

Kajian Molekuler Interleukin-4 pada Aspirat Limfadenitis sebagai Faktor Risiko Kejadian Tuberkulosis Ekstra Paru

Humairah Medina Liza Lubis

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217
Email: humairahmedina@umsu.ac.id

ABSTRAK

Pada infeksi tuberkulosis, sitokin mempunyai efek biologis metabolik seperti hipoglikemia, pireksia, inflamasi, dan dalam kadar tinggi dapat merusak sel terutama endotel, bahkan dapat menguntungkan pertumbuhan kuman karena meningkatkan sitoadherens. Pada kadar yang tepat bersifat protektif namun pada kadar yang berlebihan justru berefek patologis. Timbulnya tuberkulosis ekstra paru ditentukan oleh keseimbangan antara kadar sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi, yaitu berupa rasio *Interleukin 4 (IL-4)* rendah dan meningkatnya produksi IFN- γ . Tujuan dari penelitian ini adalah (1) membuktikan dan menganalisa peran *Interleukin 4* sebagai faktor risiko kejadian limfadenitis tuberkulosis, (2) menjelaskan patogenesis terjadinya limfadenitis tuberkulosis berdasarkan ekspresi *Interleukin 4* yang tertampil pada aspirat limfadenitis tuberkulosis. Penelitian ini menggunakan sampel 25 slide yang diperoleh dari pasien pembengkakan kelenjar getah bening leher dan didiagnosis sebagai limfadenitis tuberkulosis. Dilakukan pewarnaan imunositokimia dengan antigen *Interleukin 4*. Limfadenitis TB berupa badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag dijumpai 6 kasus positif (67%) dan 3 kasus negatif (33%), sedangkan limfadenitis TB berupa bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik 14 kasus positif (88%) dan 2 kasus negatif (12%). Dari analisa data memiliki nilai yang bermakna. Tampilan *IL-4* pada badan-badan kecil oval berwarna gelap di dalam kelompokan beberapa makrofag dan bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik merupakan proses imunologi terhadap bakteri basil yang masuk kedalam tubuh manusia dan dapat dipakai sebagai petanda faktor risiko kejadian limfadenitis tuberkulosis.

Kata kunci: Interleukin-4, aspirat limfadenitis, faktor risiko, tuberkulosis ekstra paru

Intereukin-4 Molecular Study on Lymphadenistis Aspirate as Risk Factor of Extrapulmonal Tuberculous

ABSTRACT

In tuberculosis infection, cytokines have metabolic biological effects such as hypoglycemia, pyrexia, inflammation, and in high levels can damage cells, especially endothelial, can even benefit the growth of germs because it increases cytoadherens. At the right level is protective but at an excessive level it has a pathological effect. The incidence of extra pulmonary tuberculosis is determined by the balance between proinflammatory and anti-inflammatory cytokines levels, which is a low *IL-4* ratio and increase of IFN- γ production. The study used 25 slide samples obtained from patients with swollen neck lymph nodes and was diagnosed as tuberculous lymphadenitis. Immunocytochemical staining with *Interleukin 4* antigen was performed. (1) to prove and analyze the role of *Interleukin 4* as a risk factor for tuberculosis lymphadenitis, (2) to explain the pathogenesis for tuberculous lymphadenitis based on *Interleukin 4* expression displayed on aspirate tuberculous lymphadenitis. TB lymphadenitis in the form of small oval-shaped bodies of macrophages grouped 6 positive cases (67%)s and 3 negative cases (33%)s, whereas TB lymphadenitis was in the form of dark patches with eosinophilic amorphous mass of 14 positive cases (88%)s and 2 negative cases (12%)s. From the data analysis has a meaningful value. The appearance of *IL-4* in the dark oval small bodies of groupings of multiple macrophages and dark spots with eosinophilic amorphous mass is an immunological process against bacterial bacilli that enter the human body and can be used as a marker of risk factors for tuberculosis lymphadenitis.

