak napas disertai batuk berdahak dan nilai Indeks Brinkman ≥ 200 . Indeks Brinkman adalah jumlah batang rokok yang dihisap, dihitung sebagai lama merokok (dalam tahun) dikalikan dengan jumlah rokok yang dihisap per hari. Hasil yang didapat melalui kuesioner akan lebih rendah dibanding pemeriksaan spirometri karena PPOK baru ada

keluhan bila fungsi paru sudah menurun banyak.⁸

PPOK merupakan penyebab utama angka kesakitan dan kematian di seluruh dunia. Pada perokok jangka panjang menyebabkan lebih dari 90% penyakit PPOK.¹ Pada perokok berat atau orang yang sering terpapar dengan asap rokok terjadi perubahan struktur di paru-paru. PPOK juga berhubungan dengan inflamasi sistemik yang ringan yang berpotensi untuk peningkatan komplikasi pada paru-paru dan menjadi faktor risiko pada pasien PPOK.⁴ Dan PPOK dihubungkan dengan eksaserbasi periodik yaitu terjadi perburukan gejala. Eksaserbasi memicu kondisi klinis yang beragam sesuai derajat serangan. Eksaserbasi akut ditandai oleh gejala sesak meningkat, peningkatan jumlah sputum dan perubahan purulensi sputum.

Prevalensi PPOK tertinggi terdapat di Nusa Tenggara Timur (10,0%), diikuti Sulawesi Tengah (8,0%), Sulawesi Barat, dan Sulawesi Selatan masing-masing 6,7 persen. Prevalensi PPOK meningkat seiring dengan bertambahnya usia, pada usia 25-34thn (1,6%), 35-44 thn (2,4%), 45-54 thn (3,9%), 55-64 thn (5,6%), 65-74 thn (8,6%), >75 thn (9,4%). Prevalensi PPOK lebih tinggi pada laki-laki dibanding perempuan dan cenderung lebih tinggi pada masyarakat dengan pendidikan rendah.⁸

PPOK merupakan penyakit ketiga terbesar yang menyebabkan peningkatan angka kesakitan dan kematian pada negara berkembang, namun penyakit ini belum bisa terdiagnosa dengan baik. Guideline dari *Global Initiative of Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD)* mendefinisikan PPOK di tahun 2016 sebagai penyakit umum yang bisa dicegah dan diobati dengan karakteristik tersumbatnya jalan nafas yang berlangsung secara progresif yang berhubungan dengan respon peradangan kronik pada jalan nafas.²

Pada PPOK, paparan berulang dari partikel berbahaya, biasanya berasal dari rokok, dapat mencetuskan kaskade inflamasi pada saluran napas kecil dan parenkim paru yang meliputi beberapa tipe sel (contohnya neutrofil, makrofag, limfosit) dan mediator inflamasi (contohnya faktor pertumbuhan, sitokin, kemokin, proteinase). Peningkatan produksi proteinase dan apoptosis sel septal alveolar menyebabkan destruksi dari struktur alveolar (emfisema). Proteinase juga mencetuskan hipersekresi mukus akibat peningkatan jumlah sel goblet dan menyebabkan pembesaran dari kelenjar submukosal saluran napas besar. Desposisi jaringan ikat disekitar saluran napas kecil menyebabkan penyempitan dinding saluran napas kecil (bronkiolitis obstruktif). Komponen selular utama pada PPOK, selain sel epitel, yaitu neutrofil dan makrofag. Aktivasi beberapa sel seperti faktor pertumbuhan, sitokin, metalloproteinase, dan proteinase serin menyebabkan hipersekresi mukus, degradasi matriks ekstraseluler, dan cedera pada sel epitel alveolar.⁹

Banyak penelitian yang telah menunjukkan bahwa metalloproteinase (MMP) berperan dalam patogenesis PPOK dan metalloproteinase 9 (MMP-9) mempunyai peran utama dalam proses ini.¹³ MMP-9 diproduksi terutama oleh makrofag dan neutrofil, dan juga oleh sel epitelial, sel mast, fibroblas, dan miosit. Struktur MMP-9 dibentuk oleh sekuensi propeptid, domain katalitik, domain fibronektin, dan domain hemopeksin. MMP-9 mengatur aktivitas gelatinolitik, elastolitik dan kolagenolitik, dan kunci utama dalam *turnover* matriks ekstraseluler.³ Sekresi berlebih dari MMP-9 dapat menyebabkan degradasi jaringan paru yang tidak diharapkan, dan ini merupakan salah satu penyebab PPOK, terutama diakibatkan stimuli dari asap rokok. Peningkatan ekspresi MMP-9 berhubungan dengan peningkatan aktivitas promoter gen. Polimorfisme -1572C/T (rs3918242) pada promoter gen MMP-9 dihubungkan dengan

ekspresi MMP-9 dan alel -1562T menyebabkan aktivitas transkripsi yang lebih tinggi.¹³

