

**DISERTASI**

**ANALISIS EKSPRESI mRNA INTERLEUKIN 7 DAN FAKTOR  
PERTUMBUHAN PLATELET DERIVED GROWTH FAKTOR BB  
SEBAGAI PENANDA POTENSIAL PADA ERITEMA NODOSUM  
LEPROSUM**

**ANALYSIS OF INTERLEUKIN 7 AND PLATELET DERIVED  
GROWTH FAKTOR BB mRNA EXPRESSION AS POTENTIAL  
MARKERS IN ERYTHEMA NODOSUM LEPROSUM**



**FITRI KADARSIH BANDJAR  
C013181035**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**DISERTASI**

**ANALISIS EKSPRESI mRNA INTERLEUKIN 7 DAN FAKTOR  
PERTUMBUHAN PLATELET DERIVED GROWTH FAKTOR BB  
SEBAGAI PENANDA POTENSIAL PADA ERITEMA  
NODOSUM LEPROSUM**

***ANALYSIS OF INTERLEUKIN 7 AND PLATELET DERIVED GROWTH  
FACTOR BB mRNA EXPRESSION AS POTENTIAL MARKERS  
IN ERYTHEMA NODOSUM LEPROSUM***

Disusun dan diajukan  
Oleh

**Fitri Kadarsih Bandjar**  
C013181035

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 18 Agustus 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui  
Promotor,

**Prof. Dr. dr. Farida Tabri, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV**  
Nip. 19540128 198303 2 002

Co. Promotor

**Dr. dr. Sri Vitayani, Sp.KK(K)**  
Nip. 19571231 198103 1 041

Co. Promotor

**Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)**  
Nip. 19570416 198503 1 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**  
Nip. 19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK**  
Nip. 19680530 199603 2 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297  
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

**PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fitri Kadarsih Bandjar  
NIM : C013181035  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Analisis ekspresi mRNA Interleukin 7 dan Faktor pertumbuhan Platelet Derived Growth Faktor BB sebagai Penanda Potensial pada Eritema Nodosum Leprosum

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 Agustus 2023

Yang Menyatakan,

Fitri Kadarsih Bandjar

## PRAKATA

Alhamdulillah dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul **“ANALISIS EKSPRESI mRNA INTERLEUKIN 7 DAN FAKTOR PERTUMBUHAN PLATELET DERIVED GROWTH FAKTOR BB SEBAGAI PENANDA POTENSIAL PADA ERITEMA NODOSUM LEPROSUM”** ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. dr. Farida Tabri, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV sebagai promotor, Dr. dr. Sri Vitayani, Sp.KK(K) dan Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) sebagai co-promotor yang telah mencurahkan waktunya untuk membimbing, memberikan kritik, saran dan perbaikan, serta memberikan dorongan secara terus-menerus kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh Tim Penguji yang telah memberikan support dan masukan selama mengikuti pendidikan doktoral di Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran FK Unhas

Tak lupa ucapan terima kasih yang setinggi tingginya kepada seluruh TIM Penguji Disertasi saya ini yang telah meluangkan waktunya dan memberi support dan masukan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran yang telah memfasilitasi proses pendidikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Pattimura yang telah memberikan ijin belajar kepada penulis untuk menempuh pendidikan S3 dan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura yang telah memfasilitasi penulis untuk dapat menempuh dan menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua, suami, anak dan seluruh keluarga atas pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf Prodi S3 dan semua pihak yang memberikan dukungan kepada penulis yang tidak bisa disebutkan satu persatu sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. Semoga kebaikan-kebaikan dari semua pihak diatas dicatat sebagai amal ibadah oleh Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk dapat menyempurnakan disertasi ini.

Makassar, 18 Agustus 2023

Fitri Kadaris Bandjar



## ABSTRAK

FITRI KADARSIH BANDJAR. *Analisis Ekspresi mRNA Interleukin 7 dari Faktor Pertumbuhan Platelet Derived Growth Faktor BB sebagai Penanda Potensial pada Eriterna Nodosum Leprosium* (dibimbing oleh Farida Tabri, Sri Vitayani, Mochammad Hatta).

Penelitian ini bertujuan menganalisis ekspresi mRNA IL-7 dan Ekspresi mRNA PDGF-BB sebagai penanda potensial pada ENL. Penelitian ini menggunakan desain penelitian analitik *cross sectional*. Penelitian ini dilakukan di Makassar, RSUP Balai Pengobatan Kulit Sulsel dan RSUD Haulussy Kota Ambon sebagai tempat pengambilan sampel. Adapun Laboratorium Biologi Molekuler dan Imulogi FK Unhas sebagai tempat pemeriksaan sitokin ekspresi mRNA. Populasi penelitian adalah penderita reaksi ENL yang telah mendapat terapi MDT-MB yang datang ke RS tempat pengambilan sampel. Sampel penelitian adalah seluruh populasi terjangkau memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consen*. Pengambilan sampel darah diambil dari vena mediana kubiti dengan menggunakan vacutainer sebanyak 3 cc dengan cara aseptik menggunakan jarum suntik disposibel 3 cc dan dimasukkan dalam tabung sentrifus. Darah dalam tabung diputar 10-15 menit dengan kecepatan 2000 rpm, serum yang berada di bagian atas dipisahkan kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu -20<sup>0</sup>. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi mrNA IL-7 pada pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL lebih tinggi daripada ekspresi mrNA IL-7 pada pasien kusta tipe MB tanpa reaksi ENL, terdapat perbedaan yang bermakna antara ekspresi mrNA IL-7 pada pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL dan ekspresi mrNA IL-7 pada pasien kusta tipe MB tanpa reaksi ENL. Ekspresi mrNA PDGF-BB pada pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL lebih tinggi daripada ekspresi mrNA PDGF-BB pada pasien kusta tipe MB tanpa reaksi ENL, terdapat perbedaan yang bermakna antara ekspresi mrNA PDGF-BB pada pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL dan ekspresi mrNA PDGF-BB pada pasien kusta tipe MB tanpa reaksi ENL.

Kata kunci: ekspresi mRNA interleukin 7, palatelet *derived growth factor* BB, penanda potensial, eriterna nodosum leprosum, leprosi



## ABSTRACT

FITRI KADARSIH BANDJAR. *Analysis of Interleukin 7 mRNA Expression and Platelet Derived Growth Factor BB Growth Factor as Potential Markers in Erythema Nodosum Leprosum* (supervised by Farida Tabri, Sri Vitayani and Mochhammad Hatta).

The research aims at elaborating IL-7 mRNA expression and PDGF-BB mRNA expression as the potential markers in ENL. The research used the cross-sectional analytic design. The research was conducted in Makassar, South Sulawesi Skin Medicine Centre, General Hospital and Haulussy General Hospital, Ambon City, as the sampling sites. While the Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Faculty of Medicine, UNHAS as the place for the cytokine examination and mRNA expression. The research populations were the patients with ENL reactions who had received MDT-MB therapy and came to the hospital where the samples were taken. The research samples were the entire affordable populations that met the inclusive criteria and were willing to participate in the research by signing the informed consent. Blood samples were taken from the median cubital vein using a 3 cc vacutainer in an aseptic manner using a 3 cc disposable syringe and put in a centrifuge tube. The blood in the tube was rotated for 10-15 minutes at the speed of 2000 rpm, the serum at the top was separated and then stored in the refrigerator at -200: The research results indicate that IL-7 mRNA expression in the MB type leprosy patients with the ENL reaction is higher than the IL-7 mRNA expression in the MB type leprosy patients without the ENL reaction. There is the significant difference between the IL-mRNA expression 7 in the MB type leprosy patients and the ENL reaction and the IL-7 mRNA expression in the MB type leprosy patients without the ENL reaction. The PDGF-BB mRNA expression in the MB type leprosy patients with the ENL reaction is higher than the PDGF-BB mRNA expression in the MB type leprosy patients without the ENL reaction. There is the significant difference between the PDGF-BB mRNA expression in the MB type leprosy patients and the ENL reaction and the PDGF-B8 mRNA expression in the MB type leprosy patients without the ENL reaction.

Key words: Interleukin 7 mRNA expression, platelet derived growth factor BB, potential markers, Erythema Nodosum Leprosum, leprosy



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iii
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR. ....	x
DAFTAR SINGKATAN .....	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Identifikasi dan Rumusan Masalah.....	6
1.3 Hipotesis Penelitian .....	6
1.4 Tujuan Penelitian .....	7
1.3.1 Tujuan Umum .....	7
1.3.2 Tujuan Khusus .....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat Akademis.....	7
1.4.2 Manfaat untuk Pelayanan.....	7
1.4.3 Manfaat untuk penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum Reaksi ENL .....	9
2.1.1 Definisi.....	9
2.1. 2 Patogenesis.....	9
2.1.3 Manifestasi Klinik.....	11
2.1.4 Pemeriksaan Penunjang .....	13
2.1.5. Diagnosis.....	15
2.1.6 Terapi .....	17
2.2 Imunologi Reaksi ENL.....	19

2.3 Peranan Sitokin Interleukin 7 pada ENL .....	21
2.4 Peranan PDGF BB pada ENL .....	24
2.5 Ekstraksi DNA .....	28
2.6 Kerangka Teori.....	31
2.7 Kerangka Konsep .....	32
<b>BAB III</b> <b>METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Desain Penelitian.....	33
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	33
3.3 Populasi Penelitian .....	33
3.4 Sampel Penelitian .....	33
3.5 Kriteria Sampel .....	34
3.6 Prosedur Penelitian .....	34
3.7 Alur Penelitian .....	41
3.8 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif .....	41
3.9 Pengolahan dan Analisis Data .....	43
3.10 Etika Penelitian .....	43
<b>BAB IV</b> <b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Penelitian.....	44
4.1.1 Deskripsi Karakteristik sampel .....	44
4.1.1 Analisis Ekspresi mRNA Interleukin 7.....	45
4.1.2 Analisis Ekspresi mRNA PDGF-BB.....	46
4.1.3 Analisis Korelasi Interleukin 7 dan PDGF BB .....	47
4.2 Pembahasan..... ,	50
<b>BAB V</b> <b>PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	56
5.2 Saran .....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>57</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 1	Kriteria Diagnosis Reaksi Kusta Tipe 2 .....	16
Tabel 2	Perbedaan Reaksi Ringan dan Berat .....	16
Tabel 3	Karakteristik Responden Berdasarkan Usia dan Jenis Kelamin	44
Tabel 4	Analisis Ekspresi mRNA Interleukin 7 .....	45
Tabel 5	Analisis Ekspresi mRNA PDGF-BB .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Efek Interleukin 7 pada sistem imun .....	23
Gambar 2	Kurva ROC Interleukin 7.....	44
Gambar 3	Kurva ROC PDGF-BB .....	46
Gambar 4	Korelasi Interleukin 7 dan PDGF-BB pada pasien kusta MB tanpa reaksi ENL .....	47
Gambar 5	Korelasi Interleukin 7 dan PDGF-BB pada pasien kusta MB dengan reaksi ENL .....	48
Gambar 6	Korelasi Interleukin 7 dan PDGF-BB pada pasien kusta MB dengan dan tanpa reaksi ENL .....	49

## DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BB	: <i>Borderline Borderline</i>
BL	: <i>Borderline Lepromatous</i>
BT	: <i>Borderline Tuberculoid</i>
BTA	: <i>Basil Tahan Asam</i>
CCL	: <i>Chemokine Ligand</i>
CD4	: <i>Cluster Differensiasi 4</i>
CMI	: <i>Cell Mediated Immunity</i>
Ct	: <i>Cycle threshold</i>
CXCL	: <i>C-X- Chemokine Ligand</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	: <i>Ethylen Diamine Tera Acetic Acid</i>
ENL	: <i>Eritema Nodosum Leprosum</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GADPH	: <i>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>
GUSCN	: <i>Guanidium tyhocianate</i>
IFN- $\gamma$	: <i>Interferon gamma</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
IgM	: <i>Immunoglobulin M</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
LL	: <i>Lepromatous Leprosy</i>
M.Leprae	: <i>Mycobacterium Leprae</i>
MB	: <i>Multibasiler</i>
MDT	: <i>Multi Drug Therapy</i>
mRNA	: <i>messenger Ribonucleicacid</i>
NSAID	: <i>Non Steroid Anti Inflamassi Drugs</i>
PB	: <i>Pausibasiler</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reactive</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Hormon</i>
RA	: <i>Rheumatoid Arthritis</i>

ROC	: Receiver operating characteristic
SGOT	: Serum Glutamic Oxaloactic Transaminase
SGPT	: Serum Glutamic Pyruvic Transaminase
SLE	: Systemic Lups Eritematosus
Th1	: T helper 1
Th2	: T helper 2
TNF- $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor alpha
TT	: Tuberculoid Tuberculoid
T1R	: Reaksi Tipe 1
T2R	: Reaksi Tipe 2
VEGF	: Vascular Endhotelial Growth Factor
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule-1
WHO	: World Health Organizations

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Kusta merupakan penyakit infeksi kronik yang berkembang lambat yang disebabkan *Mycobacterium Leprae*. Penyakit ini mula-mula menyerang saraf tepi dan kulit, selanjutnya dapat mengenai organ atau sistem lain seperti mata, mukosa mulut, saluran pernapasan, sistem retikuloendotelial, otot, tulang dan testis, kecuali susunan saraf pusat (Amiruddin, et al 2012, Katoch, 2004). Penyakit ini dapat menyebabkan defornitas yang luas dan permanen pada kulit dan saraf perifer, sehingga dapat menimbulkan kecacatan yang berat dan irreversible (Bryceson A and E. Pfaltzgraff R, 2002).

Penyakit kusta sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di negara-negara berkembang. Pada tahun 2018, data WHO menunjukkan bahwa total 208.619 kasus baru kusta dilaporkan pada 2018 dari 127 negara, termasuk semua negara endemik. Prevalensi global terdaftar dari penyakit pada akhir 2018 menurun 8501 kasus dari yang dilaporkan pada akhir 2017. Data tersebut menunjukkan pada wilayah Asia Tenggara melaporkan 71% dari semua kasus global: 2 negara - India (120.334 kasus) dan Indonesia (17.017 kasus) berkontribusi 92% dari kasus di Wilayah ini. Di Wilayah Amerika, Brasil melaporkan tingkat kasus tinggi (28.665 kasus) mewakili 93% dari semua kasus di Wilayah ini. Gabungan, Brasil, India dan Indonesia menyumbang 79,6% dari semua kasus baru yang terdeteksi secara global (WHO, 2019).

Dari 159 negara dan teritori yang menyediakan data, 32 melaporkan 0 kasus, 47 melaporkan 1–10 kasus, 24 melaporkan 11-100 kasus, 41 melaporkan 101–1000 kasus dan 15 melaporkan lebih dari 1000 kasus, termasuk Brasil, India dan Indonesia yang masing-masing melaporkan lebih dari 10.000 kasus baru. Prevalensi kusta secara global adalah 213.036, jumlah kasus baru yang terdeteksi adalah 254.525. Ada 208 619 kasus kusta baru terdaftar secara global pada tahun 2018 (WHO, 2019).

Di Indonesia berdasarkan data dari kementerian kesehatan pada tahun 2019 dilaporkan jumlah kasus baru kusta sebesar 17.439 kasus. Di provinsi



Sulawesi Selatan tercatat 1152 kasus baru dengan Angka Penemuan Kasus Baru NCDR (New Case Detection Rate) sebesar 13,02 Per 100.000 penduduk. Di provinsi Maluku tercatat 431 kasus baru dengan Angka Penemuan Kasus Baru NCDR (New Case Detection Rate) sebesar 23,91 Per 100.000 penduduk (Kementerian Kesehatan RI, 2019).

World Health Organizations (WHO) mengelompokkan penyakit kusta atas dua kelompok berdasarkan jumlah lesi kulit dan pemeriksaan apusan lesi kulit, penyakit kusta diklasifikasikan menjadi 2, yaitu : tipe PB ( pausibasiler) terdiri atas tipe Indetermifnate (I), Tuberculoid (TT) dan Borderline Tuberculoid (BT). Jumlah lesi sebanyak 1-5 lesi kulit, hasil pemeriksaan Basil tahan asam (BTA) negatif. Dan Tipe MB terdiri atas tipe Borderline Borderline (BB), Borderline Lepromatous (BL) dan Lepromatous Lepromatous (LL). Jumlah lesi lebih atau sama dengan 6 lesi kulit, hasil pemeriksaan BTA positif (Amiruddin,et al 2012).

Manifestasi klinis dan temuan patologi dari kusta tergantung pada respon imun pasien terhadap *M.Leprae* (Rusyati LM,et al 2020). Perbedaan akumulasi sel T subset pada lesi kusta menunjukkan gambaran bentuk proteksi dari *M.Leprae*. Pada kasus infeksi *M.Leprae*, tipe klinis penyakit tergantung dari perbedaan imunitas Th1 individu. Adanya defek imunologi pada kusta yang spesifik menunjukkan bahwa gangguan yang terjadi meliputi tingkat sel penyaji antigen atau Antigen Presenting Cell (APC), limfosit T atau B, proses pembentukan limfokin dan antibody ( Lockwood, et al. 2004).

Masalah utama dalam manajemen pasien kusta adalah perkembangan menjadi reaksi kusta, yang dapat terjadi kapan saja selama perjalanan penyakit : sebelum diagnosis, selama pengobatan dan bahkan bertahun-tahun setelah pelepasan pengobatan ( Hungria EM et al, 2017, Pandhi D, et al, 2013 ). Reaksi kusta merupakan episode peradangan akut yang dimediasi secara imunologis yang jika tidak didiagnosis dan diobati segera dapat menyebabkan gangguan fungsi saraf yang tidak dapat diperbaiki dan ketidakmampuan permanen. Reaksi kusta dapat terjadi sekitar 30-50 % dari kasus kusta (Scollard et al, 1994, Rodrigues LC et al, 2011).

Terdapat dua jenis reaksi kusta ; reaksi tipe 1 (T1R) atau Reaksi Reversal (RR) yang berhubungan dengan imunitas tipe Th1. Reaksi kusta tipe 1 terutama terjadi pada kusta tipe borderline (BT, BB, BL) dan biasanya terjadi dalam 6 bulan pertama ataupun sedang dalam mendapat pengobatan. Pada reaksi ini terjadi peningkatan respon kekebalan seluler secara cepat terhadap kuman kusta dikulit dan syaraf pada pasien kusta. : dan reaksi tipe 2 (T2R) atau eritema nodosum leprosum (ENL) yang terkait dengan respon imun tipe-Th2. (Pandhi D, et al, 2013, Kumar B et al, 2004 ). Reaksi kusta tipe 2 terutama terjadi pada kusta tipe lepromatous (BL, LL). Diperkirakan 50% pasien kusta tipe LL Dan 25% pasien kusta tipe BL mengalami episode ENL (Kahawita IP et al, 2008).

Erythema Nodosum Leprosum (ENL) adalah komplikasi imunologi yang serius serta sukar ditangani yang terjadi pada penyakit kusta, khususnya pada spektrum Borderline Lepromatous (BL) dan Lepromatous Leprosy (LL). (Fitness J et al, 2002). Reaksi ENL cenderung berlangsung kronis dan rekuren. Kronisitas dan rekurensi ENL menyebabkan pasien kusta akan tergantung kepada pemberian steroid jangka panjang (Kahawita IP et al, 2008 ). Mekanisme imunologi ENL belum sepenuhnya dapat dimengerti, diduga merupakan suatu reaksi yang diperantarai oleh adanya reaksi imun kompleks disertai dengan vaskulitis. Reaksi ini juga dikaitkan dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi, pelepasan sitokin inflamasi dan diikuti oleh infiltrasi neutrofilik yang berkontribusi pada pengembangan berbagai temuan klinis karakteristik bervariasi tergantung pada organ yang terlibat. Pada reaksi tipe 2, vaskulitis dan / atau panniculitis bersamaan terjadi dengan infiltrasi inflamasi oleh neutrofil (BilikL et al, 2017).

Neuritis dan peradangan kulit adalah gejala yang menonjol dari kedua jenis reaksi dan disertai dengan gejala sistemik berupa malaise, demam, dan peradangan pada jaringan lain yang merupakan karakteristik dari kedua reaksi T1R dan terutama T2R. Dalam reaksi kusta, mekanisme imunologis peradangan dan inflamasi tidak diragukan lagi penting, tetapi peningkatan reaktivitas imunologis sentral pada limpa dan kelenjar getah bening dapat berkontribusi terhadap penyakit secara keseluruhan. Dalam penelitian pada manusia, dari

sampel plasma memberikan hasil yang sesuai dari mediator larut yang diproduksi oleh organ limfoid sentral (Stefani MM et al, 2009).

