

Vol. 17, No. 1 November 2010

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 17	No. 1	Hal. 1-60	Surabaya November 2010	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-----------	---------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 43/DIKTI/Kep/2008, Tanggal 8 Juli 2008

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**SUSUNAN PENGELOLA MAJALAH INDONESIAN JOURNAL OF
CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY**

Pelindung (Patron)

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Penasehat (Advisor)

Prof. Hardjoeno, dr., Sp.PK(K)
Prof. Siti Budina Kresna, dr, Sp.PK(K)
Dr. R. Darmawan Setijanto, drg, M.Kes

Penelaah Ahli/Mitra Bestari (Editorial Board)

Prof. Dr. Indro Handojo, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. J B Soeparyatmo, dr, Sp.PK(K)
Prof. Riadi Wirawan, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. A A G Sudewa, dr, Sp.PK(K)
Prof. Tiki Pang, PhD
Prof. Marzuki Suryaatmadja, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. Rustadi Sosrosuhardjo, dr, DMM, MS, Sp.PK(K)
Prof. Rahayuningsih Dharma, dr., Sp.PK(K), DSc

Penyunting Pelaksana (Managing Editors)

Prof. Dr. Prihatini, dr, Sp.PK(K), Prof. Adi Koesoema Aman, dr, Sp.PK(K), Yuli Kumalawati, dr, DMM, Sp.PK(K), Lia Gardenia Partakusuma, dr, Sp.PK(K), MM; Dr. Ida Parwati, dr, Sp.PK(K), PhD; Dr. FM Yudayana, dr, Sp.PK(K), Prof. Dr. Krisnowati, drg, Sp.Pros, Tahono, dr, Sp.PK(K), Nurhayana Sennang Andi Nanggung, dr, M.Kes, DMM, Sp.PK, Osman Sianipar, dr, DMM, MS, Sp.PK(K), Dr. Sidarti Soehita, FHS, dr, MS, Sp.PK(K), Purwanto AP, dr, SpPK, Dr. Jusak Nugraha, dr, MS, Sp.PK(K); Endang Retnowati, dr, MS, Sp.PK(K), Dr. Aryati, dr, MS, Sp.PK(K), Puspa Wardhani, dr, Sp.PK, Bastiana, dr, Maimun Zulhaidah Arthamin, dr, M.Kes, Sp.PK, Sulisty M. Agustini, dr., Sp.PK(K), Dr. Noormartany, dr., Sp.PK(K), MSi

Pelaksana Tata Usaha

Ratna Ariantini, dr, Sp.PK, Leonita Aniwati, dr, Sp.PK(K), Yetti Hernaningsih, dr, Sp.PK:
Tab. Siklus Bank Jatim Cabang RSUD Dr. Soetomo Surabaya; No AC: 0323551651,
Tabungan Mandiri KCP SBY PDAM; No. AC: 142-00-0743897-0
Email:majalah.ijcp@yahoo.com (PDSPATKLIN Cabang Surabaya),
Bendahara PDSPATKLIN Pusat, RS PERSAHABATAN, Jl. Persahabatan Raya no 1, Jakarta Timur 13230,
Tlp. 62-021-4891708, Fax. 62-021-47869943
Email: pds_patklin@yahoo.com

Alamat Redaksi (Editorial Address)

Departemen/Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Gedung Diagnostik Terpadu Lantai 4 RSUD Dr. Soetomo
Jl. Prof. Dr. Moestopo 6-8 Surabaya Tlp/Fax. (031) 5042113, Fax (031) 5042113, Email: majalah.ijcp@yahoo.com