Dari hasil meta-analisis yang dilakukan Jiang (2016), polimorfisme MMP-9 SNP – 1562 C/T rs3918242 C>T diasosiasikan dengan PPOK (model alel: OR = 1,363, CI = 1,155 - 1,608, model dominan: OR = 1,472, CI = 1,214 - 1,785). Polimorfisme dari gen ini menyebabkan hilangnya ikatan dengan protein represor nuklear, sehingga meningkatkan ekspresi MMP-9 dan mencetuskan eksaserbasi pada PPOK.⁵ Atas dasar landasan penelitian tersebut, peneliti ingin melihat hubungan antara polimorfisme gen MMP-9 dengan kejadian PPOK dibandingkan dengan non PPOK pada pasien di Medan.

2. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian analitik, menggunakan desain penelitian *case-control*. Dengan jumlah sampel 60 pasien yang terdiri dari 30 pasien PPOK dan 30 pasien non PPOK. Sampel berasal dari Bahan Baku Tersimpan (BBT) yang disimpan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU. Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara dengan No:748/TGL/KEPK FK USU-RSUP HAM/2019. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2019-Desember 2019.

Bahan baku tersimpan diamplifikasi dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan PCR mix

(Go Taq® Green Master Mix (Promega USA) dengan primer yang digunakan Primer forward MMP-9: 5'GCC TGG CAC ATA GTA GGC CC-3' ; Primer reverse MMP-9: 5'CTT CCT AGC CAG CCG GCA TC-3'. PCR dengan suhu pre-denaturasi 94°C selama 5 menit, diikuti 35 siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 20 detik, annealing pada suhu 59°C selama 30 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 30 detik, dan tahap akhir pada suhu 72°C selama 2 menit. Hasil dari amplifikat DNA digesti dengan enzim restriksi *SphI* (Promega, Madison, USA) untuk melihat varian alel dari MMP-9 C-1562T. Visualisasi hasil restriksi dengan Elektroforesis Gel Agarosa 2% maka akan terlihat 2 band pada alel T (188bp, 247bp), 1 band pada alel C (435bp).

3. HASIL

Berdasarkan analisa polimorfisme terhadap 30 sampel PPOK dan 30 sampel non PPOK diperoleh varian homozigot CC hampir sama pada PPOK 20 (66,67%) maupun non PPOK 21 (70%). Varian heterozigot CT ditemukan 10 (33,33%) pada PPOK dan 9 (30%) pada non PPOK. Varian TT sama sekali tidak dijumpai sehingga kemungkinan pada populasi yang diteliti dominan jenis wildtype.

Analisa data diuji secara statistik dengan menggunakan teknik *chi square* untuk melihat adanya hubungan antara frekuensi distribusi polimorfisme gen MMP-9 homozigot CC, heterozigot CT dan homozigot TT pada PPOK dan non PPOK. Hasil uji statistik *chi square* menyatakan tidak ada hubungan polimorfisme gen MMP-9 pada PPOK ($p > 0,05$)

Polimorfisme	PPOK		Non PPOK		Total		Nilai p*
	N	%	N	%	N	%	
CC	20	33,3	21	35	41	68,3	0.781
CT	10	16,7	9	15	19	31,7	
Total	30	50	30	50	60	100	

Tabel 1. Hubungan antara polimorfisme gen MMP-9 dengan Kejadian PPOK

4. PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian ini polimorfisme gen MMP-9 tidak berperan secara signifikan dalam menentukan seseorang terkena PPOK atau non PPOK. Penelitian ini menunjukkan hasil yang tidak signifikan (nilai $p > 0,5$). Hal ini sejalan dengan penelitian Xu L, *et al* (2017) yang menemukan pada populasi di China yang berarti bahwa hasil yang diperoleh juga tidak signifikan.

Sejalan dengan penelitian Zhou, *et al* (2013) pada populasi Asian dan kaukasia dan penelitian Lee S.Y, *et al* (2010) pada populasi Korea juga mendapatkan hasil yang tidak signifikan yang artinya tidak menemukan hubungan antara MMP-9 dengan kejadian PPOK.

Sampel (PPOK dan Non PPOK) pada penelitian ini adalah populasi orang Medan. Penelitian Xu L, *et al* (2017) adalah populasi China, dan penelitian Lee S.Y, *et al* (2010) adalah populasi Korea.

Hal sebaliknya ditemukan oleh Montoya J.H, *et al* (2015) pada populasi Mexico menemukan polimorfisme gen MMP-9 berhubungan dengan peningkatan faktor resiko terjadinya PPOK.