Keywords: Interleukin-4, lymphadenitis aspirate, risk factor, extrapulmonal tuberculosis

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular langsung yang disebabkan oleh kuman tuberkulosis *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Menurut *World Health Organization* (WHO), TB adalah penyakit yang kedua setelah *Human Immuno Deficiency Virus* (HIV) dan *Acquired Immuno Deficiency Syndrome* (AIDS) sebagai pembunuh terbesar di seluruh dunia. Prevalensi TB paru di dunia mencapai 14 juta kasus atau sama dengan 200 kasus per 100.000 penduduk.¹

Di Indonesia TB merupakan masalah utama kesehatan masyarakat. Jumlah penderita TB di Indonesia merupakan ke-3 terbanyak di dunia setelah India dan Cina dengan jumlah sekitar 10% dari total jumlah penderita TB di dunia. Diperkirakan setiap tahun ada sekitar 539.000 kasus baru dengan kematian sekitar 100.000 orang. Menurut Rattan A dkk angka kematian tiap minggu 52,000 orang atau tiap hari lebih dari 7000 orang yang meninggal.¹

Tuberkulosis dapat melibatkan berbagai sistem organ di tubuh. Meskipun TB paru paling banyak dijumpai tetapi TB ekstra paru merupakan salah satu masalah klinis yang penting. Berdasarkan epidemiologi TB ekstra paru insidensinya sebanyak 15-20% dari semua kasus TB, terutama yang melibatkan kelenjar getah bening (limfadenitis).²

Pengobatan dan kontrol terhadap penyakit TB paru dan ekstra paru telah dilakukan, tetapi akhir - akhir ini dilaporkan timbulnya resistensi kuman MTB terhadap isoniazid dan rifampisin di Amerika Serikat dan

negara lainnya di dunia (resistensi multipel) termasuk di Indonesia. Terdapatnya resistensi multipel obat terhadap MTB tercermin pada meningkatnya angka kasus baru dan angka kematian serta kurang berhasilnya pengobatan terhadap penyakit TB. Pengobatan terhadap penyakit TB memerlukan waktu yang lama dan adekuat, hal ini merupakan problem kesehatan masyarakat di seluruh dunia.³

Pencegahan/pengendalian TB yang paling tepat adalah vaksinasi, namun sampai saat ini belum ditemukan vaksin yang efektif hingga 100% untuk mencegah infeksi tuberkulosis. Hasil pengkajian menunjukkan bahwa imunitas terhadap tuberkulosis sangat kompleks karena melibatkan hampir seluruh komponen sistem imun baik imunitas spesifik maupun imunitas non spesifik, imunitas humoral maupun selular yang timbul secara alami maupun didapat (*acquired*). Salah satu sel yang bertanggung jawab terhadap imunitas selular adalah limfosit khususnya sel limfosit T.⁴

Pada infeksi tuberkulosis, sitokin yang terutama dihasilkan oleh makrofag merupakan respon imun non-spesifik (*innate immunity*) yang ditujukan untuk menghambat pertumbuhan kuman secara tidak langsung dengan mengaktifkan leukosit untuk menghasilkan radikal bebas yang akan mematikan parasit. Selain itu, sitokin berfungsi mengaktifkan sel-sel imun lain seperti makrofag, limfosit T, limfosit B dan sel NK untuk berproliferasi dan menghasilkan lebih banyak mediator guna bekerja sama

mengatasi infeksi. Di lain pihak, sitokin mempunyai efek biologis metabolik seperti hipoglikemia, pireksia, inflamasi, dan dalam kadar tinggi dapat merusak sel terutama endotel, bahkan dapat menguntungkan pertumbuhan kuman karena meningkatkan *sitoadherens* (melalui peningkatan ekspresi molekul *adhesi* pada endotel). Di sini terlihat bahwa sitokin memiliki peran ganda seperti “pedang bermata dua”, pada kadar yang tepat bersifat protektif namun pada kadar yang berlebihan justru berefek patologis.⁴

Berdasarkan jenis sitokin yang dihasilkannya, limfosit T helper dibagi menjadi Th1 yang menghasilkan sitokin proinflamasi IFN- γ , TNF- α , TNF- β (juga disebut sebagai limfotoksin, LT), IL-1, IL-6, IL-8, IL-12; berfungsi mengaktifkan imunitas seluler dan imunitas non-spesifik. Sedangkan Th2 yang menghasilkan sitokin anti inflamasi IL-4, IL-10; berfungsi mengaktifkan imunitas humoral.⁵ Timbulnya tuberkulosis ekstra paru ditentukan oleh keseimbangan antara kadar sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi, yaitu berupa rasio IL-4 rendah. Rendahnya produksi IL-4 berhubungan dengan meningkatnya produksi IFN- γ . Dari penelitian Anshari A mengemukakan bahwa, terdapat hubungan kerentanan dan tingkat keparahan TB dengan pemeriksaan sitokin diantaranya IL-10 yang dapat menurunkan kerusakan jaringan kolateral dan IFN γ yang berperan sebagai protektif dalam penyakit pada paru tertentu.⁶ Timbul asumsi bahwa gambaran mikroskopis dari limfadenitis tuberkulosis berupa kerusakan jaringan berhubungan dengan penurunan produksi IL4. Berdasarkan asumsi

tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap sitokin IL-4 tersebut yang diduga akan meningkatkan risiko timbulnya limfadenitis TB. Dari literatur yang didapatkan sampai saat ini belum ada data di Indonesia mengenai peran IL-4 dan pengaruhnya terhadap kejadian limfadenitis TB.

Penelitian sitokin IL-4 ini akan menjelaskan patogenesis terjadinya limfadenitis TB dari segi imunologi. Dengan temuan ini nantinya akan dilanjutkan dengan pembuatan vaksin dan terapi oral berbasis sitokin agar tidak timbul resistensi terhadap obat TB seperti yang sering ditemukan saat ini. Pengobatan yang tepat akan menyelamatkan banyak jiwa dan diharapkan Indonesia akan terbebas dari penyakit tuberkulosis.

Berdasarkan latar belakang di atas dapat disimpulkan permasalahan dalam penelitian ini yaitu mengenai peran IL-4 merupakan molekul sebagai faktor resiko terjadinya limfadenitis tuberkulosis. Penelitian ini bertujuan untuk (1) membuktikan dan menganalisa peran IL-4 sebagai faktor resiko kejadian limfadenitis tuberkulosis, (2) menjelaskan patogenesis terjadinya limfadenitis tuberkulosis berdasarkan ekspresi IL-4 yang tertampil pada aspirat limfadenitis tuberkulosis. Penelitian ini bermanfaat untuk (1) menemukan terapi baru untuk pengobatan TB, (2) merencanakan terapi imun anti TB baru kearah pro inflamasi atau anti inflamasi antara lain dengan memberikan vaksin dengan komponen IL-4 (3).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan dan menganalisa peran IL-4

sebagai faktor resiko kejadian limfadenitis tuberkulosis, menjelaskan patogenesis terjadinya limfadenitis tuberkulosis berdasarkan ekspresi *IL-4* yang tertampil pada aspirat limfadenitis tuberkulosis.

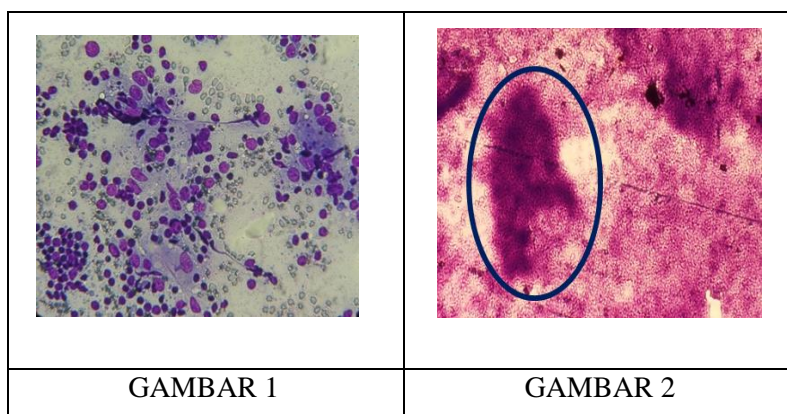
Penelitian ini bermanfaat untuk (1) menemukan terapi baru untuk pengobatan TB, (2) merencanakan terapi imun anti TB baru kearah pro inflammatory atau anti iflammatory antara lain dengan memberikan vaksin dengan komponen Interleukin-4, (3) sumbangsih ilmu pengetahuan dengan penemuan vaksin baru pencegah dan pengobatan TB dan berkontribusi untuk mencegah terjadinya Multi Drug Resistance terhadap obat TB konvensional yang didapatkan selama ini.

