

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem imun

Pertahanan awal melawan mikroba dimediasi oleh imunitas non spesifik dan respon berikutnya adalah pengaktifan imunitas adaptif. Imunitas non spesifik adalah lini pertama pertahanan tubuh. Komponen dari imunitas non spesifik diantaranya adalah pertahanan fisik dan kimia yang diperankan oleh sel epitel dan substansi antimikroba yang diproduksi di permukaan sel epitel. Selain itu juga diperankan oleh sel fagosit (neutrofil, makrofag) dan sel natural killer, sistem komplemen, mediator inflamasi, dan sitokin. Berbeda dengan imunitas non spesifik, imunitas adaptif adalah imunitas spesifik yang hanya spesifik untuk antigen tertentu. Imunitas adaptif memiliki kemampuan untuk mengingat (*memory cell*) dan merespon lebih hebat terhadap eksposur yang berulang. Komponen utama dalam imunitas adaptif adalah limfosit dan produk yang disekresikan seperti antibodi. Ada dua tipe imunitas adaptif yakni imunitas humoral dan *cell mediated immunity*. Imunitas humoral adalah mekanisme pertahanan melawan antigen ekstraseluler yang kemudian akan menghasilkan antibodi. *Cell mediated immunity* atau imunitas seluler merupakan pertahanan terhadap antigen intraseluler. Imunitas seluler ini dimediasi oleh limfosit T (Abbas A *et al.*, 2007).

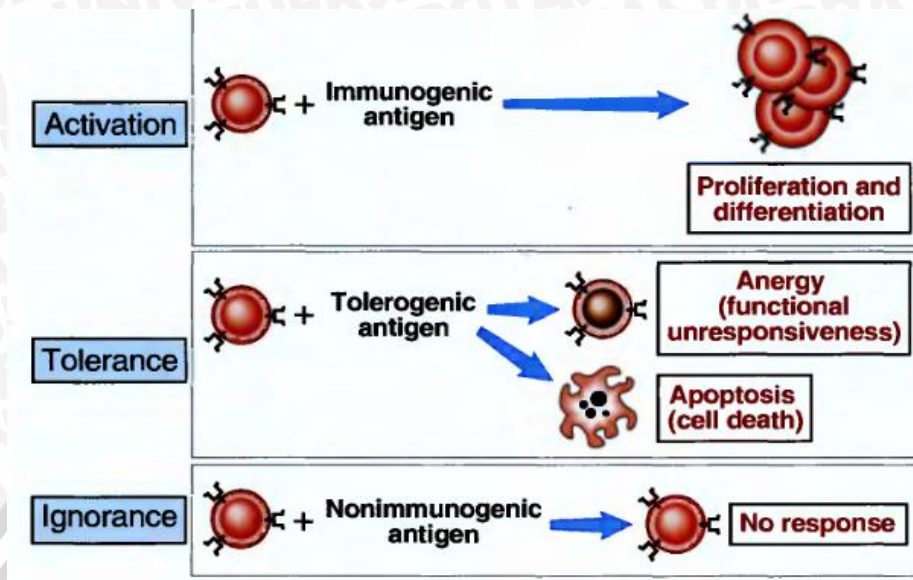
2.2 Toleransi Imun

Sistem imun tubuh memiliki kemampuan untuk membedakan antigen asing dan self antigen sehingga sistem imun tidak menyerang antigen diri sendiri, hal ini disebut dengan toleransi imun. Ada dua macam toleransi imun yakni

toleransi sentral dan perifer. Toleransi sentral adalah mekanisme toleransi pada self antigen yang terdapat pada organ limfoid bone marrow dan timus. Sedangkan toleransi perifer adalah toleransi imun pada jaringan perifer. Toleransi sentral limfosit T yakni jika sel T imatur di timus mengenali self antigen dengan kuat maka limfosit tersebut akan apoptosis. Limfosit yang berkembang di timus dapat mengenali berbagai macam antigen termasuk antigen self maupun antigen asing. Toleransi perifer limfosit T dirangsang ketika sel T matur mengenali self antigen di jaringan perifer yang mengakibatkan inaktivasi fungsional (*anergy*), apoptosis, atau ditekan oleh sel T regulator. Toleransi sentral limfosit B adalah ketika sel limfosit B berinteraksi dengan kuat dengan self antigen di *bone marrow*, sel B akan apoptosis (*negative selection*) atau mengganti spesifikasi reseptor (*receptor editing*). Toleransi perifer limfosit B yakni apabila sel limfosit B matur akan menjadi anergi ketika berikatan dengan self antigen di perifer (Abbas A *et al.*, 2004).

Ketika limfosit berikatan dengan antigen asing yang bersifat imunogenik (misalnya mikroba) limfosit akan teraktivasi kemudian berdiferensiasi dan berproliferasi. Apabila limfosit berikatan dengan antigen yang bersifat tolerogenik (*self antigen*) maka limfosit akan inaktif secara fungsional (*anergy*) atau apoptosis sebagai akibat dari toleransi. Pada beberapa kondisi limfosit tidak bereaksi dengan self antigen atau disebut dengan *ignorance* (Abbas A *et al.*, 2004).