Sitokin memainkan peran penting dalam perlindungan dan imunopatologi kusta dan dianggap komponen penting dari reaksi kusta (Scollard DM et al, 2006). T1R telah ditandai dengan imunitas tipe Th1 in situ dengan peningkatan spontan imunitas yang dimediasi sel dengan infiltrasi IFN $\gamma$  dan TNF $\alpha$ , mensekresi sel T CD4 + pada lesi kulit dan saraf. T2R adalah respons inflamasi sistemik yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil, aktivasi komplemen, kompleks imun ekstra-vaskular, dan kadar TNF $\alpha$  yang tinggi dalam lesi jaringan dan sirkulasi (Moraes MO et al, 1999, Stefani MM et al, 2003).

ENL sering disebut sebagai kondisi yang dimediasi kompleks imun neutrofilik (Polycarpou A et al, 2017). Deposit kompleks imun telah terlibat dalam lesi kulit ENL. Hal ini terutama didorong oleh respon imun kulit yang menyimpang yang dimodifikasi oleh kerentanan genetik dan berbagai rangsangan lingkungan (mis., Kehamilan, laktasi, pubertas, infeksi berulang, vaksinasi, dan tekanan psikologis). Peningkatan level faktor nekrosis tumor (TNF) - $\alpha$  dan sitokin proinflamasi lainnya telah dikaitkan dengan episode ENL sementara, di arah yang berlawanan, penekanan TNF mengarah pada perbaikan klinis (Sampaio EP et al, 1993, Sampaio EP et al, 1998).

Identifikasi penanda laboratorium untuk memprediksi terjadinya reaksi kusta tetap menjadi prioritas dalam penelitian kusta yang bertujuan untuk mencegah kerusakan saraf yang irreversibel. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menyaring faktor-faktor plasma untuk identifikasi biomarker terkait dengan reaksi kusta tipe 1 dan tipe 2. CXCL10 dan IL-6 terbukti sebagai penanda plasma potensial untuk reaksi reversal, sedangkan IL-7, PDGF-BB dan IL-6 sebagai penanda laboratorium pada reaksi ENL (Stefani MM et al, 2009).

IL-7 adalah sitokin imunoregulasi kuat yang diproduksi oleh sel-sel imun tubuh dan sel-sel jaringan di lokasi-lokasi karakteristik inflamasi untuk beberapa penyakit inflamasi kronis, dan telah ditemukan korelasi antara IL-7 dan parameter penyakit. IL-7 merupakan pengatur dalam pengembangan dan proliferasi sel B dan sangat penting untuk kelangsungan hidup sel T naif dan memori, terutama sel memori CD4 (Bikker A et al, 2012). Telah dilaporkan kadar IL-7 yang

bersirkulasi tinggi terdeteksi pada pasien LL dengan reaksi ENL dibandingkan kepada pasien LL yang tidak terjadi reaksi, hal ini mendukung peran mekanisme yang dimediasi sel B dan sel T dalam reaksi ini. Peningkatan tingkat sirkulasi IL-7 pada reaksi ENL mendukung peran sel B dan sel-T mediasi dalam mekanisme terjadinya reaksi ini (Stefani MM et al, 2009).

PDGF adalah protein dimeric 28-kDa yang dilepaskan dari trombosit teraktivasi dan bersifat mitogenik untuk sebagian besar turunan sel mesenkim termasuk fibroblas dan sel otot polos. PDGF memiliki dua bentuk yang homodimerik dan heterodimerik dimer yang terdiri dari rantai A dan / atau B, dua gen tambahan telah diidentifikasi dengan encoding polipeptida yaitu PDGF-C dan PDGF-D. Sampai sekarang, lima komposisi dimerik telah diidentifikasi : PDGF-AA, -BB, -AB, CC, dan -DD. Setiap rantai dikodekan oleh gen yang terpisah dan diatur secara independen. Hal tersebut menjadikan terjadinya beberapa proses fisiologis dan patologis yang melibatkan pembentukan pembuluh darah baru, termasuk perbaikan luka, embriogenesis, aterosklerosis, dan pertumbuhan tumor (Fretto LJ et al, 1993, Brown DM et al, 1995).

Pada reaksi ENL, telah dilaporkan terdapat perbedaan signifikan antara pasien ENL dan kontrol dalam peningkatan VEGF dan PDGF-BB, ini merupakan temuan yang menarik karena ENL sering dikaitkan dengan vaskulitis. Temuan ini membutuhkan penelitian lanjutan sehingga dapat memberikan petunjuk baru dalam pathogenesis dan penanda dalam reaksi kusta (Stefani MM et al, 2009).

Meskipun terdapat bukti mediator imunologis dan molekuler dari reaksi kusta, tidak ada penanda tunggal atau kombinasi penanda yang cukup terkait dengan reaksi kusta untuk memungkinkan penggunaannya sebagai tes laboratorium untuk diagnosis atau manajemen T1R atau T2R (Stefani MM et al, 2009). Sensitifitas dan spesifisitas dari sitokin tersebut diperlukan untuk menentukan penanda reaksi kusta.

Dari penelusuran penulis, hanya satu penelitian yang dilakukan di Brazil yang menjelaskan keterlibatan IL-7 dan PDGF-BB pada ENL, dimana terdapat peningkatan kadar sirkulasi IL-7 dan PDGF-BB pada pasien ENL. Padahal bila ditinjau dari teori fungsi dan efek pada sistem imun, Interleukin 7 dan PDGF-BB memiliki peranan yang sesuai dalam patomekanisme reaksi ENL. Pemeriksaan

kadar protein bersirkulasi bisa memiliki kekurangan karena hasilnya dapat dipengaruhi oleh sitokin proinflamasi lainnya yang dapat menyebabkan peningkatan atau penurunan dari kadar proteinya tersebut. Oleh karena itu, penulis ingin melakukan pendalaman dengan pemeriksaan yang lebih spesifik dan sensitif yang menggambarkan kemampuan fungsional dari Interleukin 7 dan PDGF-BB yaitu dengan pemeriksaan ekspresi mRNA. Penelitian dilakukan di Indonesia dengan sampel pasien kusta yang berbeda variasi genetik dan host susceptibilitynya dengan penelitian sebelumnya. Diharapkan dengan pengetahuan mengenai ekspresi mRNA IL-7 dan PDGF-BB pada pasien ENL, dapat membantudalam intervensi target terapi baru pada pasien ENL sehingga dapat mengurangi komplikasi kecacatan dan peningkatan kualitas hidup pasien.

## **1.2 Identifikasi dan Rumusan Masalah**

Dengan latar belakang masalah diatas, maka timbul pertanyaan yang menjadi dasar dilakukannya penelitian, yaitu :

- a. Apakah terdapat perubahan ekspresi mRNA IL-7 pada pasien dengan reaksi ENL ?
- b. Apakah terdapat perubahan ekspresi mRNA PDGF-BB pada pasien dengan reaksi ENL ?
- c. Apakah perubahan ekspresi mRNA IL-7 dan ekspresi mRNA PDGF-BB dapat menjadi penanda potensial pada pasien reaksi ENL?

## **1.3 Hipotesis**

- a. Terdapat peningkatan ekspresi mRNA IL-7 pada pasien dengan reaksi ENL
- b. Terdapat peningkatan ekspresi mRNA PDGF-BB pada pasien dengan reaksi ENL.
- c. Peningkatan ekspresi mRNA IL-7 dan ekspresi mRNA PDGF-BB dapat menjadi penanda potensial pada pasien dengan reaksi ENL



## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan Umum**

Untuk menganalisis ekspresi mRNA IL-7 dan ekspresi mRNA PDGF-BB sebagai penanda potensial pada ENL

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

- a. Untuk menentukan ekspresi mRNA IL-7 pada pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL dan tanpa reaksi ENL
- b. Untuk menganalisis perubahan ekspresi mRNA IL-7 pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL dan tanpa reaksi ENL
- c. Untuk menentukan ekspresi mRNA PDGF-BB pada pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL dan tanpa reaksi ENL
- d. Untuk menganalisis perubahan ekspresi mRNA PDGF-BB pasien kusta tipe MB dengan reaksi ENL dan tanpa reaksi ENL
- e. Untuk menganalisis perubahan ekspresi mRNA IL-7 dan ekspresi mRNA PDGF-BB sebagai penanda potensial pada reaksi ENL.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Manfaat Akademis**

Menambah referensi ilmiah dalam penentuan biomarker penanda potensial pasien ENL

### **1.5.2 Manfaat untuk pelayanan kesehatan**

- a. Menjadi dasar pengetahuan dalam mengevaluasi perubahan biomolekuler yang terjadi pada pasien ENL
- b. Dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan target terapi baru pada kusta dan reaksi ENL

### **1.5.3 Manfaat untuk penelitian**

Diharapkan dapat menjadi dasar pengetahuan dalam melakukan penelitian selanjutnya terkait kusta dan reaksi kusta

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Umum Reaksi Eritema Nodosum Leprosum**

##### **2.1.1 Defenisi**

Eritema Nodosum Leprosum adalah komplikasi imunologi dari kusta yang menyebabkan peradangan pada kulit, saraf dan organ lain (Fitness J et al, 2002 ). ENL dapat timbul sebelum, saat pengobatan maupun setelah pengobatan. Sebagian besar pasien dengan reaksi ENL mengalami beberapa episode dalam beberapa tahun, baik sebagai episode akut yang multiple maupun ENL kronis (Kahawita IP et al, 2008, Bilik L et al, 2017).