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

- Air Kemih (Urin) Bereosinofil dengan Dugaan Radang Sela Ginjal Mendadak/Nefritis Interstitial Akut (NIA)
(Urine Eosinophyl in Acute Interstitial Nephritis (AIN))
Felly G Sahureka, Fitriani Mangarengi, Uleng Bahrun **1-4**
- Resistensi terhadap Methicillin (*Methicillin Resistant*) *Staphylococcus aureus* di Instalasi Rawat Inap
(Methicillin Resistant on Staphylococcus aureus at Hospital Ward)
Wildana, Nurhayana Sennang, Benny Rusli **5-8**
- Uji Kesahihan (Validitas) Pemeriksaan *D-Dimer* Cara Menyaring Kekebalan (Metode Imunofiltrasi) dan Cara Mengukur Imunoturbidimetri
(The Validity Examination D-Dimer Assay Between Immunofiltration Method and Immunoturbidimetric Method)
David Rustandi, Delita Prihatni, Tiene Rostini, Nina Tristina **9-11**
- Aktivitas Fosfolipase-A₂ Sekretoris Plasma Trombositopenia Demam Berdarah Dengue
(Plasma Secretary Phospholipase-A₂ Activity in Thrombocytopenic Dengue Haemorrhagic Fever)
Endang Retnowati K.,* Wiyanda Hidayati S, Liana **12-20**
- Profil Virus Dengue di Surabaya Tahun 2008-2009
(Dengue Virus Profile in Surabaya From 2008-2009)
Aryati, Puspa Wardhani **21-24**
- Korelasi antara *Neuron-Specific Enolase* Serum dan *Glasgow Coma Scale* di Pasien Cedera Kepala
(Correlation Between Serum Neuron-Specific Enolase and Glasgow Coma Scale in Traumatic Head Injury)
Usi Sukorini, Isti Setijorini Wulandari, Budi Mulyono, Handoyo Pramusinto **25-31**
- Nilai Batas Antigen NS1 Dengue Kuantitatif sebagai Prediktor Keparahan Jangkitan/Tularan (Infeksi) Virus Dengue Anak
(Cut off Value Dengue Quantitative NS1 Antigen as Predictor Severity of Dengue Viral Infection in Children)
Betty A Tambunan, Aryati, D Husada **32-37**
- Peran Polimorfisme Gen Interferon- γ (IFNG) pada Fenotip Histologi Nefritis Lupus
(The Role of γ -Interferon Gene (IFNG) Polymorphism in Phenotype Histology Lupus Nephritis)
Kusworini Handono **38-43**

TELAAH PUSTAKA

- Pengangkaan (Kuantifikasi) Pemeriksaan Pulasan Gram Di Berbagai Jenis Bahan Pemeriksaan
(Quantification of Gram Staining on Various Specimens)
Adhi Kristianto Sugianli, Ida Parwati **44-50**

LAPORAN KASUS

- Flaming Cells* Di *Multiple Myeloma*
(Flaming Cells in Multiple Myeloma)
Nursin Abd. Kadir, Hj. Darmawaty E.R, Mansyur Arif **51-57**

INFO LABORATORIUM MEDIK TERBARU

PERAN POLIMORFISME GEN INTERFERON- γ (IFNG) PADA FENOTIP HISTOLOGI NEFRITIS LUPUS

(The Role of γ -Interferon Gene (IFNG) Polymorphism in Phenotype Histology Lupus Nephritis)

Kusworini Handono*

ABSTRACT

Lupus Nephritis (LN) is a serious complication of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) with the development of end stage renal disease in 10–70% patients within 5 years. The condition is classified into 6 different classes according WHO criteria. Several studies showed that there were significant clinical manifestation differences between class III, IV and class V LN. It has been suggested that the class differences of LN was related to the cytokines balance and genetic factor. The objective of this study was to determine the role of γ -Interferon gene (IFNG) polymorphism in the class differences of LN. The study was conducted in 40 female SLE patients at the Dr. Saiful Anwar Hospital, Malang. Histologic phenotypes classification was based on World Health Organization (WHO) criteria (1995). Microsatellite polymorphism within the first intron of the IFN γ gene on chromosome 12q24.1 was performed by DNA sequencing. The allele difference between LN classes and healthy controls were analysed by Chi-square, the risk of LN in patients with certain IFNG allele was calculated using Odds Ratio. The result showed that the frequency of IFNG 112 allele were higher in SLE patients compared with healthy controls (susceptible allele) and the risk to have class V LN in patients with IFNG 112 was 6 times higher compared with patients without these allele. There is an association between IFNG polymorphism with the LN classes.

Key words: Lupus Nephritis, histological phenotype, IFNG allele

ABSTRAK

Nefritis Lupus (NL) merupakan komplikasi serius dari Lupus Eritematosus Sistemik (LES) dengan terjadinya penyakit ginjal tahap akhir pada 10–70% pasien dalam 5 tahun. NL diklasifikasikan dalam 6 kelas menurut kriteria WHO. Beberapa penelitian menunjukkan adanya perbedaan gambaran klinis di antara NL kelas III, IV dan V. Diduga terjadinya perbedaan kelas tersebut berkaitan dengan keseimbangan sitokin dan faktor genetik. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui peran polimorfisme gen Interferon- γ (IFNG) pada perbedaan kelas NL. Penelitian dilakukan pada 40 pasien LES wanita di Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang. Klasifikasi fenotip[ik histologi didasarkan pada kriteria WHO. Polimorfisme mikrosatelit intron pertama gen IFN- γ pada kromosom 12q24.1 ditentukan melalui DNA sequencin. Perbedaan alel IFNG di antara kelas NL dan kontrol sehat dianalisa dengan Chi-square, resiko timbulnya NL pada pasien dengan alel IFNG tertentu dihitung dengan Rasio Odds. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi alel IFNG 112 nyata lebih tinggi pada pasien LES dibandingkan dengan kontrol sehat (alel kerentanan). Resiko timbulnya NL kelas V pada pasien dengan alel IFNG 112 adalah 6 kali lebih tinggi dibandingkan pasien yang tidak membawa alel tersebut. Terdapat hubungan antara polimorfisme IFNG dengan perbedaan kelas NL.