Ketika limfosit berikatan dengan antigen tertentu maka kemungkinan akan terjadi 3 hal seperti yang dijelaskan pada gambar berikut:



Gambar 2.1 Konsekuensi terpaparnya limfosit dengan antigen (Abbas A *et al.*, 2004)

2.3 Autoimunitas

Autoimunitas didefinisikan sebagai respon imun yang menyerang antigen jaringan sendiri yang disebabkan oleh mekanisme normal yang gagal berperan untuk mempertahankan *self-tolerance* sel B, sel T atau keduanya. Penyakit autoimun adalah kerusakan jaringan atau gangguan fungsi fisiologis yang ditimbulkan oleh respon autoimun. Perbedaan tersebut penting oleh karena respon imun dapat terjadi tanpa disertai penyakit atau penyakit yang ditimbulkan oleh mekanisme lain, seperti infeksi. (Abbas A *et al*, 2004; Baratawidjaja, 2010)

Dalam populasi, sekitar 3,5% individu menderita penyakit autoimun, 94% dari jumlah tersebut berupa penyakit Grave (hipertiroidism), diabetes melitus tipe 1, anemia pernisirosa, artritis reumatoid, tiroiditis, vitiligo, sklerosis multipel dan LES (Lupus Eritematosus Sistemik). Penyakit ditemukan lebih banyak pada wanita (2,7x dibanding pria) diduga karena peran hormon. LES mengenai wanita 10 kali lebih sering dibanding pria (Baratawidjaja, 2010).

Faktor yang menjadi dasar pada perkembangan autoimun adalah adanya kerentanan terhadap suatu gen yang diturunkan, yang dapat berkontribusi terhadap gagalnya sistem toleransi imun diri sendiri, selain itu adanya pemicu dari lingkungan seperti infeksi yang dapat mengaktivasi sel limfosit reaktif. Etiologi autoimun sendiri sampai saat ini masih belum diketahui karena penyakit autoimun pada manusia sering kali bersifat heterogen dan multifaktor, antigen sendiri yang menginduksi dan yang menjadi target pada reaksi autoimun sering kali tidak diketahui, dan manifestasi klinis dari penyakit autoimun itu sendiri munculnya lama setelah reaksi autoimun yang pertama (Abbas A *et al.*, 2004).

2.3.1 Kriteria Autoimunitas.

Untuk membuktikan bahwa autoimunitas merupakan sebab penyakit tertentu, diperlukan sejumlah kriteria yang harus dipenuhi. Ada 6 butir yang diperlukan untuk menentukan kriteria autoimunitas.

Tabel 2.1 Kriteria Autoimun

No.	Kriteria	Catatan
1	Autoantibodi atau sel T autoreaktif dengan spesifitas untuk organ yang terkena ditemukan pada penyakit	Kriteria ditemukan pada kebanyakan penyakit endokrin autoimun. Lebih sulit ditemukan pada antigen sasaran yang tidak diketahui seperti pada <i>arthritis rheumatoid</i> (AR). Autoantibodi lebih mudah ditemukan dibandingkan sel T autoreaktif, tetapi autoantibodi dapat juga ditemukan pada beberapa subyek normal

2	Autoantibodi dan atau sel T ditemukan di jaringan cedera	Benar pada beberapa penyakit endokrin, LES, dan beberapa glomerulonefritis
3	Ambang autoantibodi atau respons sel T menggambarkan aktivitas penyakit	Hanya ditemukan pada penyakit autoimun sistemik akut dengan kerusakan jaringan progresif cepat seperti pada LES, vaskulitis sistemik, atau penyakit anti glomerulus membran basal
4.	Penurunan respon autoimun memberikan perbaikan penyakit	Keuntungan immunosupresi terlihat pada beberapa penyakit, terbanyak immunosupressan tidak spesifik dan berupa anti inflamasi
5.	Transfer antibodi atau sel T ke pejamu sekunder menimbulkan penyakit autoimun pada resipien	Pada manusia dengan transfer transplasental antibodi IgG autoreaktif selama kehamilan trimester terakhir dan dengan timbulnya penyakit autoimun pada resipien transplan sumsum tulang bila donor memiliki penyakit autoimun
6.	Imunisasi dengan autoantigen dan kemudian induksi respon autoimun menimbulkan penyakit.	Banyak protein <i>self</i> menginduksi respon autoimun pada hewan bila disuntikan dengan ajuvan yang benar. Lebih sulit dibuktikan pada manusia, tetapi imunisasi rabies dengan jaringan otak mamalia yang

	terinfeksi (tidak infeksius) dapat menimbulkan ensefalomielitis autoimun.
--	---

2.3.2 Faktor Imun yang Berperan pada Autoimunitas

A. *Sequestered* Antigen.

Sequestered antigen adalah antigen sendiri yang karena letak anatominya, tidak terpajan dengan sel B atau sel T dari sistem imun. Dalam keadaan normal, *sequestered* antigen dilindungi dan tidak ditemukan untuk dikenal sistem imun. Perubahan anatomik dalam jaringan seperti inflamasi (sekunder oleh infeksi, kerusakan iskemia atau trauma) dapat memajukan *sequestered* antigen dengan sistem imun yang tidak terjadi pada keadaan normal. Contohnya protein lensa intraokular dan sperma. Inflamasi jaringan dapat pula menimbulkan perubahan struktur pada self antigen dan pembentukan determinan baru yang dapat memacu reaksi autoimun.

