

## METODE HLIT [SHLA-G (SOLUBLE HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-G) DAN LILRB1 (LEUKOCYTE IMMUNOGLOBULIN-LIKE RECEPTOR B1) IMMUNOLOGY TEST] SEBAGAI TEROBOSAN TERBARU DIAGNOSIS DINI PREEKLAMPSIA\*

I Gusti Ayu Agung Pritha Dewi, Putu Austin Widyasari Wijaya, Ni Made Putri Suastari

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar

Korespondensi: [ayuagungprithadewi@yahoo.co.id](mailto:ayuagungprithadewi@yahoo.co.id)

### ABSTRAK

Preeklampsia merupakan penyakit pada kehamilan yang memiliki angka morbiditas dan mortalitas cukup tinggi bagi ibu dan anak. Diperkirakan angka kematian ibu akibat preeklampsia adalah sebesar 23%. Terjadinya preeklampsia sering tidak disadari wanita hamil dan bahkan sudah berkembang menjadi komplikasi sehingga diperlukan metode diagnosis dini terbaru. Patogenesis preeklampsia yang sangat penting adalah maladaptasi imun ibu terhadap fetus yang diperankan oleh HLA-G. sHLA-G dihasilkan oleh sel trofoblas dan beredar bersama peredaran darah ibu pada usia perkembangan plasenta dimulai (4 minggu). sHLA-G yang berikatan dengan reseptor pada sel imun pada desidua akan menghambat lisis oleh sel NK dan sitotoksik oleh sel T sehingga fetus tidak akan diserang oleh sistem imun ibu. Reseptor yang dominan pada sel-sel ini adalah LILRB1. Metode HLIT melakukan pemeriksaan terhadap sHLA-G pada serum ibu dengan mendeteksi ikatan antara reseptor LILRB1 pada monosit perifer dengan sHLA-G pada serum ibu dengan teknik ELISA *Direct*. Metode HLIT memiliki berbagai kelebihan dan keuntungan sehingga memiliki prospek yang cerah di masa depan.

**Kata kunci:** diagnosis dini, LILRB1, maladaptasi imun, preeklampsia, sHLA-G

### ABSTRACT

Preeclampsia is a disease of pregnancy which has high enough morbidity and mortality for mother and children. It is estimated maternal mortality is due to preeclampsia by 23%. Preeclampsia happens is often don't know by pregnant women and has developed into complications so that required methods for new early diagnosis. The important pathogenesis of preeclampsia is maladaptasi maternal immune to the fetus, where its played by HLA-G. sHLA-G produced by trophoblas cells and circulate in mothers blood at the begin development of the placenta (4 weeks). sHLA-G binds to receptors on immune cells in the decidua will inhibit lysis by NK cells and cytotoxic by T-cell so that the fetus will not be attacked by the mother's immune system. Dominant receptor in these cells is LILRB1. HLIT methods do an examination of sHLA-G in maternal serum to detect the binding between LILRB1 receptor on peripheral monocytes with sHLA-G in maternal serum using Direct ELISA technique. HLIT method has many advantages therefore this method has good prospects in the future.

**Keywords:** early diagnosis, immune maladaptation, LILRB1, preeclampsia, sHLA-G

\*Dipresentasikan pada Final LKIM Gamamed Fair Universitas Gajah Mada Yogyakarta 2013

### PENDAHULUAN

Angka Kematian Ibu (AKI) merupakan salah satu indikator kesehatan suatu bangsa yang akan berpengaruh secara langsung terhadap keberhasilan pembangunan kesehatan. Salah satu penyakit saat kehamilan yang dapat berkontribusi dalam peningkatan AKI adalah preeklampsia. Di negara barat, angka prevalensi preeklampsia sebesar 3-7% dan merupakan penyebab utama morbiditas

dan mortalitas masa kehamilan di dunia. Secara keseluruhan, 10-15% kematian ibu dihubungkan secara langsung dengan preeklampsia.<sup>(1)</sup> Di Indonesia tahun 2010 diperkirakan angka kematian ibu akibat preeklampsia adalah sebesar 23%.<sup>(2)</sup>