Kata kunci: Nefritis Lupus, fenotip histologi, alel IFNG

PENDAHULUAN

Salah satu komplikasi serius dari Lupus Eritematosus Sistemik (LES) adalah terjadinya Nefritis Lupus (NL). Komplikasi ini terjadi pada sekitar 20–40% pasien dengan angka mortalitas dan morbiditas yang cukup tinggi. Meskipun harapan hidup 5 tahun pasien LES meningkat hingga mencapai 90% pada tahun 2000, kenyataannya bahwa pasien LES tetap mempunyai resiko untuk terjadinya NL yang akan berkembang menjadi penyakit ginjal tahap akhir (*ends stage renal disease*) pada sekitar 10–70% setelah 5 tahun, terutama pada NL kelas III–IV (*diffuse proliferatif glomerulonefritis*) dan kelas V

(*membranous glomerulonefritis*).^{1–2} Terdapat 6 kelas NL menurut kriteria WHO, NL kelas I dan kelas II dipandang sebagai NL ringan dengan prognosis yang baik, sebaliknya NL kelas VI dipandang sebagai NL tahap akhir yang mempunyai prognosis terburuk, tak responsif terhadap semua pengobatan, dan merupakan pasien calon cangkok ginjal.^{3–5}

Faktor apa yang berkaitan dengan terjadinya perbedaan proses patologis NL hingga saat ini masih belum diketahui dengan jelas. Beberapa ahli mengungkapkan peran autoantibodi patogenik (aktivitas Th2) yang mencetuskan peradangan menahun melalui terbentuknya kompleks imun di

* Laboratorium Patologi Klinik/Laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang. Jl. Jagung Suprpto 2 Malang. Telp. 0341-357407. E-mail: handonokalim@gmail.com

membran glomerulus.⁶ Akan tetapi hasil berbagai penelitian yang berupaya mengkaitkan autoantibodi dan aktivitas sitokin Th2 dengan gambaran klinis dan histopatologi NL tidak selalu memberikan hasil yang konsisten.⁶⁻⁸ Timbul dugaan bahwa di samping autoantibodi patogenik, aktivitas respon imun seluler (Th1) juga berperan mencetuskan peradangan pada NL. Biopsi ginjal pada NL menunjukkan adanya timbunan agregat kompleks imun di daerah glomerulus yang rusak dan tubulus, namun pasien NL yang lain juga ditunjukkan dengan infiltrasi limfosit T CD8 yang lebih banyak dibandingkan limfosit T CD4 dan monosit. Hal itu mendukung kecurigaan peran respon imun Th1 dalam timbulnya peradangan spesifik pada NL.⁹⁻¹⁰

Keseimbangan sitokin Th1 dan Th2 telah dilaporkan berperan pada patogenesis NL.¹¹⁻¹² Berbagai sel Th1 yang mensekresi IFN- γ sangat dominan pada NL kelas III-IV, sedangkan sel Th2 yang mensekresi IL-4 sangat dominan pada NL kelas V. Lebih lanjut pada pemeriksaan imunohistologi dilaporkan bahwa sel makrofag dan sel Th1, ditemukan di kelas IV tetapi tidak kelas V.¹³ Salah satu aktivitas utama IFN- γ adalah kemampuan merangsang ekspresi HLA kelas II APC. IFN- γ dapat memperkuat kerja sitokin tertentu dan juga dapat merangsang APC untuk melepaskan sitokin IL-12 dalam respon terhadap rangsangan. Terdapat berbagai bukti bahwa IFN- γ mempunyai peran dalam timbulnya peradangan NL.^{9, 14-15}

Saat ini telah dikenal beberapa alel gen yang menyandi IFN- γ yang berkaitan dengan resiko LES di populasi tertentu. Polimorfisme gen IFN- γ (IFNG) yang terletak di daerah intron pertama pada kromosom 12q24.1 dilaporkan pengaruh pada respon imun Th1. Terdapat frekuensi yang tinggi polimorfisme Val 114 Met (alel IFNG 114) yang berlokasi di bagian peptida yang menjandi terminal C dari IFN- γ di pasien dengan NL kelas IV di Jepang. Pada individu dengan alel tersebut terdapat peningkatan ekspresi molekul HLA-DR dan pergeseran kearah fenotip Th1.^{11,13} Tujuan penelitian ini adalah menentukan apakah polimorfisme IFNG juga berperan pada perbedaan fenotip histologi NL di Indonesia.