B. Gangguan Presentasi

Gangguan dapat terjadi pada presentasi antigen, infeksi yang meningkatkan respon MHC, kadar sitokin yang rendah (misalnya TGF- β) dan gangguan respon terhadap IL-2. Pengawasan beberapa sel autoreaktif diduga bergantung pada sel Ts atau Treg. Bila terjadi kegagalan sel Ts atau Treg maka sel Th dapat dirangsang sehingga menimbulkan autoimunitas.

C. Ekspresi MHC-II yang tidak benar.

Sel β pankreas dengan IDDM (*Insulin Dependent Dabetes Mellitus*) mengekspresikan kadar tinggi MHC-I dan MHC-II, sedang subyek sehat sel β mengekspresikan MHC-I yang lebih sedikit dan tidak mengekspresikan MHC-II sama sekali. Ekspresi MHC-II yang tidak pada tempatnya itu yang biasanya

hanya diekspresikan pada APC dapat mensensitasi sel Th terhadap peptida yang berasal dari sel β atau tiroid dan mengaktifkan sel β atau Tc atau Th1 terhadap self antigen.

D. Aktivasi sel B poliklonal

Autoimunitas dapat terjadi oleh karena aktivasi sel B poliklonal oleh virus (Ebstein Barr Virus), LPS (Lipopolisakarida) dan parasit malaria yang dapat merangsang sel B secara langsung yang menimbulkan autoimunitas. Antibodi yang dibentuk terdiri atas berbagai autoantibodi.

E. Peran CD4 dan Reseptor MHC

Sel T mengenal antigen melalui TCR dan MHC serta peptida antigenik. Untuk seseorang menjadi rentan terhadap autoimunitas harus memiliki MHC dan TCR yang dapat mengikat antigen sel sendiri.

F. Keseimbangan Th1 – Th2

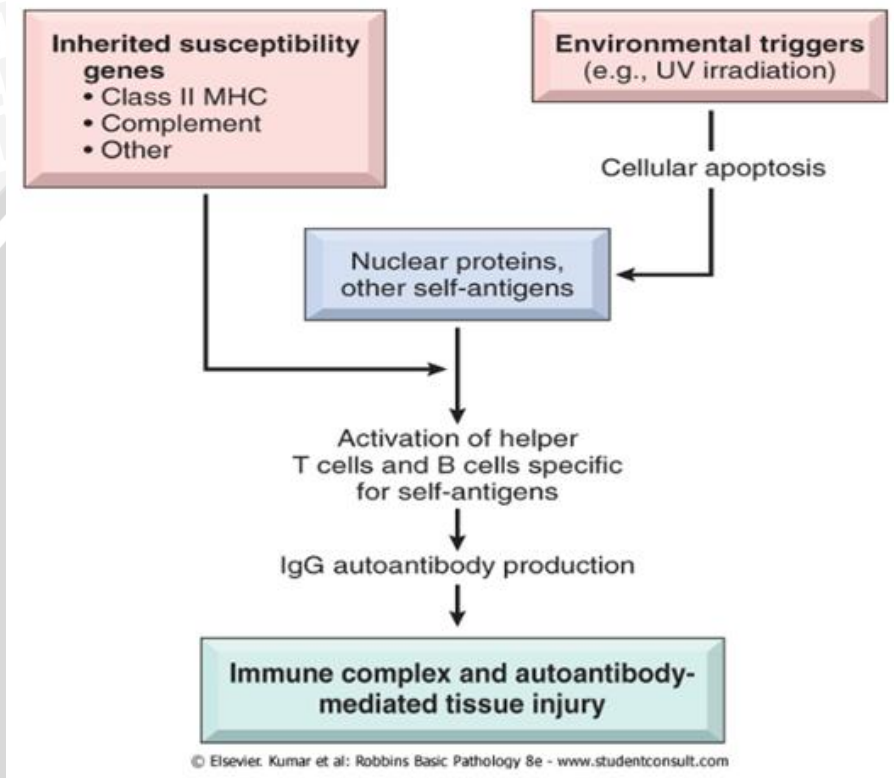
Penyakit autoimun organ spesifik terbanyak terjadi melalui sel T CD4. Ternyata keseimbangan Th1-Th2 dapat mempengaruhi terjadinya autoimunitas. Th1 menunjukkan peran pada autoimunitas sedang pada beberapa penelitian Th2 tidak hanya melindungi terhadap induksi penyakit, tetapi juga terhadap proses progres penyakit.

G. Sitokin pada Autoimunitas

Beberapa mekanisme kontrol melindungi efek sitokin patogenik, diantaranya adalah adanya ekspresi sitokin sementara dan reseptornya serta produksi antagonis sitokin dan inhibitorynya. Gangguan mekanismenya meningkatkan regulasi atau produksi sitokin yang tidak benar sehingga menimbulkan efek patofisiologik. IL-1 dan TNF telah mendapat banyak perhatian sebagai sitokin yang menimbulkan kerusakan. Kedua sitokin ini menginduksi

ekspresi sejumlah protease dan dapat mencegah pembentukan matriks ekstraselular atau merangsang penimbunan matriks yang berlebihan.