ENL terjadi pada kusta tipe multibasiler, 50 % pada kusta tipe LL dan 5-10 % pada kusta tipe BLprevalensi ENL pada tipe BL dan LL bervariasi dari 19-26% di Asia sampai 37% di Brazil (Kahawita IP et al, 2008 , Stefani MM et al, 2009)

ENL dapat menyebabkan kecacatan dan disabilitas sehingga kualitas hidup penderita menurun. Diagnosis kasus lebih awal, penanganan yang tepat serta identifikasi pasien yang memiliki resiko terjadinya komplikasi adalah tahapan untuk mencegah kecacatan yang disebabkan oleh kusta (Naafs B, 2000)

##### **2.1.2 Patogenesis**

Reaksi ENL dikaitkan dengan imunitas humoral, dimana terjadi fenomena kompleks imunakibat reaksi antara antigen dan antibodi IgG dan komplemen dan aktivasi sementara imunitas seluler yang ditunjukkan dari produksi sitokin Th1. (Kahawita IP et al, 2008 , Nath I et al, 2015). ENL merupakan reaksi hipersensitivitas tipe 3 yangterkait dengan pengendapan imunokompleks yang dihasilkan oleh pengikatan antigen yang dilepaskan karena penghancuran basil oleh antibodiI (Masaki T et al, 2014). Imunokompleks ini tidak dapat difagositosis oleh makrofag, beredar di darah dan dapat mengendap

dalam jaringan terutama di dinding pembuluh darah. Reaksi ini juga dikaitkan dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi. Pelepasan sitokin inflamasi dan diikuti oleh infiltrasi neutrofilik berkontribusi pada pengembangan berbagai temuan klinis karakteristik yang bervariasi tergantung pada organ yang terlibat (Bilik L et al, 2017).

ENL diduga merupakan suatu reaksi yang diperantarai oleh adanya reaksi imun kompleks disertai dengan vaskulitis. Pada reaksi ini, vaskulitis dan / atau panniculitis bersamaan terjadi dengan infiltrasi inflamasi oleh neutrofil.<sup>13</sup> Selain itu, pada ENL konsentrasi antigen yang tinggi dalam jaringan akan meningkatkan antibodi IgM dan IgG penderita serta aktivasi sistem komplemen dengan peningkatan mediator inflamasi. Beratnya reaksi ENL disebabkan oleh peningkatan produksi limfosit Th2 sebagai respon imun tubuh untuk mengatasi peradangan (Kahawita IP et al, 2008).

Faktor resiko tinggi untuk berkembangnya menjadi T2R adalah kusta tipe LL dan sebagian kecil pada tipe BL, dengan indeks bakterial yang tinggi . Selain itu terdapat beberapa faktor resiko lain yang dapat memicu terjadinya reaksi kusta (Kahawita IP et al, 2008), antara lain :

- a. Pasien dengan usia < 40 tahun
- b. Adanya infeksi lain; streptococcus, virus, parasit, filariasis, malaria
- c. Trauma
- d. Intervensi bedah
- e. Stress fisik dan mental
- f. Imunisasi
- g. Tes mantoux dengan hasil positif kuat
- h. Pubertas, kehamilan dan masa nifas

### **2.1.3 Manifestasi Klinik**

Reaksi ENL dapat terjadi sebelum, selama dan setelah pengobatan kusta. Reaksi ini dapat melibatkan banyak organ dan sistem. Imunokompleks menumpuk di sirkulasi dan disimpan di kulit, mata, sendi,

kelenjar getah bening, ginjal, hati, limpa, sumsum tulang, endotelium, dan testis. Lesi-lesi tersebut multipel, bilateral, eritematosa, keras, nyeri, nodul subkutan menyerupai Eritema Nodosum yang didistribusikan secara simetris. Jenis pustular, ulserasi bulosa, dan nekrotik juga telah dilaporkan. Beberapa nodul dapat bertahan sebagai panniculitis nyeri kronis dan menyebabkan bekas luka. Lesi target Eritema Multiforme dapat terjadi di setiap daerah. Lesi lebih sering terjadi bagian riwayat eksternal tubuh (Manandhar R et al, 1999). Gejala umum seperti demam, malaise, mialgia-arthralgia, daktilitis, nyeri tulang, dan limfadenomegali diamati sebelum terjadinya atau bersamaan dengan lesi ENL. Iridocyclitis, episcleritis, nyeri mata (fotofobia), orkitis, hati, atau kerusakan ginjal dapat diamati. Neuritis, pembesaran saraf yang nyeri dan gangguan fungsi saraf dapat terjadi (Manandhar R et al, 1999, Scollard D et al, 2006). Nekrosis dapat terjadi sebagai akibat trombosis vaskular dan iskemia. Oklusi vaskular kemungkinan berhubungan dengan vaskulitis yang disebabkan oleh deposisi imunokompleks pada dinding pembuluh darah dan leukositoklasia (Walker SL et al, 2007)

a. Lesi kulit

Lesi kulit yang timbul disebut Eritema Nodosum Leprosum. Biasanya timbul mendadak dengan lesi berupa papul, nodul atau plak kemerahan dengan berbagai ukuran. Lesi tersebut disertai keluhan nyeri, teraba hangat dan nyeri tekan. Lesi biasanya terletak pada dermis dan dapat juga pada subkutan sehingga berbentuk nodul subkutan. Daerah yang paling sering terkena pada daerah paha, kaki dan wajah, tetapi dapat timbul dimana saja kecuali daerah scalp, axila, dan perineum. Lesi biasanya multiple dan tersebar bilateral dan simetris (Kumar B et al, 2010)

Beberapa lesi kulit cenderung muncul pada tempat yang sama, dan jika tidak mendapat pengobatan yang tuntas, dapat menjadi pannikulitis kronik yang nyeri yang dapat bertahan beberapa bulan sampai tahun. (Kumar B et al, 2010)

Terdapat pula bentuk tidak biasa dari lesi kulit reaksi kusta tipe 2 yaitu bentuk bulla atupikal pada bagian ekstensor tangan dan kaki

seorang pasien dengan kehamilan setelah pemberian ofloxacin karena infeksi saluran kemih. (Kumar B et al, 2010)

a. Keterlibatan saraf

Kerusakan saraf dapat terjadi akibat edema dan eksudat seluler dalam perineum. Tekanan pada vasa nervorum dan serat saraf menyebabkan presipitasi gejala inflamasi. Pada reaksi tipe dua yang berat dengan pembengkakan dan nyeri tekan dapat disertai gangguan fungsi saraf baik itu sensorik, motorik ataupun fungsi otonom. (Kumar B et al, 2010)

b. Myositis<sup>34</sup>

Keterlibatan otot pada reaksi tipe 2 jarang terjadi, biasanya pada lesi yang sudah membentuk nodul subkutan dan dapat menyebabkan peradangan pada fascia dan otot dibawahnya. (Kumar B et al, 2010)

c. Arthritis

Keterlibatan gejala reumatik dilaporkan terjadi pada sepertiga pasien reaksi tipe 2, dengan gambaran pembengkakan pada sendi, nyeri, nyeri tekan dan keterbatasan pergerakan. Efusi sinovial dan buritis juga dapat terjadi. Sendi yang sering terkena yaitu pada lutut, metacarpophalangeal, lengan dan pergelangan kaki. (Kumar B et al, 2010)

d. Keterlibatan pada hidung

Infiltrat dan nodul dapat timbul pada septum nasi dan bagian inferior yang menyebabkan pembengkakan dan menghambat masuknya udara. Ini berhubungan dengan nyeri dan epistaksis yang dapat terjadi. Pada kasus yang berat, nodul dapat menjadi ulserasi yang melibatkan kartilago dan menyebabkan perforasi pada septum nasi. (Kumar B et al, 2010).



e. Perubahan pada tulang

Osteoperiostitis paling sering terjadi pada anterior tibia yang ditandai dengan nyeri hebat pada tulang dan pembengkakan. Serangan berulang dapat menyebabkan terbentuknya tulang baru dengan penebalan pada korteks dan peningkatan kurvatura anterior. (Kumar B et al, 2010)

Osteoporosis juga dapat terjadi. Falang dan metacarpal adalah lokasi tersering terjadi. Demineralisasi yang terjadi merupakan proses akut karena ekskresi kalsium pada urin selama fase reaksi. (Kumar B et al, 2010)

f. Keterlibatan pada hepar

Pembesaran hepar dengan nyeri tekan kadang-kadang dapat terjadi

g. Keterlibatan pada ginjal

Glumeronefritis akut dapat terjadi oleh karena deposit kompleks imun yang terjadi pada reaksi.

h. Epididimo-orchitis akut

Dapat terjadi nyeri akut dan pembengkakan pada skrotum selama reaksi karena inflamasi pada testis dan epididymis. Serangan berulang dapat menyebabkan atrofi testikular. (Kumar B et al, 2010)

#### **2.1.4 Pemeriksaan penunjang**

a. Pemeriksaan Histopatologi

Dua varian histopatologis yang berbeda telah dijelaskan dalam ENL. Varian pertama telah dilaporkan oleh Ridley sebagai "tipe nodul merah muda" atau ENL klasik (atau bentuk ENL ringan). Gambaran khas terdapat kelompok neutrofil yang terakumulasi di sekitar makrofag berbusa di pusat granuloma kecil. Eosinofil, sel plasma, dan sel mast juga hadir. Karakteristik klasik vaskulitis yang mempengaruhi pembuluh kecil atau menengah, perubahan nekrotikans, dan pembentukan trombosis telah dilaporkan pada hampir 25% pasien. Memang, perubahan vaskulitik sebagian besar

terjadi pada lesi awal. Variasi lainnya yaitu ENL nekrotikan dengan nekrosis dan ulserasi pada kulit. Gambaran histopatologi yang terjadi yaitu vaskulitis yang melibatkan infiltrasi neutrofilik, perdarahan, dan pembentukan trombus yang lebih banyak pada ENL nekrotikan (Kumar B et al, 2010, Massone C et al, 2015, Prabhu S et al, 2009). Nekrosis pada epidermis dan dermis, degenerasi kolagen dapat diamati dan ini dapat menyebabkan fibrosis kulit. Basil tahan asam utuh (BTA) ditemukan pada lesi pasien yang tidak diobati, sedangkan BTA granular dan terfragmentasi sering ditemukan pada pasien yang menerima terapi. Fenomena Lucio harus dibedakan secara histopatologis dari Eritema Nodosum yang sebenarnya, Sindrom Sweet, Pioderma Gangrenosum, dan Mikosis profunda (Kumar B et al, 2010).

b. Pemeriksaan Laboratorium

Perubahan hematologi yang terjadi dapat berupa leukositosis yang selalu ada selama reaksi. Laju endap darah dan C-Reactive protein yang meningkat. Anemia megaloblastik diamati pada pasien dengan depresi sumsum tulang. Kadang-kadang dapat terjadi krisis hemolytik dengan penurunan sel darah merah dan hemoglobin yang berat (Kumar B et al, 2010).