METODE

Subyek LES dan kontrol sehat

Penelitian ini menggunakan rancangan kasus kontrol. Subyek penelitian adalah 40 pasien LES wanita (diagnosis berdasarkan kriteria ACR tahun 1992) yang berobat di Poliklinik Reumatologi atau pasien rawat inap di Bangsal Penyakit Dalam Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang mulai bulan September tahun 2008 sampai bulan Agustus

2009. Kelompok kontrol terdiri dari 20 orang sehat yang melakukan pemeriksaan kesehatan berkala di Poliklinik Pegawai RSSA. Pengambilan subyek penelitian dilakukan dengan metode sampling konsekutif. Seluruh subyek yang diikuti dalam penelitian ini telah menandatangani surat persetujuan (*informed consent*) dan penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar/Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Biopsi ginjal dan pemeriksaan histopatologi ginjal

Biopsi ginjal dilakukan oleh dokter Ahli Penyakit Dalam konsultan Ginjal Hipertensi di seksi Ginjal-Hipertensi Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam RSSA dengan tuntunan Ultrasonografi (*USG-Guided*). Pengambilan jaringan dilakukan sebanyak 2 kali. Jaringan pertama diawetkan dalam formalin 10%, sedangkan yang kedua dengan *OCT compound*. Jaringan ginjal yang diperoleh segera dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UI/RSCM Jakarta. Dilakukan pemotongan jaringan dengan ketebalan 2 μ m dan preparat difiksasi di atas gelas obyek, kemudian diberi pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE), pewarnaan *periodic acid-Stiff* (PAS) dan imunofluoresen. Pemeriksaan histopatologi ginjal dilakukan oleh dokter spesialis Patologi Anatomi di bagian Patologi Anatomi FKUI-RSCM dengan menggunakan mikroskop cahaya dan mikroskop fluoresen. Klasifikasi fenotip histopatologi NL ditetapkan berdasarkan kriteria WHO.^{10,17}

Pemeriksaan polimorfisme IFNG

Pemeriksaan polimorfisme IFNG ditentukan dengan metode *sequencing analysis*, dikerjakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan di Laboratorium Bioteknologi Puspitek Serpong. DNA genom diekstraksi dari 5 ml darah EDTA dengan menggunakan metode standar *salting out*. Amplifikasi *genotyping* untuk polimorfisme mikrosatelit IFNG dilakukan dengan PCR dan dilanjutkan dengan analisa sekuens. Amplifikasi lokus spesifik dilakukan dengan menggunakan primer 5' TGA TTT TAT TCT TAC AAC ACA 3' dan primer 5' CTT CCT GTA GGG TAT TAT TAT 3'. DNA genom (60-110 ng) diamplifikasi dengan menggunakan 10 pmol setiap primer, 400 μ mol/L setiap dNTP, 1.5 μ mol/L MgCl₂, 50 μ mol/L KCl, 10 μ mol/L TRIS HCl (pH 8.3) dan 0.5 unit *Taq polymerase* dalam suatu *PCR cyclor*. PCR dikondisikan pada 3 menit 96° C yang diikuti dengan 35 siklus: 30 detik 96° C, 30 detik 50° C dan 30 detik 72° C dengan ekstensi selama 7 menit pada 72° C dalam siklus terakhir. Hasil PCR dimurnikan kemudian dilakukan *cycle-sequenced* menggunakan *BigDye Terminator system* dan dianalisa dengan suatu *ABI Prism 310 capillary sequencer*.¹³ Polimorfisme IFNG

ditetapkan berdasarkan pengulangan pasangan basa CA (*CA repeat*) pada intron pertama gen IFN- γ yang teramplifikasi.¹³ Alel diidentifikasi berdasarkan jumlah pengulangan CA dimulai pada +875 yang bervariasi dari 9 (alel 106 bp) sampai 18 pengulangan CA (alel 124 bp). Alel dengan 12 pengulangan CA (12 *CA repeat*) diidentifikasi sebagai IFNG 112, selanjutnya alel dengan 13 pengulangan CA diidentifikasi sebagai IFNG 114 dan seterusnya.