Secara skematis patogenesis penyakit autoimun digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2.2 Patogenesis penyakit autoimun (Robbin *et al.*, 2007)

2.4 Lupus Eritematosus Sistemik

Lupus eritematosus sistemik (LES) merupakan gangguan autoimun multisistem dengan manifestasi klinis yang luas. Puncak onset antara usia remaja dan awal 40 tahunan dengan rasio wanita dengan pria sebesar 9:1. Grup etnik tertentu, seperti keturunan Afrika atau Asia memiliki faktor resiko lebih besar daripada pasien dari Kaukasia (Cervera *et al*, 2009; Crispin *et al*, 2010). Prevalensi LES dilaporkan berkisar 12.2 per 100.000 penduduk dengan angka

mortalitas dan morbiditas yang cukup tinggi terutama di negara sedang berkembang (Tsokos, 2011).

Penyakit LES ini ditandai oleh produksi antibodi terhadap komponen-komponen inti sel yang berhubungan dengan manifestasi klinis yang luas. Etiologi dan patogenesis penyakit ini sampai saat ini masih belum jelas. Hilangnya toleransi imun, banyaknya antigen, meningkatnya sel T *helper*, terganggunya supresi sel B dan perubahan respon imun dari Th1 ke Th2 menyebabkan hiper-reaktivitas sel B dan terbentuknya autoantibodi (Mok and Lau, 2003).

2.4.1 Patogenesis LES

Patogenesis LES sangat kompleks dan belum terlalu jelas. Berbagai faktor seperti genetik, hormon, dan lingkungan diketahui mempunyai peran penting dalam mekanisme penyakit tersebut. Kombinasi semua faktor tersebut mengakibatkan disregulasi sistem imun seperti gangguan mekanisme klirens dan gangguan aktivitas supresi sel-sel imun oleh sel-sel supresor sehingga terjadi aktivitas limfosit B berlebihan yang menyebabkan pembentukan berbagai antibodi. Menurut Jianxin *et al.* (2009) bahwa sel B pasien LES lebih sensitif terhadap stimulasi sitokin seperti IL-6. Jumlah sel B didapatkan meningkat di darah tepi pada setiap tahapan aktivasinya. Gagalnya supresi terhadap sel B mungkin merupakan salah satu faktor yang menyebabkan penyakit berlangsung terus. Defek pada regulasi imun seperti klirens sel-sel apoptotik dan kompleks imun menjadi kontributor terjadinya LES. Deposisi kompleks antigen-antibodi (kompleks imun) akan menimbulkan gangguan pada berbagai organ dan jaringan. Mekanisme tersebut mendasari semua kelainan patologi utama yang

terjadi pada LES seperti inflamasi, vaskulitis, dan vaskulopati (Mok *and* Lau, 2003; Kalim *et al*, 2011).

Beberapa gen juga diketahui meningkatkan kerentanan terhadap LES, baik gen *major histocompatibility complex* (MHC) maupun non MHC. Gen *human leucocyte antigen* (HLA) klas I terutama HLA DR2 dan DR3 paling sering dilaporkan berkaitan dengan LES pada berbagai ras, dengan resiko relatif untuk terjadinya LES antara 2-5 kali (Kalim *et al*, 2011). Beberapa kasus LES dilaporkan memiliki kaitan dengan defisiensi *single gene* (misalnya komponen komplemen C1q dan C4) namun banyak kasus dihasilkan dari kombinasi efek dari banyak gen (Tsokos, 2011).

Pada penderita LES kelainan imunologis yang utama adalah produksi autoantibodi. *Antibodi antinuclear* (ANA) adalah antibodi yang paling sering ditemukan pada penderita LES (>95%). Antibodi *double stranded DNA* (anti dsDNA) dan antibodi anti Sm merupakan antibodi yang spesifik untuk LES sehingga dimasukkan dalam kriteria klasifikasi dari LES. Titer antibodi anti dsDNA seringkali berubah sesuai dengan waktu dan aktivitas penyakit, sedangkan titer antibodi anti Sm biasanya konstan. Antibodi anti dsDNA lebih sering mengendap di ginjal, sehingga diduga kompleks imun DNA - antibodi anti DNA merupakan mediator inflamasi yang utama pada kerusakan ginjal (Mok *and* Lau, 2003).

Diduga terbentuknya kompleks imun (DNA dan anti-DNA) merupakan ciri imunopatologis lupus. Antibodi yang mengikat nukleosom (DNA dan histon) dapat terjadi di ginjal dan membentuk kompleks imun *in situ*. Baik kompleks imun yang dibentuk dalam sirkulasi atau *in situ* berperan dalam terjadinya kerusakan ginjal, kulit, pleksus koroid di otak dan jaringan lainnya (Anolik, 2007).