Pemeriksaan urin rutin untuk mendeteksi albuminuria, sel darah merah dan sel epitel yang mungkin ada yang menunjukkan keterlibatan pada ginjal (Kumar B et al, 2010).

Tes fungsi hati pada beberapa kasus menunjukkan sedikit peningkatan serum bilirubin, serum transaminase (serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) dan serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) yang mengindikasikan kerusakan hati dan otot (Kumar B et al, 2010).

Masih dibutuhkan pengembangan pemeriksaan laboratorium untuk membantu menilai berat dan resolusi ENL.

### 2.1.5 Diagnosis

ENL dengan gejala yang klasik dan tipe reaksi kusta tipe 2 lainnya yang berbeda morfologi dengan atau tanpa gejala konstitusional dan manifestasi lainnya yang berhubungan dirangkum dalam tabel kriteria diagnostik untuk reaksi kusta tipe 2 (Tabel 1). Kriteria ini dapat digunakan oleh peneliti dan diusulkan oleh B Naafs dan timnya, yaitu yang memenuhi kriteria mayor atau setidaknya 3 kriteria minor (Kumar B et al, 2010).

Beberapa tes juga dapat digunakan untuk diagnosis reaksi kusta tipe 2 :  
(Kumar B et al, 2010)

a. Tes Ryrie

Menggoreskan telapak kaki dengan punggung palu reflex, memunculkan rasa sakit seperti terbakar atau saat pasien berjalan, seolah-olah sedang berjalan di atas bara

b. Tes Ellis

Dilakukan dengan cara meremas pergelangan tangan selama berlangsungnya reaksi dan akan menimbulkan reaksi yang menyakitkan.

Tabel 1. Kriteria diagnosis Reaksi Kusta Tipe 2<sup>3</sup>

Kriteria Diagnosis Reaksi Kusta Tipe 2	
Mayor	Erupsi papiler nodul, atau plak yang tiba-tiba dengan nyeri tekan, bisa juga menjadi ulserasi
Minor	Demam ringan, pasien dalam keadaan kurang baik Pembesaran saraf disertai nyeri tekan Peningkatan penurunan sensasi atau kekuatan otot Arthritis Lymphadenitis Epididimo-orchitis Iridosyclitis atau episkleritis Edema pada ekstremitas atau wajah Tes Ryrie atau tes ellis positif

Penilaian beratnya reaksi penting diketahui untuk membuat keputusan pengobatan dan pemantuan kemajuan reaksi. Penilaian beratnya reaksi dapat dilakukan dengan menggunakan skala beratnya reaksi dari Van brakel (Kumar B et al, 2010).

Tabel 2. Perbedaan reaksi ringan dan berat pada Reaksi Kusta Tipe 2

Perbedaan reaksi ringan dan berat			
No.	Gambaran klinik	Ringan	Berat
1.	Lesi kulit dengan keterlibatan yg meluas	Beberapa lesi	Papul,nodul kemerahan yang multipel
2.	Ulserasi dan nekrosis pada lesi kulit	Tidak ada	Bisa muncul
3.	Gejala simptomatik (demam atau arthralgia)	Tidak ada	Ada
4.	Neuritis	Tidak ada	Nyeri dan nyeri tekan pada satu atau lebih saraf
5.	Edema tungkai	Ringan	Edema pada tangan, kaki dan wajah
6.	Keterlibatan mata (nyeri dengan atau tanpa penurunan penglihatan)	Tidak ada	Bisa muncul
7.	ENL berulang	Tidak ada	Empat atau lebih episode dalam setahun
8.	Respon terhadap steroid oral	Respon dalam 6 minggu	Menetap lama
9.	Limfadenopati dengan nyeri tekan	Tidak ada	Sering muncul
10.	Keterlibatan sistemik (seperti epididimo-orchitis)	Tidak ada	Bisa muncul

### 2.1.6 Terapi

Tujuan utama dalam pengobatan ENL adalah untuk mengendalikan inflamasi, rasa nyeri, pencegahan episode berulang dan kecacatan. Kasus ENL yang ringan dapat diobati dengan obat antiinflamasi non steroid (NSAID). Kortikosteroid umumnya digunakan untuk pengobatan ENL sedang hingga berat (Pandhi D, et al, 2013).

Kortikosteroid dan thalidomide masih dianggap sebagai terapi andalan dalam kasus-kasus parah reaksi tipe 2 dengan orkitis, iridosiklitis dengan glaukoma, dan neuritis yang menyebabkan disfungsi saraf (Pandhi D, et al, 2013, Naafs B, 2000).

#### a. Kortikosteroid.

WHO tidak menetapkan dosis pemberian. Pada umumnya dosis awal prednison 15-30 mg per hari, dikurangi bertahap berdasarkan respon pasien. Ada juga pemberian kortikosteroid dosis tinggi dengan terapi denyut dan pengurangan dosis cepat dalam 2-3 minggu karena reaksi tipe 2 adalah penyakit episodik. Terapi pemeliharaan harus dihindari terutama pada pasien dengan ENL berulang kronis, karena terapi jangka panjang dengan prednisolon menyebabkan ketergantungan pada terapi kortikosteroid dan adanya efek samping (Pandhi D, et al, 2013 Manandhar R et al, 1999, Naafs B, 2000 ).

#### b. Thalidomide

Thalidomide tampaknya menjadi pilihan obat dalam terapi pemeliharaan. Mekanisme aksi thalidomide tidak jelas. Dianggap efektif dalam penghambatan TNF- $\alpha$ . Memiliki beberapa efek samping dan tidak memerlukan penghentian terapi. Ditoleransi dengan baik dengan dosis 100-300 mg / hari dalam kasus dengan penyakit berulang dan memberikan remisi yang berkepanjangan. Uji klinis telah menunjukkan bahwa thalidomide dengan cepat mengontrol ENL dan itu lebih unggul daripada asam asetilsalisilat dan terapi pentoksifikasi. Di sisi lain, thalidomide bersifat teratogenik ketika digunakan pada periode awal kehamilan. Analog thalidomide secara kimia menyerupai thalidomide, tetapi efek sampingnya tidak sama. Revlimid dan aktimid



adalah obat yang menjanjikan dalam kategori ini (Kaplan G, 2000, Naafs B, 2006 ).

c. Clofazimine

Clofazimine direkomendasikan dalam pengobatan reaksi berulang kronis. Clofazimine diberikan selama 12 minggu bersama dengan kortikosteroid dengan dosis 100 mg, 100 mg, atau 100 mg / hari. Clofazimine kurang efektif daripada kortikosteroid dan seringkali membutuhkan 4-6 minggu untuk sepenuhnya efektif. Penambahan clofazimine pada terapi ini sangat bermanfaat dalam mengurangi dosis kortikosteroid atau penghentian terapi kortikosteroid pada pasien yang telah ketergantungan pada kortikosteroid. Total durasi terapi clofazimine tidak boleh melebihi 12 bulan (Pocater L et al, 2006).

## 2.2 Imunologi Reaksi ENL

Sitokin memainkan peran penting dalam perlindungan dan imunopatologi kusta dan dianggap sebagai komponen penting dari reaksi kusta.<sup>15</sup> Profil sirkulasi sitokin yang terlibat dalam imunopatogenesis reaksi kusta dapat bertindak sebagai penanda plasma potensial untuk mengidentifikasi penyakit lebih awal dan memprediksi terjadinya reaksi kusta (Stefani MM et al, 2009).

Kejadian reaksi kusta ENL berhubungan dengan perubahan aktivitas sitokin pada penderita. Reaksi ENL adalah respon inflamasi sistemik yang ditandai dengan infiltrasi neutrophil, aktivasi komplemen, kompleks imun ekstrasvaskuler dan kadar TNF $\alpha$  yang tinggi dalam lesi jaringan dan sirkulasi (Moraes MO et al, 1999, Stefani MM et al, 2003).

Aktivasi imunitas bawaan menyebabkan produksi sitokin dan ekspresi molekul co-stimulator yang menghasilkan aktivasi sel sistem kekebalan adaptif. Pada awalnya, terjadi sedikit peningkatan jumlah limfosit, mayoritas sel CD4 Th2. Seiring dengan progresitas reaksi, jumlah sel makin meningkat dan bersamaan dengan peningkatan sitokin IL-4, IL-5, IL-13 dan IL-10 yang mengindikasikan bahwa reaksi ini diperantarai Th2. Refleksi dari kompleks imun dan peningkatan reaktivitas sel T telah dibuktikan pada darah dan jaringan. (Yamamura M et al, 1992)

Pada fase awal ENL, sel seperti monosit menjadi makrofag aktif dan membunuh sel makrofag foamy yang menyebabkan pelepasan antigen dari makrofag dan menghadirkan makrofag baru sehingga memicu peningkatan *cell mediated immunity* (CMI). Antigen tersebut tidak dapat dihancurkan oleh makrofag, memicu antibody sehingga membentuk kompleks imun (Naafs B, 2000).

Perkembangan CMI dibuktikan dengan peningkatan jumlah reseptor IL-2 tidak hanya pada lesi tetapi juga pada keratinosit epidermis lesi.<sup>44</sup> Pada lesi tersebut menstimulasi peningkatan produksi IL-4 yang memungkinkan produksi antibody dan menyebabkan kompleks antigen antibody (Naafs B, 2000).

Bukti perkembangan kompleks imun dan CMI pada ENL juga telah ditunjukkan pada darah. Selama ENL, terjadi peningkatan leukosit pada darah yang secara menunjukkan peningkatan CMI. Faktor komplemen C3d juga meningkat pada darah yang mengindikasikan terjadinya aktivasi komplemen. Sitokin yang paling menonjol selama reaksi ENL yaitu IL-4, IL-5, TNF $\alpha$  dan IFN

$\gamma$  (Kumar B et al, 2010). Studi terbaru di Brazil mengidentifikasi penanda potensial pada reaksi ENL yang melaporkan peningkatan kadar IL-7, PDGF BB dan IL-6. IL7 adalah pengatur utama pengembangan dan proliferasi sel B dan sangat penting untuk kelangsungan hidup sel T yang naif dan memori, terutama sel memori CD4. Kadar IL7 yang bersirkulasi tinggi terdeteksi pada reaksi kusta tipe 2, mendukung peran mekanisme mediasi sel B dan sel T dalam reaksi ini (Stefani MM et al, 2009).