Analisa statistik

Perbedaan polimorfisme IFNG (alel IFNG) terhadap kelas fenotip histologi NL (kelas III/IV dan V) dan kontrol dianalisis menggunakan Chi-square dan besarnya resiko terjadinya NL kelas III/IV dan V pada pasien dengan alel kerentanan dihitung dengan Rasio Odds, signifikansi ditetapkan dengan nilai $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Di antara 40 pasien LES yang diteliti, berhasil dilakukan biopsi dan dinilai gambaran histopatologinya (fenotip histologi NL) adalah 31 pasien. Sembilan pasien dinyatakan tidak berhasil ditentukan fenotipnya. Karakteristik klinik pasien (9 pasien) telah dianalisa dan hasilnya tak berbeda bermakna dengan 31 pasien yang dilakukan biopsi (data tak ditampilkan). Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi didapatkan 13 pasien (41,94%) dengan fenotip NL kelas I/II, 12 pasien (38,71%) dengan NL kelas III/IV dan 6 pasien (19,35%) dengan NL kelas V.

Meskipun umur pasien setiap kelas NL tak berbeda bermakna, pasien dengan NL kelas III/IV dan kelas V mempunyai lama sakit yang lebih pendek dari pada pasien dengan NL kelas I/II. Hal ini mungkin menunjukkan bahwa timbulnya NL yang berat tak berkaitan dengan lamanya menderita LES. Persentase pasien rawat inap lebih tinggi di pasien dengan NL kelas III/IV dan kelas V dari pasien dengan kelas

I/II, menunjukkan bahwa pasien kelas III/IV dan V cenderung lebih berat daripada kelas I/II (tabel 1).

Hasil penelitian ini didapatkan 9 alel IFNG baik di seluruh pasien LES maupun kontrol sehat. Terdapat perbedaan yang bermakna frekuensi alel IFNG 112 dan alel IFNG 116 di pasien LES dan kontrol sehat (tabel 2). Alel IFNG 112 nyata lebih tinggi di pasien LES dibanding pada kontrol ($p < 0.05$) sehingga alel ini dapat disebut sebagai alel kerentanan untuk LES. Alel IFNG 116 lebih tinggi di kontrol sehat dibanding pada pasien LES (alel protektif).

Tabel 2. Frekwensi alel IFNG di seluruh pasien LES dan kontrol

Allel/CA repeat	Pasien LES N=40	Kontrol N= 20	P
IFNG 106/9	–	1 (5%)	NS
IFNG 108/10	–	3 (15%)	NS
IFNG 110/11	–	–	NS
IFNG 112/12	23 (57,5%)	5 (25%)	0,047*
IFNG 114/13	6 (15%)	3 (15%)	NS
IFNG 116/14	7 (17,5%)	8 (40%)	0,049*
IFNG 118/15	1 (2,5%)	–	NS
IFNG 120/16	1 (2,5%)	–	NS
IFNG 122/17	1 (2,5%)	–	NS
IFNG 124/18	1 (2,5%)	–	NS

* $P < 0.05$ bermakna; NS: tidak signifikan/tidak bermakna

Di antara berbagai pasien NL dari setiap kelas tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam frekuensi seluruh alel IFNG (tabel 3). Masih belum dapat jelas mengapa tidak ada perbedaan dalam hal tersebut.

Frekuensi seluruh alel IFNG di pasien NL kelas III/IV ternyata juga tak berbeda bermakna dengan pasien NL kelas V meskipun tampak frekuensi alel IFNG 112 lebih banyak dijumpai di pasien NL kelas V daripada kelas III/IV. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian di Jepang yang menunjukkan bahwa alel IFNG 114 dijumpai lebih sering pada

Tabel 1. Karakteristik demografi pasien LES dari masing-masing kelas NL

Karakteristik	Kelas I/II (n: 13)	Kelas III/IV (n: 12)	Kelas V (n: 6)	P
Umur, tahun	21–54 (36.25 \pm 16.47)	22–49 (34.83 \pm 13.28)	19–45 (29.12 \pm 14.73)	NS
Pasca menopause (%)	1 (7,7%)	2 (16,7%)	1 (11,1%)	NS
Index Masa Tubuh (kg/m ²)	16.65–27.06 (21.60 \pm 7.31)	15.56–22.48 (20.55 \pm 3.16)	18.83–29.01 (22.72 \pm 6.82)	NS
Obesitas (IMT > 25 kg/m ²)	2 (15,4%)	–	3 (50%)	NS
BB kurang (IMT < 18 kg/m ²)	2 (15,4%)	5 (41,67%)	–	NS
Lama sakit (bulan)	12–156 (43.46 \pm 44.39)	12–84 (28.17 \pm 24.87)	11–60 (24.17 \pm 21.33)	0.0471*
Perawatan inap di RSSA	6 (46,1%)	11 (91,7%)	5 (83,3%)	0.0464*