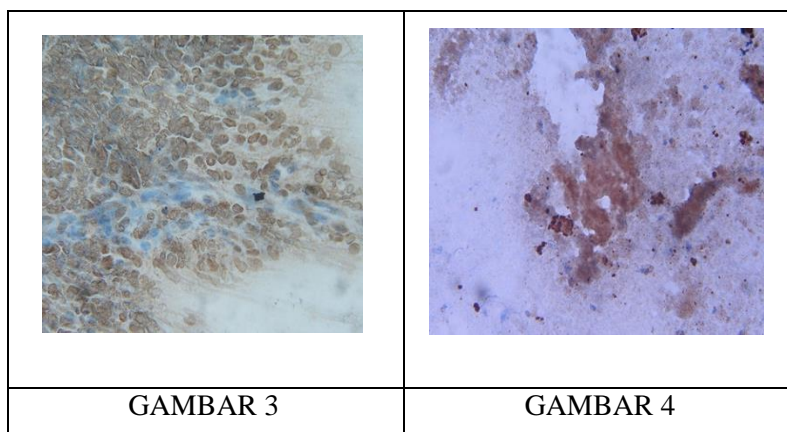
Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan menggunakan rancangan potong lintang (*cross-sectional study*). Penelitian dimulai dengan diagnosis sediaan sitologi limfadenitis tuberkulosis berupa

badan-badan kecil berbentuk oval gelap didalam kelompokan makrofag dan bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik⁷ di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Kemudian dilakukan pulasan imunositokimia *IL-4*. Selanjutnya dilakukan interpretasi dan penghitungan ekspresi protein *IL-4* pada ke-25 sampel penelitian.

Preparat yang memperlihatkan warna coklat berarti mengandung protein *IL-4*, sedangkan preparat yang menunjukkan warna biru seperti kontrol negatif berarti tidak mengandung protein *IL-4*. Setiap kali pewarnaan harus disediakan kontrol negatif dan kontrol positif. Proses-proses yang dilakukan untuk membuat preparat imunositokimia *IL-4* maupun pengecatan imunositokimia *IL-4* dilakukan sesuai prosedur standar pengecatan yang dilakukan di laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.





Keterangan:

- Gambar 1. Badan-badan kecil berbentuk oval berwarna gelap di dalam kelompokan beberapa makrofag (MGG, 400x)
- Gambar 2. Aspirat dengan bercak-bercak gelap dengan massa amorf bergranula halus eosinophil
- Gambar 3. *IL-4* positif kuat pada limfadenitis TB berupa badan-badan kecil berbentuk oval gelap didalam kelompokan makrofag
- Gambar 4. *IL-4* positif kuat pada limfadenitis TB berupa bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik

Pada pemeriksaan biopsi aspirasi jarum halus dengan pewarnaan *MGG* diperoleh diagnosis: limfadenitis TB berupa badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag 9 kasus (36%), dan limfadenitis TB berupa bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik 16 kasus (64%).

Dilakukan pewarnaan imunositokimia *IL-4* untuk dapat menilai tampilan masing-masing sampel. Penilaian diagnosis: limfadenitis TB berupa badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag dijumpai 6 kasus positif (67%) dan 3 kasus negatif (33%), sedangkan limfadenitis TB berupa bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik 14 kasus positif (88%) dan 2 kasus negatif (12%). (Lihat tabel 2). Dari analisa data memiliki nilai yang bermakna.

Dari 6 kasus tampilan ekspresi *IL-4* pada limfadenitis TB berupa badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag didapatkan 5 kasus ekspresi kuat dan 1 ekspresi sedang. Sedangkan 14 kasus tampilan ekspresi *IL-4*

Hasil

Tabel 1. Persentase diagnosis sitologi

	Diagnosis Sitologi	n	%
Limfadenitis TB	- Badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag	9	36
	- Bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik	16	64
Jumlah		25	100

pada limfadenitis TB berupa bercak bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik

didapatkan 12 kasus ekspresi kuat dan 2 ekspresi sedang.