Peningkatan TNF- $\alpha$  serta IL-6 pada kasus yang lebih berat menunjukkan bahwa respon CMI juga mempunyai peranan terjadinya ENL. Adanya peningkatan TNF- $\alpha$  ini sangat penting terhadap patogenesis terjadinya ENL serta terjadinya gejala sistemik yang timbul pada kondisi. Kadar TNF- $\alpha$  yang berlebihan dan IL-6 yang meningkat pada serum penderita ENL menandakan bahwa respon imun seluler sangat berperan terhadap mekanisme terjadinya ENL. TNF- $\alpha$  berasal dari beragam sel terutama fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan oleh antigen, *natural killer cell* (sel NK) dan sel mast. Efek biologinya dapat berpengaruh baik secara lokal maupun sistemik, serta dapat bersifat

protektif maupun patologis tergantung pada konsentrasi, lama pajanan, dan tersedianya mediator lain pada lingkungan seluler. Produksi lokal dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap patogen dengan memberikan respon inflamasi yaitu menyebabkan datangnya neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel-sel tersebut untuk membunuh mikroba, memacu ekspresi *vascular cell adhesion molecule* (VCAM), merangsang makrofag mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis, merangsang fagosit mononuklear untuk mensekresi IL-1 dengan efek yang sama dengan TNF- $\alpha$  dan sebagainya (Prameswari R et al, 2012).

### **2.3 Peranan Sitokin Interleukin 7 pada ENL**

Profil sirkulasi sitokin yang terlibat dalam imunopatogenesis reaksi kusta dapat berperan sebagai penanda plasma potensial untuk mengidentifikasi penyakit lebih awal dan memprediksi terjadinya reaksi kusta (Prabhu S et al, 2009). Identifikasi penanda laboratorium untuk memprediksi terjadinya reaksi kusta tetap menjadi prioritas dalam penelitian kusta yang bertujuan untuk mencegah kerusakan saraf yang ireversibel. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menyaring faktor-faktor plasma untuk identifikasi biomarker terkait dengan reaksi kusta tipe 1 dan tipe 2 (Stefani MM et al, 2009).

Penelitian telah menunjukkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$ , IL-2R serum pada reaksi kusta tipe I. Aktivasi makrofag memainkan peran penting dalam pengendalian infeksi *M. leprae*. Penanda aktivasi makrofag, neopterin, juga telah terbukti bermanfaat dalam diagnosis reaksi kusta tipe I. CXCL10 dan IL-6 juga terbukti sebagai penanda plasma potensial untuk reaksi reversal (Sarno EN et al, 1991).

Pada ENL, Chemokine ligand 11 (CCL11), sebuah chemokine yang diinduksi oleh IFN- $\gamma$ , diproduksi oleh monocytes, juga telah diidentifikasi sebagai penanda plasma potensial T2LR. CCL11 adalah kemoatraktan yang kuat untuk eosinofil dan limfosit Th2, ke tempat inflamasi (Flesch IE et al, 1994). Selain itu, juga dilaporkan kadar IL-7 yang bersirkulasi tinggi terdeteksi pada pasien LL dengan reaksi ENL dibandingkan kepada pasien LL yang tidak terjadi reaksi, hal ini mendukung peran mekanisme yang dimediasi sel B dan sel T dalam reaksi ini.

Peningkatan tingkat sirkulasi IL-7 pada reaksi ENL mendukung peran sel B dan sel T mediasi dalam mekanisme terjadinya reaksi ini (Stefani MM et al, 2009).

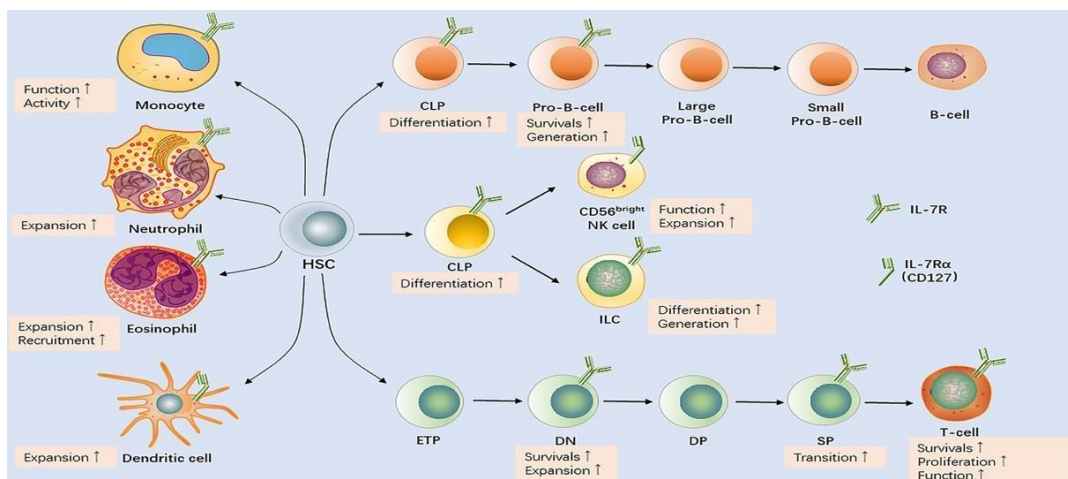
IL-7 adalah sitokin monomer dengan berat molekul 25 kDa dan diproduksi oleh sel stroma epitel di jaringan limfopoietic seperti sumsum tulang, timus dan limpa. Namun, terlepas dari situs limfopoiesis banyak jenis sel di seluruh tubuh, seperti keratinosit, hepatosit, sel endotel serta sel dari sistem kekebalan termasuk monosit, dan (folikel) sel dendritik dan sel B telah terbukti menghasilkan IL- 7 (Akdis M et al, 2016 , Vasir B et al 2005).

IL-7 adalah sitokin imunoregulasi kuat yang diproduksi oleh sel-sel imun tubuh dan sel-sel jaringan di lokasi-lokasi karakteristik inflamasi untuk beberapa penyakit inflamasi kronis, dan telah ditemukan korelasi antara IL-7 dan parameter penyakit. IL-7 merupakan pengatur dalam pengembangan dan proliferasi sel B dan sangat penting untuk kelangsungan hidup sel T naif dan memori, terutama sel memori CD4 ( Bikker A et al, 2012 ).

IL-7 terdapat pada sebagian besar sel T dan pada progenitor sel B dan makrofag sumsum tulang. Terdiri dari rantai IL-7R $\alpha$  (CD127) dan  $\gamma$ c (CD132) (Sieling PA et al, 1995). Respon IL-7 ditentukan oleh ekspresi IL-7R $\alpha$ . IL-7 berperan secara kooperatif dengan pensinyalan melalui reseptor presel-T untuk mengkoordinasikan proliferasi dan diferensiasi. IL-7 berkontribusi pada kelangsungan hidup, proliferasi, dan pengembangan dari sel B dan sel T naif dan memori, sel T matang, dan sel NK. Studi pada tikus IL-7 dan IL-7R $\alpha$  menunjukkan bahwa IL-7 penting untuk homeostatis perkembangan sel T dan B (Wang X et al, 2009).

IL-7 terutama mengaktifkan sel T dan menyebabkan aktivasi sel T bergantung pada sel B, makrofag dan sel dendritik. Aktivasi oleh IL-7 mengarah ke penyebaran autoimunitas dan dengan demikian melalui jalur alternative yang digerakkan oleh sitokin berkontribusi pada peningkatan autoimunitas dan imunopatologi. IL-7 juga berkontribusi terhadap neogenesis limfoid pada pasien dengan RA. Selain itu, IL-7 memperburuk kerusakan jaringan pada beberapa model eksperimental dan menginduksi faktor katabolik pada beberapa tes in vitro manusia. Bersama-sama data ini menunjukkan bahwa IL-7 memainkan peran

penting dalam autoimunitas yang digerakkan sel T dalam beberapa penyakit autoimun inflamasi kronis. Jalur inflamasi unik yang digerakkan oleh IL-7 ini dapat terjadi, setidaknya dalam subpopulasi pasien atau pada tahap tertentu penyakit, sebagian besar independen dari imunopatologi yang diinduksi TNF. Sehingga, jalur ini mungkin tidak hanya berperan pada pasien dengan artropati seperti RA, seperti dilaporkan dalam penleitian, tetapi juga pada penyakit radang kronis lainnya, di mana strategi pemblokiran TNF terbukti tidak efektif. Meskipun strategi memblokir IL-7 / IL-7R pada manusia harus ditangani dengan hati-hati (seperti halnya dengan biologis) karena peran perlindungan IL-7 dalam banyak infeksi, penghambatan peradangan dan imunopatologi dalam model eksperimental untuk autoimunitas oleh blokade IL-7 atau reseptornya menggarisbawahi potensi terapi penargetan jalur ini (Bikker A et al, 2012).



Gambar 3. Efek Interleukin 7 pada perkembangan sel T, Sel B, Natural Killer, Innate lymphoid cells (ILCs), monosit/makrofag, sel dendritik, neutrophil dan eosinophil (Chen D et al, 2021).

IL-7 adalah sitokin imunostimulan yang diproduksi oleh sel stromal dan memainkan peran penting dalam pengembangan sel T pada tikus dan manusia. Perkembangan sel B pada tikus tergantung pada IL-7, tetapi pada manusia, ini diatur secara berbeda. Defisiensi IL-7R telah mengurangi jumlah sel-T, tetapi tidak pada jumlah sel-B (Cope AP et al 1994, Sportes C et al 2008). IL-7 memiliki efek signifikan pada jumlah sel-T dalam banyak penelitian

eksperimental pada manusia. Efek stimulasi IL-7 ini terkait dengan ekspansi sel T CD4 + memori pada pusat dan efektor, dan peningkatan sel B pusat dan sel B germinal. Peningkatan signifikan dalam jumlah sel B pusat dan germinal, yang merupakan sel penghasil antibodi yang kuat, menunjukkan bahwa IL-7 memfasilitasi aktivasi sel B baik secara langsung atau tidak langsung melalui sel T atau jenis sel lainnya dan, melalui ini, memainkan peran penting dalam peningkatan imunopatologi yang diinduksi oleh IL-7. Selain itu, IL-7 juga menginduksi aktivasi sel B dan sel T yang bergantung pada monosit dalam model *in vitro* manusia (Bikker A et al, 2011, Kondrack RM et al, 2003). Selain sebagai sitokin imunomodulator, IL-7 secara signifikan juga meningkatkan konsentrasi mediator yang mengindikasikan aktivasi vaskular dan angiogenesis, seperti molekul adhesi sel vaskular-1 (VCAM-1), faktor pertumbuhan sel endotel vaskular (VEGF), dan trombopoietin (TPO) (Giliani S et al, 2005).