* $p < 0,05$ bermakna: antara NL kelas I/II dan kelas III/IV dan V; NS: tidak signifikan

Tabel 3. Frekuensi alel IFNG pada pasien LES dengan berbagai kelas NL

Allel/CA repeat	NL kelas I/II (n: 13)	NL kelas III/IV (n: 12)	NL kelas V (n:6)	P
IFNG 106/9	–	–	–	
IFNG 108/10	–	–	–	
IFNG 110/11	–	–	–	
IFNG 112/12	8 (61,5%)	7 (58,3%)	4 (66,6%)	NS
IFNG 114/13	2 (15,4%)	3 (25,0%)	–	NS
IFNG 116/14	2 (15,4%)	1 (8,7%)	1 (16,7%)	NS
IFNG 118/15	–	–	–	
IFNG 120/16	1 (7,6%)	1 (8,3%)	–	NS
IFNG 122/17	–	–	–	
IFNG 124/18	–	–	1 (16,7%)	NS

NS: tidak signifikan/tidak bermakna

pasien NL kelas IV.¹³ Alel IFNG 112 cenderung lebih banyak didapatkan di pasien NL kelas III/IV dari pada kontrol. Resiko timbulnya NL kelas III/IV di pasien lupus yang membawa alel ini adalah 4.20 kali dibandingkan dengan yang tidak membawa alel ini. Pasien NL kelas V mempunyai alel IFNG 112 secara bermakna lebih banyak dibandingkan dengan kontrol (66,6% vs 25%, p: 0,049), dan resiko timbulnya NL kelas V pada pasien lupus yang membawa alel FNG 112 adalah 6 kali (tabel 4).

Pada penelitian ini telah didapat 9 alel sebagai polimorfisme mikrosatelit IFNG di seluruh sampel yang diteliti (40 kasus LES dan 20 kontrol sehat). Hasil ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian di pasien LES Jepang yang ditemukan 10 alel (tabel 5).

Tidak ditemukannya alel IFNG 110 pada penelitian ini kemungkinan terbatasnya jumlah sampel yang diperiksa.

Pengaruh polimorfisme gen IFN- γ dengan resiko LES pada umumnya dan NL pada khususnya telah lama diteliti pada hewan coba dan manusia. Penelitian pada manusia memberikan hasil yang berbeda-beda. Telah dilaporkan peningkatan mRNA IFN- γ di sel mononuklear darah tepi pasien LES dan peningkatan kadar IFN γ intraseluler sel T CD4 pasien NL. Penelitian *microarray* menunjukkan peningkatan 13 gen yang diatur oleh IFN- γ sel mononuklear pasien LES dibanding sel orang normal. Sel T pasien LES juga terbukti memberikan tanggapan (respon) IFN- γ yang kuat setelah suatu rangsangan. Di pasien LES

Tabel 4. Resiko terjadinya NL kelas III/IV dan NL kelas V pada alel IFNG

Alel	Kontrol (n = 20)	NL kelas III/IV (n = 12)	NL kelas V (n = 6)
Size (bp)/repeat			
106/9	0	0	0
108/10	4 (20%)	0	0
110/11	0	0	0
112/12	5 (25%)	7 (58,3%) OR 4,20 p = 0,057	4 (66,6%) OR 6,0 p= 0,049*
114/13	3 (15%)	3 (25%) OR 1,88 p = 0,095	0
116/14	8 (40%)	1 (8,3%) OR 0,17, p = 0,058	1 (16,6%) OR 0,37 p = 0,174
118/15	1 (5%)	0	0
120/16	0	1 (8,3%)	0
122/17	0	0	0
124/18	0	0	1 (16,6%)

* p < 0,05 bermakna

Tabel 5. Polimorfisme alel IFNG (berdasarkan CA repeat) dari penelitian di Jepang dan hasil penelitian pasien Indonesia