Tabel 2. Tampilan Imunositokimia *IL-4* pada Sitologi Limfadenitis

		Limfadenitis TB					
		Badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag		Bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik			
		n	%	n	%	n	%
Imunositokimia <i>IL-4</i>	- Positif	6	67	14	88	20	80
	- Negatif	3	33	2	12	5	20
Jumlah		9	100	16	100	25	100

Pembahasan

Dari pengamatan kami terhadap beberapa kasus dengan tidak ditemukannya struktur konvensional tuberkulosis dengan gambaran sel *Langhans giant cell* dan sel epitoid tetapi tampak adanya badan-badan kecil berbentuk oval gelap di dalam kelompokan makrofag dan bercak-bercak gelap dengan massa amorf eosinofilik pada latar belakangnya, kami mendiagnosis gambaran tersebut berupa limfadenitis tuberkulosis yang didukung dengan penelitian dari Lubis HML dkk tahun 2008, kami melanjutkan penelitian ini dengan menggunakan *IL-4* sebagai sitokin anti inflamasi.

Dari hasil yang didapatkan dengan tertampalnya sitokin *IL-4* tersebut menunjukkan bahwa sitokin yang terutama dihasilkan oleh makrofag merupakan respon imun non-spesifik (*innate immunity*) yang ditujukan untuk menghambat pertumbuhan kuman secara tidak langsung dengan mengaktifkan leukosit untuk menghasilkan radikal bebas yang akan mematikan parasit. Selain itu, sitokin berfungsi mengaktifkan sel-

sel imun lain seperti makrofag, limfosit T, limfosit B dan sel NK untuk berproliferasi dan menghasilkan lebih banyak mediator guna bekerja sama mengatasi infeksi. Di lain pihak, sitokin mempunyai efek biologis metabolik seperti hipoglikemia, pireksia, inflamasi, dan dalam kadar tinggi dapat merusak sel terutama endotel, bahkan dapat menguntungkan pertumbuhan kuman karena meningkatkan *sitoadherens* (melalui peningkatan ekspresi molekul *adhesi* pada endotel). Di sini terlihat bahwa sitokin memiliki peran ganda seperti “pedang bermata dua”, pada kadar yang tepat bersifat protektif namun pada kadar yang berlebihan justru berefek patologis.⁴

Dari penelitian ini perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan sitokin pro inflamatori seperti IFN- γ , TNF- α , TNF- β (juga disebut sebagai limfotoksin, LT), IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 sebagai penyeimbang karena kerja dari pro inflamatori dan anti inflamatori harus bersama-sama dan tidak bisa berdiri sendiri.

Juga dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan antibodi pro inflamatori yang lain agar

patogenesis limfadenitis tuberkulosis dengan gambaran non konvensional diatas dapat dijelaskan dengan akurat.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan studi pendahuluan ini kami dapat menyimpulkan bahwa *IL-4* dapat dipakai sebagai petanda (faktor resiko) kejadian tuberkulosis. Penelitian ini dapat dilanjutkan ke tingkat yang lebih tinggi dengan sampel yang lebih banyak untuk mendapatkan vaksin baru pencegah TB dan sebagai target terapi TB dengan menggunakan anti inflamasi dan pro inflamasi. Mencari sponsor vaksin dan obat agar penelitian ini dapat berkembang dan berguna bagi masyarakat.

Daftar Pustaka

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. 2010. Robbins and Cotran. Basic Pathology Basis of Disease 8th. Ed. Philadelphia: Saunders.
2. Perkins DJ, Were T, Davenport GC, Kempaiah P, Hittner JB, Ong'echa JM. 2011. Severe malarial anemia: innate immunity and pathogenesis. *Int J Biol Sci.*;7(9):1427-42.
3. American Society of Microbiologi. pp. 131-134.
4. Nugroho A. Patogenesis malaria berat. In: Harijanto PN, Nugroho A, Gunawan CA, editors. *Malaria-dari molekuler ke klinis*. 2nd ed. Jakarta: EGC, 38-63; 2008.
5. Clark I. A, Budd A. C, Alleva LM, Cowden WB. 2006. Human malarial disease:a consequences of inflammatory cytokine release. *Malaria journal*; 5:85:-32.
6. Ansari A, Talat N, Jamil B, Hasan Z, Razzaki T, et al. 2009. Cytokine Gene Polymorphisms across Tuberculosis Clinical Spectrum in Pakistani Patients. *PLoS ONE* 4(3): 4778.
7. Lubis HML, Lubis HML, Lisdine, Hastuti NW. 2008. Dark specks and eosinophilic granular necrotic material as differentiating factors between tuberculous and nontuberculous abscess. *Majalah Patologi*; 2:49-52.