IL-7 memainkan peran penting dalam homeostasis sel T pada manusia dan tikus dengan memberikan sinyal untuk proliferasi sel T, pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel berkembang dan matang. Ketika jumlah sel T berkurang, tingkat IL-7 meningkat menyebabkan korelasi terbalik yang kuat antara jumlah sel T dan tingkat IL-7, sehingga memfasilitasi ekspansi homeostatik. Mempertimbangkan hal ini, pada beberapa kondisi yang menginduksi limfopenia, pasien sering mengalami penurunan jumlah sel T yang lama, meskipun kadar IL-7 meningkat. Pada akhirnya, dalam kondisi imunopatologis ini peningkatan kadar IL-7 tidak cukup memadai untuk sepenuhnya memulihkan jumlah sel T. Untuk mengatasinya, banyak kelompok telah mempelajari kapasitas yang secara luar biasa menambahkan IL-7 untuk meningkatkan jumlah sel T. Sejumlah hewan praklinis dan studi klinis baru-baru ini juga telah menunjukkan bahwa pemberian IL-7 menambah pemulihan kekebalan (Hartgring S et al 2012, Fry TJ et al, 2002).

#### **2.4 Peranan PDGF-BB pada ENL**

Pembuluh darah memiliki partisipasi strategis pada respons inflamasi dengan ekspresi penting sitokin, molekul adhesi, faktor pertumbuhan, dan faktor homeostatik oleh sel endotel. Sel-sel endotel yang diaktifkan bersifat permeabel, prothrombotik dan proinflamasi, menampilkan peran penting dalam sekuestrasi

dan pemberantasan patogen, remodeling dan perbaikan vaskular. Produk-produk yang bersirkulasi dari endothelium teraktivasi mungkin dapat dideteksi sejak dini, oleh karena itu secara klinis bermanfaat sebagai biomarker prediktif pada penyakit infeksi sistemik. (Mackall CL et al, 2011)

Angiogenesis adalah proses neovaskularisasi dari pembuluh darah sudah ada sebelumnya. Fenomena ini diatur oleh faktor pertumbuhan endotel dan reseptornya dan dapat diamati baik dalam proses fisiologis dan patologis (Page AV and Liles WC, 2013). Ada banyak penelitian tentang angiogenesis dalam neoplasia, dan baru-baru ini, pentingnya angiogenesis telah diakui dalam proses inflamasi dan infeksi. Saat ini, inhibitor angiogenesis baru, yang dapat menormalkan atau memblokir angiogenesis, sedang dikembangkan untuk pengobatan penyakit inflamasi dan neoplasia (Carmeliet P, 2005).

Kemajuan pengetahuan dan pemahaman yang mendalam tentang, imunologi, patogenesis, dan genetika kusta dapat meningkatkan kemampuan dalam memahami penyakit infeksi yang berpotensi menyebabkan kerusakan dan dapat mengarah pada pengembangan protokol yang lebih baik untuk perawatan dan pencegahan penyakit. Telah diamati sebelumnya bahwa terdapat penyempitan, dilatasi, atau penyumbatan pembuluh darah pada kulit pasien kusta lepromatosa, terutama yang terletak di ekstremitas (Goel S et al, 2011).

Telah dilaporkan bahwa terdapat dua pola arsitektur mikrovaskuler yang diamati pada lesi kulit kusta: jaring mikro yang berliku-liku di antara infiltrat granulomatososa dalam kusta lepromatosa dan jaringan pembuluh mikro yang terbatas pada pinggiran granuloma pada lepra tuberkuloid. (Gulia A et al, 2010). Selain itu, proliferasi dan migrasi sel endotel mengakibatkan pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh yang sudah ada sebelumnya, suatu proses yang dikenal sebagai angiogenesis, yang juga telah dipelajari dalam kusta. Dilaporkan bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara angiogenesis dan banyaknya jumlah bakteri pada lesi kulit pasien lepromatosa (Antunes SL et al 2000).

Angiogenesis, proses pembentukan pembuluh darah baru, memainkan peran penting dalam banyak kondisi normal dan patologis. Sejak 1971, ketika Folkman berhipotesis bahwa pertumbuhan tumor ganas bergantung pada

angiogenesis, terdapat banyak bukti yang mendukung temuan awal tersebut dan terlebih lagi, hal itu menunjukkan bahwa angiogenesis dapat dihambat oleh molekul tertentu. Angiogenesis adalah proses multistep yang diatur oleh faktor proangiogenik dan inhibitor spesifik. Dalam jaringan normal, ada keseimbangan antara stimulator endogen dan inhibitor angiogenesis. Dalam dua dekade terakhir banyak penelitian untuk identifikasi dan karakterisasi molekul pro- dan antiangiogenik endogen (Bhandarkar SS et al, 2007).

Berdasarkan bukti saat ini, molekul angiogenik yang paling diteliti dan efisien adalah faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF). Penelitian menunjukkan bahwa VEGF merangsang proliferasi dan migrasi sel endotel di jaringan normal dan tumor (Raica M et al, 2010). VEGF yang dikeluarkan oleh sel normal dan tumor menginduksi angiogenesis dengan mengikat reseptor spesifiknya, VEGFR1 dan VEGFR2. Bahkan dari studi eksperimental awal, VEGF dianggap sebagai target yang menjanjikan untuk terapi antiangiogenik dan antibodi rekombinan terhadap VEGF, bevacizumab, adalah obat antiangiogenik pertama yang diperkenalkan dalam praktik klinis (Giliani S et al, 2005).

Selain VEGF, faktor pertumbuhan lain telah terbukti memiliki efek proangiogenik yang signifikan, seperti *fibroblast growth factor* (FGF), transformasi faktor pertumbuhan, faktor pertumbuhan hepatosit, angiopoietin-1, faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF) dan lainnya. Meskipun mekanisme molekuler angiogenesis memiliki karakteristik yang relatif baik, interaksi berturut-turut dan hubungan antara faktor-faktor pertumbuhan ini selama kaskade angiogenik kurang dipahami. Ini bisa menjelaskan sebagian hasil terapi antiangiogenik pada kanker tidak sebaik yang diharapkan dibandingkan dengan yang dilaporkan dalam model eksperimental (Bhandarkar SS et al, 2007).

Meskipun telah ditemukan bertahun-tahun yang lalu, hanya dalam beberapa tahun terakhir PDGF diselidiki secara luas di bidang angiogenesis yang berhubungan dengan tumor dan sel normal. Ini dapat dijelaskan dengan dua alasan: di satu sisi PDGF dan reseptor spesifik ditemukan diekspresikan oleh berbagai macam sel normal dan tumor, dan di sisi lain, ketersediaan inhibitor spesifik sudah digunakan sebagai obat dalam beberapa neoplasma manusia ( Bhandarkar SS et al, 2007).



PDGF adalah protein dimeric 28-kDa yang dilepaskan dari trombosit teraktivasi dan bersifat mitogenik untuk sebagian besar turunan sel mesenkim termasuk fibroblas dan sel otot polos. PDGF memiliki dua bentuk yang homodimerik dan heterodimerik dimer yang terdiri dari rantai A dan / atau B, yang dikodekan oleh gen yang terpisah dan diatur secara independen. Hal tersebut menjadikan terjadinya beberapa proses fisiologis dan patologis yang melibatkan pembentukan pembuluh darah baru, termasuk perbaikan luka, embriogenesis, aterosklerosis, dan pertumbuhan tumor (Brown DM et al, 1995, Fretto LJ et al, 1993). Dua gen tambahan telah diidentifikasi dengan encoding polipeptida PDGF-C dan PDGF-D. Setiap rantai dikodekan oleh gen individu yang terletak pada masing-masing kromosom 7, 22, 4, dan 11. PDGF merupakan turunan dari faktor pertumbuhan polipeptida heparin yang dilambangkan dengan A, B, C, dan D. PDGF-C dan -D disekresikan dalam bentuk laten, faktor tidak aktif, dan protease yang belum diidentifikasi secara pasti, kemungkinan aktivator plasminogen jaringan diperlukan untuk aktivasi ekstraselulernya. Keempat rantai PDGF mengandung domain faktor pertumbuhan yang sangat terkonservasi dari sekitar 100 asam amino yang juga ditemukan dalam VEGF. Sampai sekarang, lima komposisi dimerik telah diidentifikasi: PDGF-AA, -BB, -AB, CC, dan -DD. PDGF menargetkan spektrum luas sel-sel yang diturunkan mesoderm, seperti fibroblast, pericytes, sel otot polos, sel glial atau sel mesangial (Brown DM et al, 1995, Fretto LJ et al, 1993, Ferrara N, 1999).

Sekresi PDGF dan transkrip PDGF keduanya diproduksi oleh endotel sel dan arteri otot polos, dan reseptor untuk PDGF diekspresikan oleh banyak endotel sel mikrovaskuler dan otot polos arteri. Saat ini, PDGF telah ditemukan dalam merangsang angiogenesis *in vivo*, pada membran ayam chorioallantoic membrane assay, dalam perbaikan dermal di bawah kondisi iskemik dan non-iskemik dan dalam stroma tumor juga mensekresi PDGF-BB. Secara *Invivo*, tidak jelas apakah efek PDGF pada endotel mikrovaskuler langsung atau tidak langsung dalam sistem ini. Beberapa hasil yang bertentangan telah diperoleh, namun dalam beberapa tes angiogenesis *invitro*, PDGF-BB telah terbukti secara langsung merangsang sel endotel. Dalam banyak pengujian, homodimer BB menampilkan aktivitas yang lebih kuat dari dua bentuk dimerik lainnya dari PDGF. Penelitian

tersebut juga mengevaluasi lebih lanjut potensi angiogenik PDGF-BB menggunakan dua model yang berbeda yang menantang kapasitas untuk menghasilkan neovaskularisasi fungsional. (Heldin CH et al, 2012)

PDGF diekspresikan dalam berbagai jenis sel dan disimpan dalam granula trombosit yang dilepaskan saat aktivasi trombosit. Isoform PDGF adalah mitogen potensial untuk sel-sel jaringan ikat dan dapat menginduksi respons kemotaksis pada fibroblast, sel otot polos, neutrofil, dan sel mononuklear. PDGF juga tampaknya memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup dan regenerasi neuron PDGF memainkan peran penting dalam penyembuhan luka, merangsang proliferasi sel, migrasi dan angiogenesis. Peran ini terkait dengan beberapa molekul spesifik dari matriks ekstraseluler, seperti kolagen atau heparin. Dalam percobaan *in vitro*, baru-baru ini ditunjukkan bahwa heparin meningkatkan pengikatan PDGF ke kolagen, dan kompleks PDGF-heparin-kolagen mempromosikan proliferasi fibroblas, migrasi sel, dan vaskularisasi. (Raica M et al, 2010)

Pada peradangan granulomatosa, angiogenesis meningkatkan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), yang pada gilirannya, merangsang migrasi dan aktivasi makrofag. VEGF pertama kali dideskripsikan sebagai produk sel neoplastik, diproduksi oleh sel somatik normal, terutama yang berasal dari endotel. VEGF meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan memiliki aktivitas mitogenik pada endothelium (Huggenberger R et al, 2011).