<i>Allele</i>	<i>Base pair</i>	<i>Repeat</i>	<i>Designated</i>	Penelitian di Jepang¹³	Penelitian ini
1	106	9 CA	IFNG 106	+	+
2	108	10 CA	IFNG 108	+	+
3	110	11 CA	IFNG 110	+	-
4	112	12 CA	IFNG 112	+	+
5	114	13 CA	IFNG 114	+	+
6	116	14 CA	IFNG 116	+	+
7	118	15 CA	IFNG 118	+	+
8	120	16 CA	IFNG 120	+	+
9	122	17 CA	IFNG 122	+	+
10	124	18 CA	IFNG 124	+	+

dapat ditemukan kaitan dengan aktivitas penyakit, yang menunjukkan bahwa pada kekambuhan terjadi peningkatan produk IFN- γ .^{15-16,18}

Frekuensi alel IFNG 112 dijumpai pada 23 (57,5%) dari 40 pasien LES dibanding dengan 5 dari 20 (25%) kontrol sehat ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan kemungkinan peran alel IFNG 112 sebagai alel yang membawa resiko timbulnya LES pada orang Indonesia (alel kerentanan). Sebaliknya alel IFNG 116 nampak lebih banyak secara nyata di kontrol sehat dibandingkan dengan pasien lupus (40% vs 17,5%, $p < 0,05$). Hal tersebut juga menunjukkan kemungkinan alel IFNG 116 sebagai alel protektif untuk timbulnya LES. Tak ada perbedaan yang bermakna dalam frekuensi polimorfisme mikrosatelit alel IFNG yang lain antara pasien lupus dan kontrol sehat (tabel 2).

Meskipun frekuensi alel IFNG 112 pada penelitian ini cenderung lebih tinggi di pasien LES dibandingkan dengan kontrol sehat, namun tak didapat perbedaan yang bermakna frekuensi alel IFNG 112 di pasien NL kelas III/IV dengan kelas V dan kelas I/II (tabel 3). Belum dapat dijelaskan mengapa tidak terdapat perbedaan dalam hal ini, kemungkinan besar adalah karena jumlah sampel yang diperiksa sedikit. Pada analisa lebih lanjut didapatkan bahwa alel IFNG 112 cenderung lebih tinggi dijumpai di pasien NL kelas V dibandingkan dengan kontrol sehat (66,6% vs 25%, $p < 0,05$; OR =6,0). Hal ini menunjukkan bahwa alel IFNG 112 penting dalam patogenesis NL (tabel 4). Hasil penelitian di Jepang didapat bahwa alel IFNG 114 (Val 114 Met) merupakan alel yang mempunyai resiko untuk NL kelas IV. Sehingga dapat disimpulkan bahwa faktor genetik tertentu berperan penting pada timbulnya manifestasi klinik NL yang spesifik. Lebih lanjut dilaporkan di Jepang bahwa pasien NL kelas IV dengan polimorfisme IFNG 114 terdapat peningkatan ekspresi molekul HLA-DR dan pergeseran kearah fenotip Th1. Juga dilaporkan bahwa alel tersebut dan alel IFNG 112 berkaitan dengan produksi IFN- γ yang lebih tinggi oleh monosit.¹¹

Pengulangan sekuen (*repeat sequence*) dinukleotida itu sendiri mungkin mempunyai fungsi regulasi atau *linkage* dengan polimorfisme fungsional pada intron pertama gen IFN- γ dan mungkin berkaitan dengan produksi sitokin yang berbeda.¹⁹ Bagaimana pengaruh IFNG 112 terhadap produksi sitokin di pasien LES di Indonesia perlu penelitian lebih lanjut. Ditemukan Polimorfisme IFNG yang spesifik diharapkan manfaatnya untuk meramal gambaran klinis dan perjalanan penyakit pasien LES dan dikembangkannya lebih lanjut strategi pengobatan yang sesuai.²⁰

SIMPULAN

Alel IFNG 112 mempunyai peran untuk timbulnya LES dan NL yang cenderung menunjukkan fenotip histologi NL kelas V. Resiko timbulnya NL kelas V di pasien LES dengan alel IFNG 112 adalah 6 kali dibandingkan dengan individu yang tidak membawa alel ini. Alel IFNG 116 mungkin merupakan alel protektif untuk LES di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Pemerintah Republik Indonesia c/q Mentri Riset dan Teknologi sebagai penyandang dana serta Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Brawijaya sebagai fasilitator dalam pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih juga kami sampaikan kepada dr. Atma Gunawan, dr. Singgih Wahono, dr. Rulli Rosandi, dr. Christina, dr. Wivina dan dr. M. Nathalia Malo atas bantuannya dalam penyediaan pasien, pengerjaan biopsi, pengiriman sampel jaringan serta pengumpulan data. Terima kasih kepada Prof. Handono Kalim, dr. BP Putra Suryana dan DR. Ir. Wahyu Purbowarsito sebagai konsultan dalam penelitian ini. Tak lupa pula kami haturkan rasa terima kasih yang tak terhingga pada seluruh