Pada pasien LES juga ditemukan defek pada produksi sitokin. Penurunan produksi IL-1 dan IL-2 dapat berpengaruh terhadap fungsi sel T dan sel B. Di samping itu ditemukan pula penurunan respon sel T regulator terhadap IL-2 yang mengakibatkan fungsinya menurun sehingga fungsi sel Th seakan lebih meningkat. Sebaliknya hiperreaktivitas sel B dapat disebabkan oleh hipersensitivitas sel Th terhadap IL-2 (Anolik, 2007). Pola sitokin serta sinyal transduksi yang abnormal mungkin juga berperan penting dalam patogenesis LES (Cervera *et al*, 2009).

2.4.2 Manifestasi Klinis LES

Keluhan utama dan yang muncul pertama kali adalah athralgia (pegal dan linu di dalam sendi), selain itu juga arthritis nonerosif pada dua atau lebih sendi perifer. Lokasi arthritis akut biasanya terjadi di sendi tangan, pergelangan tangan, dan lutut, serta biasanya simetris. Arthritis dapat berpindah-pindah atau tetap di satu sendi dan jadi menahun. Pasien mengeluh lesu, lemas, capai sehingga menghalangi aktivitas. Demam, pegal linu seluruh tubuh, nyeri otot, dan penurunan berat badan. Terdapat bercak malar menyerupai kupu-kupu di muka dan eritema umum yang menonjol. Kulit yang terkena sinar matahari menunjukkan kelainan subakut yang bersifat rekuren, berupa bercak menonjol, kemerahan, dan menahun. Kelainan kulit bercak diskoid dan kebotakan di kepala (Mansjoer *dkk.*, 2001). Manifestasi klinis penderita LES sangat heterogen antara lain *skin rash*, fotosensitivitas, *oral ulcers*, arthritis, serositis (pleuritis atau perikarditis), glomerulonefritis, gejala neurologis (misalnya kejang), anemia hemolitik, leukopenia, dan trombositopenia (Crispin *et al.*, 2010). Pada penyakit yang sudah lanjut dan berbulan-bulan sampai tahunan akan menunjukkan manifestasi klinis yang lebih spesifik dan lengkap serta cenderung melibatkan

multiorgan. Manifestasinya bisa ringan sampai berat sehingga dapat mengancam jiwa (Yuriawantini *et al*, 2007). Evaluasi aktivitas penyakit LES dapat dilakukan dengan menggunakan indeks MEX SLEDAI (Kasjmir *et al.*, 2011).

2.4.3 Diagnosis LES

Perjalanan penyakit LES yang ditandai dengan eksaserbasi akut dan remisi, memerlukan pemantauan yang ketat akan aktivitas penyakitnya. Evaluasi aktivitas penyakit ini berguna sebagai panduan dalam pemberian terapi. Ada beberapa metode untuk menilai derajat aktivitas penyakit, antara lain SLEDAI (*SLE Disease Activity Index*) atau MEX-SLEDAI.

Diagnosis LES ditegakkan berdasarkan gambaran klinik dan laboratorium. *American College of Rheumatology* (ACR) revisi tahun 1997, mengajukan 11 kriteria untuk klasifikasi LES, dimana bila didapatkan 4 kriteria saja maka diagnosis LES sudah dapat ditegakkan (lihat Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Kriteria Diagnosis LES dari *American College of Rheumatology*, modifikasi 1997

Kriteria	Definisi
Ruam malar	Ruam pada pipi dan hidung, kadang berbentuk seperti kupu-kupu
Ruam diskoid	Ruam yang tampak kemerahan, meninggi, <i>disk-shaped patches</i>
Fotosensitivitas	Ruam pada kulit akibat reaksi terhadap sinar matahari
Ulkus di mulut	Sariawan di mulut atau nasofaring, biasanya tidak nyeri

Arthritis	Nyeri dan bengkak pada dua atau lebih dari sendi
Serositis	Inflamasi pada selaput paru-paru (pleuritis) atau inflamasi pada selaput jantung yang menyebabkan nyeri dada yang semakin berat saat inspirasi (perikarditis) yang terekam oleh EKG atau ada efusi perikardial
Gangguan pada ginjal	Proteinuria persisten persisten > 0,5 gram/hari atau <i>celluler casts</i> pada urin
Gangguan neurologis	Kejang atau psikosis
Gangguan hematologi	Anemia hemolitik (dengan retikulositosis), leukopenia (<4000/mm ³), limfopenia (<1500/mm ³), atau trombositopenia (<100.000/mm ³)
Gangguan imunologis	Anti-double-strand DNA, anti-Sm, antifosfolipid positif Tes serologi syphilis positif palsu
Antibodi antinuklear abnormal	Tes ANA positif
Empat dari 11 kriteria harus dipenuhi untuk diagnosis LES	

(Cervera *et al*, 2009; Tsokos, 2011)

Bila dijumpai 4 atau lebih kriteria di atas maka diagnose LES memiliki sensitifitas 85% dan spesifitas 95%. Bila hanya 3 kriteria dan salah satunya ANA(+) maka sangat mungkin LES dan diagnosa bergantung pada pengamatan klinis. Bila ANA(-) maka kemungkinan bukan LES. Apabila hanya tes ANA (+) dan manifestasi klinis lain tidak ada maka belum tentu LES serta diperlukan observasi jangka panjang.