Isolat DNA tersimpan yang digunakan pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kalibrasinya. Bahan biologi tersimpan ini masih dalam keadaan cukup baik dengan dibuktikan dari hasil amplifikasi isolat DNA pengukuran PCR dan RFLP pada analisa elektroforesis gel agarose 2% tampak band pada 435bp, 247bp dan 188bp.

MMP-9 atau gelatinase B, diproduksi terutama oleh makrofag dan neutrofil, dan juga oleh sel epitelial, sel mast, fibroblast, dan miosit. Struktur MMP-9 dibentuk oleh sekuensi propeptid, domain katalitik, domain fibronektin, dan domain hemopeksin. MMP-9 mengatur aktivitas gelatinolitik, elastolitik dan kolagenolitik, dan kunci

utama dalam *turnover* matriks ekstraselular.³

Polimorfisme dari gen ini menyebabkan hilangnya ikatan dengan protein represor nuklear, sehingga meningkatkan ekspresi MMP-9 dan mencetuskan eksaserbasi pada PPOK.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan temuan-temuan tersebut, telah diperoleh hasil yang berbeda yaitu ada yang mendapatkan hasil positif dan berhubungan dengan kejadian PPOK, tetapi ada pula yang hasilnya negatif dan tidak ditemukan hubungan antara polimorfisme MMP-9 dengan kejadian PPOK. Hal ini disebabkan pada populasi Indonesia yang diteliti pada studi ini hanya ditemukan distribusi genotip homozigot CC dan heterozigot CT sedangkan homozigot TT tidak ditemukan. Berdasarkan hasil penelitian ini, tidak terdapat hubungan yang signifikan yang dapat kita simpulkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Caramori G, Ruggeri P, Stefano AD, Mumby S, Girbino G, Adcock IM, *et al*. 2017. Autoimmunity and COPD: clinical implications. *CHEST*, doi: 10.1016/j.chest.2017.10.033.
- Andreeva E, Pokhaznikova M, Lebedev A, Moiseeva I, Kuznetsova O, Degryse JM. 2017. Spirometry is not enough to diagnose COPD in epidemiological studies: a follow-up study, *npj Primary Care Respiratory Medicine* 27:62 ; doi:10.1038/s41533-017-0062-6.
- Grzela K, Litwiniuk M, Zagorska W, Grzela T. 2015. Airway Remodeling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma: the Role of Matrix Metalloproteinase-9, *Arch. Immunol. Ther. Exp.*
- Lee S.Y, *et al*. 2010. Polymorphism in Matrix Metalloproteinase-1, -9

- and -12 Genes and the Risk of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a Korean Population. *Respiration*, Volume 80:137.
- Jiang S, Yang ZH, Chen YY, He Z, Zhou Y, Gao Y, *et al.* 2016. MMP-9 genetic polymorphism may confer susceptibility to COPD. *Genetics and Molecular Research* 15 (2): gmr. 15026272.
- Montoya JH, Ramos JP, Montaña M, Venegas AR, Sansores RH, Rubio GP, *et al.* 2015. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases and protein levels in chronic obstructive pulmonary disease in a Mexican population. *Biomark Med*, 9(10): 979 – 988.
- [PDPI] Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. 2003. Penyakit Paru Obstruktif Kronik :Pedoman Diagnosis & Penatalaksanaan di Indonesia.
- [Riskesmas] Riset Kesehatan Dasar. 2013.
- Sethi S, Mahler DA, Marcus P, Owen CA, Yawn B, Rennard S. 2012. Inflammation in COPD: Implications for Management, *Am J Med*, 125: 1162 – 1170.
- Tarigan, R, Tarigan AP, Wahyuni DD, Eyanoe PC. 2019. Hubungan Pola Kuman dengan Derajat Obstruksi (VEP₁) pada Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK) Eksaserbasi Akut. *J Respir Indo* Vol. 39 No. 3
- Xu L, Bian W, Gu XH, Shen C. 2017. Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and transforming growth faktor- β 1 and susceptibility to combined pulmonary fibrosis and emphysema in a Chinese population, *KJMS*, 33, 124 – 129.
- Zhou H, Wu Y, Jin Y, Zhou J, Zhang C, Che L, *et al.* 2013. Genetic Polymorphism of Matrix Metalloproteinase Family and Chronic Obstructive Pulmonary Disease Susceptibility: a Meta-analysis. *Scientific Reports* (3: 2818).
- Gilowska I, Kasper A, Bogacz K, Szczegielniak J, Szymasek T, Kasper M, *et al.* 2018. Impact of Matrix Metalloproteinase 9 on COPD Development in Polish Patients: Genetic Polymorphism, Protein Level, and Their Relationship with Lung Function. *Research Article. BioMed Research International*. Volume 2018, Article ID 6417415, 11 pages.
<https://doi.org/10.1155/2018/6417415>