Pada reaksi ENL, telah dilaporkan terdapat perbedaan signifikan antara pasien ENL dan kontrol dalam peningkatan VEGF dan PDGF-BB, ini merupakan temuan yang menarik karena ENL sering dikaitkan dengan vaskulitis. Temuan ini membutuhkan penelitian lanjutan sehingga dapat memberikan petunjuk baru dalam pathogenesis dan penanda dalam reaksi kusta (Stefani MM et al, 2009)

## **2.5 Ekstraksi DNA**

Isolasi DNA merupakan proses mengidentifikasi DNA dari suatu makhluk hidup dengan suatu proses ekstraksi DNA di dalam sel. Tujuan isolasi DNA adalah untuk memisahkan genom DNA dari molekul lain didalam suatu sel. DNA manusia dapat diisolasi melalui darah. Darah manusia terdiri dari plasma darah,

globulus lemak, substansi kimiawi (karbohidrat, protein, dan hormon) serta gas (oksigen, nitrogen, dan karbondioksida). Plasma darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit. Komponen darah yang diisolasi adalah sel darah putih. Sel darah putih dipilih karena memiliki nukleus, dimana terdapat DNA didalamnya. (Yuwono T, 2006)

Banyak metode yang digunakan untuk mengisolasi DNA tergantung pada spesimen yang akan dideteksi. Metode tersebut pada dasarnya memiliki prinsip yang sama, namun ada beberapa hal tertentu yang biasanya digunakan modifikasi untuk menghancurkan inhibitor yang ada didalam masing-masing specimen. Ada dua metode untuk mengisolasi DNA, yaitu: metode fisik dan metode kimiawi. Metode fisik adalah merusak sel secara mekanis, sel dibuat syok dengan cara memanaskan dan membekukan. Untuk metode pemanasan dan pembekuan, sel dilisis pada suhu tinggi dan kemudian didinginkan secara tiba-tiba dalam *freezer* sehingga sel mengalami syok, kemudian sel didenaturasi pada suhu 90- C. Pada metode kimiawi sel dilisis dengan suatu zat kimia sehingga integrasi barrier sel terganggu. Prinsip isolasi DNA dengan teknik kimia ada dua, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Prinsip sentrifugasi adalah memisahkan substansi berdasarkan berat jenis molekul dengan cara memberikan gaya sentrifugal sehingga substansi yang lebih berat terletak didasar sedangkan substansi yang lebih ringan berada diatas. Teknik sentrifugasi tersebut dilakukan didalam mesin sentrifuge dengan kecepatan yang bervariasi. (Hatta M, and Smits H, 2007)

Beberapa metode kimia yang dapat digunakan untuk ekstraksi DNA, antara lain:

1. Metode enzim proteinase-K

Dalam metode ini setelah sampel mendapat perlakuan dengan enzim, maka bila jumlah atau volume sampel kecil (kurang dari 100 µl) dilanjutkan dengan metode Boom. Bila volume sampel besar (lebih dari 100 µl) dilanjutkan dengan metode ekstraksi fenol dan presipitasi alkohol.

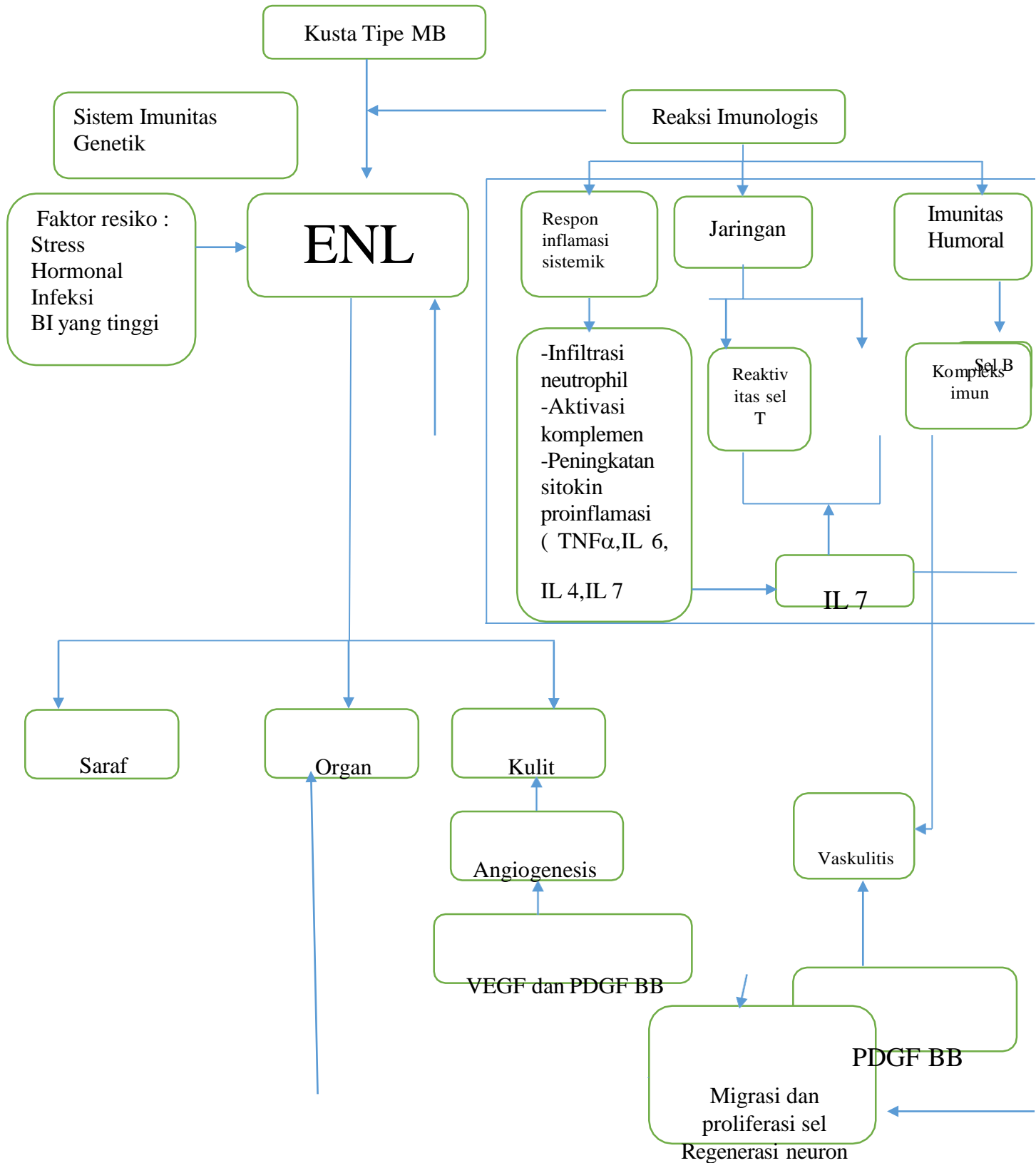
2. Metode Boom

Metode ini tidak dipakai jika sampel mengandung darah karena hemoglobin akan mempengaruhi proses PCR dan hemoglobin akan berikatan dengan bahan diatom yang dipergunakan.

### 3. Metode ekstraksi fenol dan presipitasi alkohol

Metode ini biasa digunakan untuk ekstraksi DNA pada sampel darah dan cairan tubuh. Hemoglobin dapat dihilangkan pada ekstraksi fenol. Metode kimia yang digunakan yaitu sel dihancurkan menggunakan senyawa kimia seperti buffer TES yang terdiri dari Tris, EDTA (*Etilen Diamin Tetra Acetat*) dan SDS (*Sodium Deodesil Sulfat*). Larutan EDTA berfungsi sebagai perusak sel dengan cara mengikat ion magnesium. Ion Magnesium tersebut untuk mempertahankan integritas sel dan aktivitas enzim nuklease yang dapat merusak asam nukleat. Adapun SDS adalah sejenis detergen yang bersifat basa kuat dapat digunakan untuk merusak membran sel. Hal ini mengakibatkan sel mengalami lisis. Kotoran atau debris yang timbul dari pengrusakan sel oleh EDTA dan SDS dibersihkan dengan proses sentrifugasi sehingga yang tertinggal hanya molekul nukleotida (DNA dan RNA). Untuk menghilangkan protein dari larutan digunakan fenol kloroform dimana fenol berfungsi mengikat protein dan sebagian kecil RNA, sedangkan kloroform berfungsi untuk membersihkan protein dan polisakarida dari larutan. Protein juga dapat dihilangkan dengan bantuan enzim proteinase. Agar molekul RNA bersih dari larutan digunakan enzim RNAse untuk merusak molekul tersebut, dengan hilangnya protein dan RNA maka dapat diisolasi DNA secara utuh. Untuk memurnikan DNA dilakukan dengan etanol 70% dan memekatkan DNA ditambahkan NH<sub>4</sub> asetat. Isopropanol ditambahkan untuk mengendapkan DNA berupa tepung berwarna putih, endapan DNA tersebut dimurnikan kembali sebelum dilarutkan dengan buffer T. (Hatta M, and Smits H, 2007)

## Kerangka Teori



## II.7 Kerangka Konsep