Penyakit LES yang berat dapat mengancam jiwa apabila didapatkan kondisi berikut :

- a. Jantung : endokarditis, vaskulitis arteri koroner, miokarditis, tamponade jantung, hipertensi maligna
- b. Paru-paru : hipertensi pulmonal, perdarahan paru, pneumonitis, emboli paru
- c. Gastrointestinal : pankreatitis, vaskulitis mesenterika
- d. Ginjal : nefritis proliferatif dan atau membraneus
- e. Kulit : vaskulitis berat, ruam difus disertai ulkus atau blister
- f. Neurologi : kejang, *acut confusional state*, koma, stroke, mielopati transversa
- g. Hematologi : anemia hemolitik, neutropenia, trombositopenia, purpura trombotik trombositopenia, trombosis vena atau arteri.

2.5 Neutrophile Extracellular Traps (NETs)

2.5.1 Definisi NETs

Neutrophile extracellular traps (NETs) adalah ikatan antara kromatin dengan protein granular dan protein tertentu pada sitoplasma yang membentuk jaring dan berfungsi menangkap patogen. NETs dikeluarkan oleh sel darah putih bernama neutrofil. Jaring-jaring ini kemungkinan merupakan pertahanan terakhir untuk mengontrol infeksi mikroba. Pengeluaran kromatin ini menghasilkan kematian sel yang unik yang bernama NETosis (Brinkmann *et al*, 2012).

Neutrofil sebagai penghasil NETs merupakan suatu bentuk diferensiasi akhir dari sel darah putih golongan polimorfonuklear yang memiliki masa hidup singkat pada peredaran darah. Sel ini akan aktif jika ada rangsangan kemotaktik yang diproduksi pada daerah infeksi. Selain melakukan fungsinya sebagai

fagositosis yang mengeliminasi patogen pada fagosom, neutrofil juga terbukti mampu mengeluarkan NETs pada jaringan ekstraseluler (Brinkmann *et al.*, 2004).

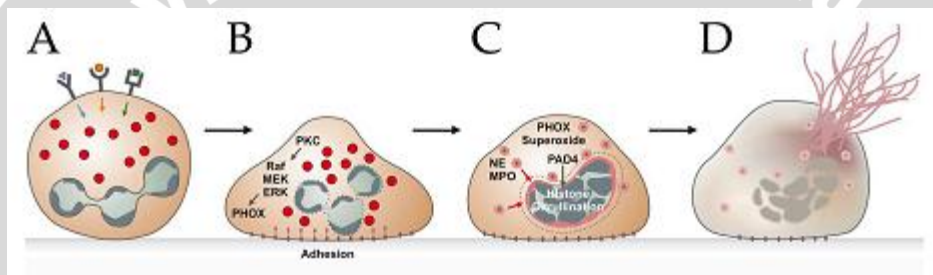
Proses "*trapping*" ini dapat mencegah penyebaran patogen dari lokasi infeksi awal dan inaktivasi factor virulen. Neutrofil elastase (NE) pada NETs mampu merusak faktor virulen dari *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, dan *Yersinia enterocolitica* (Weinrauch *et al.*, 2002; Brinkmann *et al.*, 2004). NETs juga mengandung cathepsin G dan proteinase 3 yang mampu merusak faktor virulen dari berbagai patogen (Averhoff *et al.*, 2008). Selain itu, NETs mengandung beberapa protein yang mampu membunuh maupun menghambat mikroba yang terdiri dari enzim (lisozim, protease), peptide antimikroba (*Bactericidal Permeability-Increasing Protein / BPI*, defensins), *ion chelators* (calgranulin), dan yang menarik adalah dengan adanya histon. Aktivitas antimikroba dari NETs secara keseluruhan merupakan kombinasi dari berbagai komponen tersebut.

Secara ultrastruktur, NETs terdiri dari filamen halus dengan diameter 17 nm yang tersusun rapat dan kemungkinan dimodifikasi dengan nukleosom (Brinkmann *et al.*, 2004). Struktur kerangka ini memiliki domain globular dengan diameter 50 nm yang dibentuk oleh protein granular. Pada mikroskop elektron, NETs terlihat seperti awan dan dapat menempati ruang 10–15 kali lebih besar dari sel yang memproduksinya (Urban *et al.*, 2009).

2.5.2 Mekanisme Pembentukan NETs

Untuk melepaskan NETs, neutrofil aktif harus mengalami beberapa tahapan perubahan morfologis. Pada menit-menit awal, neutrofil memipih dan menempel pada substratum. Pada beberapa jam kemudian, nucleus kehilangan bentuk lobusnya, kromatin mengalami dekonsentrasi, dan dua lapisan

membran nucleus secara progresif saling melepaskan diri. Secara bersamaan granula neutrofil mengalami disintegrasi. Setelah satu jam, membran nukleus mengalami disagregasi membentuk vesikel, nukleoplasma dan sitoplasma bersatu menjadi masa yang homogen. Pada tahap akhir, neutrofil membulat dan mengalami kontraksi hingga membran sel pecah dan kandungan dalam neutrofil dikeluarkan pada ruang ekstraseluler membentuk NETs seperti pada gambar 2 (Brinkmann *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Proses pembentukan NETs (Brinkmann *et al.*, 2012).