pasien LES serta semua fihak yang terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Contreras G, Pardo V, Cely C, Borja E, Hurtado A, Cuesta CDL, et al. Factors associated with poor outcomes in patients with lupus nephritis. *Lupus*, 2005;14: 890.
2. Korbet SM, Schwartz MM, Evans J et al. Severe lupus nephritis: racial differences in presentation and outcome. *J Am Soc Nephrol*, 2007; 18: 244–254.
3. Mak A, Mok C, Chu W, To C, Wong S, Au T. Renal damage in systemic lupus erythematosus: a comparative analysis of different age groups. *Lupus*, 2007; 16: 28–34.
4. Nezhad ST and Sepaskhah R. Correlation of clinical and pathological findings in patients with lupus nephritis: A five-year experience in Iran. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2008; 19(1): 32–40.
5. Bastian HM, Alarçon GS, Roseman JS, et al. Systemic lupus erythematosus in multiethnic US cohort (LUMINA) XL II: factors predictive of new or worsening proteinuria. *Rheumatol*, 2007; 46: 683–9.
6. Waldman M and Madaio M. Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. *Lupus*, 2005; 14:19–24.
7. D'Agati VD and Appel GB. **Lupus Nephritis: Pathology and Pathogenesis**. In. Wallace DJ and Hahn BH (eds). *Dubois' Lupus Erythematosus*, 7th ed., Philadelphia, Lippincot Williams & Wilkins, 2007; 1094–1108.
8. Mason L and Berden J. Pathogenic factors for the development of lupus nephritis. *Lupus*, 2008; 17: 251.
9. Masutani K, Akahashi M, Tsuruya K, et al. **Predominance of Th1 immune response in diffuse proliferative lupus nephritis**. *Arthritis Rheum*, 2001; 44: 2097–2106.
10. Oates J. Renal biopsy at the onset of clinical lupus nephritis: can it yield useful information? *J Rheumatol*, 2007; 34: 256–8.
11. Uhm W.S, Na K, Song G-W, Jung S.S, Lee T, Park M.H, and Yoo. DH. Cytokine balance in kidney tissue from lupus nephritis patients. *Rheumatology*, 2003; 42: 935–8.
12. Chan RW-Y, Lai FM-M, Li EK-M, et al. **Imbalance of Th1/Th2 transcription factors in patients with lupus nephritis**. *Rheumatol*, 2006; 45: 951–7.
13. Miyake K, Nakashima H, Akahoshi, M, Inoue Y et al. **Genetically determined interferon- γ production influences the histological phenotype of lupus nephritis**. *Rheumatology*, 2003; 41: 518–24.
14. Mathian A, Weinberg A, Gallegos M et al. **IFN- γ induces early lethal lupus in preautoimmune (NZ Black x NZ White) F₁ but not in BALB/c Mice**. *J Immunol*, 2005; 174: 2499–2516.
15. Rönnblom I, and Alm GV. **Systemic lupus erythematosus and the type I interferon system**. *Arthritis Res. Ther*, 2003; 5: 68–75.
16. **Schwartzing A. Genetic predisposition-is lupus nephritis a question of copy numbers?** *Nephrol Dial Transplant*, 2006; 21: 2378–79.
17. Weening J, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV. **The Classification of Glomerulonephritis in Systemic Lupus Erythematosus Revisited**. *J Am Soc Nephrol*, 2004; 15: 241–50.
18. Yamauchi M, Hashimoto M, Ichiyama K et al. **Ifi202, an IFN-inducible candidate gen for lupus susceptibility in NZB/WF1 mice, is a positive regulator for NF- κ B activation in dendritic cells**. *Intern Immunol*, 2007; 19: 935–942.
19. Blazej RG, Paegel BM, Mathies A. **Approach for single nucleotide polymorphism discovery and genotyping**. *Genom Res*, 2003; 13: 287–293.
20. Prokunina L, Alarcon-Riquelme W. **The Genetic basis of Systemic lupus Erythematosus-knowledge today and thoughts for tomorrow**. *Human Mol Genetics*, 2004; 13: 43–8.