Terbentuknya NETs oleh neutrofil dapat terjadi karena adanya infeksi bakteri, jamur, dan virus (Fuchs *et al.*, 2007). Pembentukan NET juga dapat dipicu oleh hidrogen peroksida seperti ROS, antibodi, kompleks antibodi antigen (Garcia-Romo *et al.*, 2011; Lande *et al.*, 2011), dan komponen mikroba seperti lipopolisakarida atau lipofosfoglikan (Guimarães -Costa *et al.*, 2009).

Induksi dari berbagai pencetus tersebut pada akhirnya akan menyediakan substrat untuk MPO (Myeloperoksidase) yang bersama dengan NE dari granula azurofilik dapat mempengaruhi segregasi antara eukromatin dan heterokromatin pada proses pembentukan NETs. Neutrofil elastase (NE) yang dilepaskan akan memasuki nukleus dan akan mendegradasi histon H1 dan mengolah *core histones*. MPO juga bermigrasi ke nukleus lebih lambat daripada

NE dan mempercepat decondensasi dari kromatin sebagai bahan dari pembentukan NETs (Papayannopoulos *et al.*, 2010).

2.5.3 Hubungan NETs dalam Patogenesis LES

Pada pasien LES terutama pasien wanita sering ditemukan antibodi terhadap DNA, histon, dan protein neutrofil yang merupakan komponen dari NETs. Neutrofil dari pasien LES memiliki kemampuan lebih dalam memproduksi NETs terutama sebagai respon terhadap kompleks antibodi (Lande *et al.*, 2011; Garcia-Romo *et al.*, 2011). Pada PBMC pasien LES, ditemukan jenis neutrofil yang abnormal yang disebut *low-density granulocytes* (LDGs). LDGs memiliki kemampuan yang tinggi untuk mensintesis *neutrophil extracellular traps* (NETs), yang mampu mengeluarkan substansi bakterisidal protein imunostimulasi, dan autoantigen seperti LL-37, IL-17, dan dsDNA (Villaneuva *et al.*, 2011).

Sebagai bukti lain bahwa NETs berperan pada patogenesis LES, terdapat hubungan yang kuat antara mutasi DNase1 (Yasutomo *et al.*, 2001) atau DNase1-like 3 (Al-Mayouf *et al.*, 2011) yang merupakan enzim pendegradasi NETs. Selain itu pada studi kohort di Eropa, menurunnya degradasi NETs pada oleh karena DNase1 inhibitors atau titer tinggi dari antibodi anti-NET dapat ditemukan pada subpopulasi LES (Hakim *et al.*, 2010). Kegagalan dalam degradasi NETs ini juga dapat meningkatkan aktivasi komplemen dan deposisi dari protein komplemen C1q yang dapat menghambat DNase1 (Leffler *et al.*, 2012).

Selain efek yang sudah dijelaskan, neutrofil dapat mengeluarkan IL-17 melalui proses NETosis pada kulit dan darah perifer dari pasien psoriasis (Lande *et al.*, 2011). IL-17 ini dapat berperan pada patogenesis LES melalui kapasitasnya dalam mengamplifikasi inflamasi lokal dengan meningkatkan

rekrutmen sel-sel imunitas alami dan stimulasi respon adaptif sel B. IL-17A terbukti terdeteksi pada level mRNA pada LDGs dan neutrofil normal. Hal ini menguatkan bahwa pembentukan NETs memiliki hubungan yang kuat dengan patogenesis LES melalui berbagai efeknya (Villanueva *et al.*, 2011).

2.6 MPO-DNA

NETs mengandung beberapa protein granule neutrofil yang bersifat anti mikrobial, salah satunya adalah MPO. Neutrofil pasien yang defisien myeloperoxidase (MPO) secara total, tidak dapat membentuk NETs meskipun terpapar dengan PMA. MPO esensial pada pembentukan NETs (Kirchner *et al.*, 2012).

Pengeluaran (*externalization*) dari MPO-DNA terbukti merupakan salah satu cara mengukur NETs. MPO-DNA meningkat tinggi setelah pemberian PMA pada neutrofil orang normal. MPO-DNA dapat diukur menggunakan metode Elisa selain dengan imunofluoresense (Caudrillier *et al.*, 2012).

2.7 Antibodi Anti dsDNA

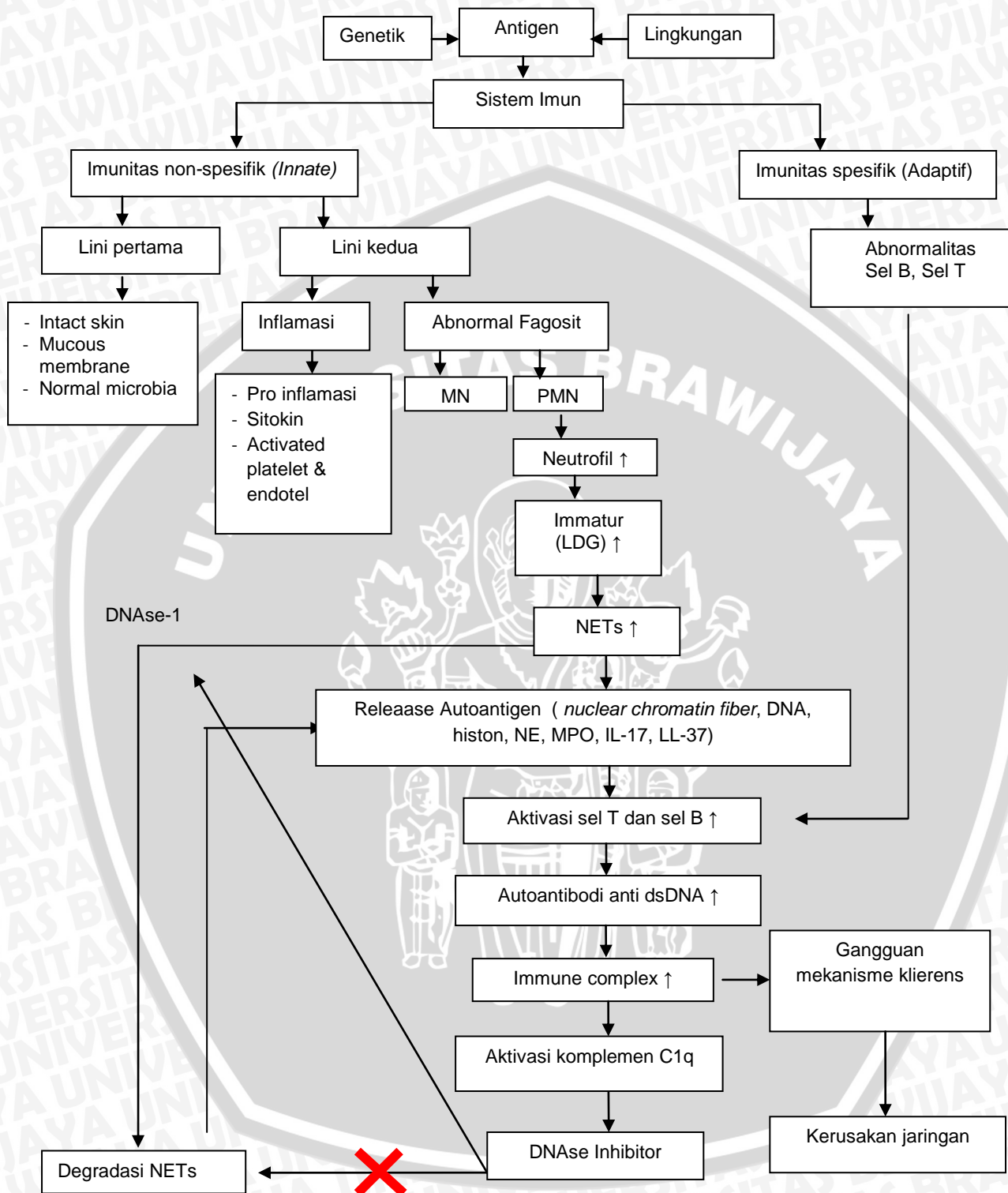
Antibodi anti dsDNA memainkan peranan pada patogenesis penyakit LES terutama pada kerusakan ginjal. Autoantibodi terhadap dsDNA menjadi marker serologis penting untuk diagnosis LES. Titer antibodi ini dapat berfluktuasi dan berhubungan dengan aktivitas penyakit (Riboldi *et al.*, 2005). Antibodi anti dsDNA merupakan biomarker spesifik untuk LES, jarang didapatkan pada penyakit lain dan spesifitasnya hampir 100%. Titer anti dsDNA yang tinggi hampir pasti menunjukkan diagnosis LES dibandingkan dengan titer yang rendah. Jika titernya sangat rendah mungkin dapat terjadi pada pasien yang bukan LES. Pada

kondisi klinik adanya anti dsDNA positif menunjang diagnosis LES sementara bila anti dsDNA negatif tidak menyingkirkan adanya LES (Kasjmir *et al.*, 2011).

Antibodi terhadap DNA (Anti dsDNA) dapat digolongkan dalam antibodi yang reaktif terhadap DNA natif (*double stranded-DNA*). Anti dsDNA positif dengan kadar yang tinggi dijumpai pada 73% LES dan mempunyai arti diagnostik dan prognostik. Kadar anti dsDNA yang rendah ditemukan pada sindrom sjogrens, arthritis rheumatoid. Pada LES, anti dsDNA mempunyai korelasi yang kuat dengan nefritis lupus dan aktifitas penyakit LES. Pemeriksaan anti ds-DNA dilakukan dengan metode radioimmunoassay, ELISA dan C luciliae immunofluoresens (Utomo, 2012).

Secara skematis, konsep teori pada penelitian ini ditunjukkan pada gambar berikut.





Gambar 2.4 Hubungan NETs dan autoantibodi dalam sistem imun tubuh terhadap patogenesis penyakit autoimun.