Preeklampsia merupakan suatu sindrom spesifik kehamilan yang penyebabnya tidak diketahui secara pasti.<sup>(3)</sup> Terdapat beberapa faktor risiko yang berhubungan dengan munculnya preeklampsia, dimana sebanyak 3-

7% berhubungan dengan nulipara dan 1-3% berhubungan dengan multipara. Selain itu nulipara dengan pasangan baru memiliki risiko yang penting dalam terjadinya preeklampsia. Faktor risiko lainnya antara lain riwayat hipertensi kronis, penyakit

ginjal, diabetes mellitus, obesitas, lahir di Afrika, berusia  $\geq 35$  tahun, dan karakteristik kehamilan, seperti kehamilan kembar atau besar, riwayat preeklampsia, atau kelainan kongenital janin. Tempat tinggal yang berada di daerah ketinggian juga meningkatkan insiden preeklampsia yang disebabkan karena hipoksia plasenta yang berat, diameter arteri uterus yang kecil, dan aliran darah arteri uterus yang lambat.<sup>(1)</sup>

Preeklampsia sering tidak diketahui atau diperhatikan terjadinya saat kehamilan sehingga dalam waktu singkat telah menunjukkan terjadinya komplikasi. Preeklampsia dapat mengancam jiwa ibu dan anak sehingga meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas keduanya. Pada ibu, preeklampsia dapat menyebabkan penyakit kardiovaskuler prematur, seperti hipertensi kronis, iskemia, penyakit jantung, dan stroke. Pada anak yang lahir setelah kehamilan preeklampsia akan terjadi kelahiran prematur dengan berat badan rendah, peningkatan risiko stroke, penyakit jantung koroner, dan sindrom metabolik ketika dewasa.<sup>(1)</sup>

Selama ini berbagai metode dalam diagnosis dini telah dikembangkan untuk membantu para penderita preeklampsia untuk mencegah progresivitas dari preeklampsia ini sehingga dapat menurunkan berbagai risiko penyakit akibat preeklampsia. Namun hingga

saat ini belum ditemukan suatu metode diagnosis dini yang ideal bagi penderita preeklampsia atau dengan kata lain belum ada metode diagnosis yang mampu mendeteksi preeklampsia sejak dini. Terdapat beberapa metode diagnosis preeklampsia yang memiliki keterbatasan dalam mendiagnosis secara dini. Pemeriksaan baku emas yang selama ini digunakan adalah pemeriksaan tekanan darah dan proteinuria. Keterbatasan penggunaan metode tersebut adalah tanda preeklampsia yakni hipertensi dan proteinuria baru dapat didiagnosis pada kehamilan diatas 20 minggu. Hal ini dapat menyebabkan keterlambatan dalam penanganan preeklampsia sejak dini dan bahkan telah berlanjut menjadi eklampsia serta komplikasi lain.<sup>(3)</sup>

*Soluble Human Leukocyte Antigen G* (sHLA-G) merupakan molekul yang diekspresikan oleh sel trofoblas pada saat kehamilan. sHLA-G berfungsi untuk melindungi fetus dari serangan sistem imun ibu. sHLA-G akan berikatan dengan reseptor dari sel imun yang terdapat di desidua yaitu sel B, sel T, sel NK (*Natural Killer*) dan APC (*Antigen Presenting Cell*). Reseptor yang paling dominan pada sel-sel tersebut adalah *Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor B1* (LILRB1) yang terdapat pada semua sel leukosit dan APC di desidua ibu. Ketika HLA-G berikatan dengan reseptor ini akan terjadi toleransi terhadap keberadaan fetus, dimana ikatan ini akan menghambat lisis oleh sel NK dan sitotoksik oleh CTL (*Cytotoxic T Lymphocyte*). Peranan sHLA-G dalam patogenesis preeklampsia sudah terbukti, dimana sHLA-G akan melindungi fetus agar tidak terjadi maladaptasi imunitas yang

merupakan patogenesis utama dari preeklampsia. Tidak terjadinya maladaptasi imunitas mengakibatkan vaskularisasi tumbuh dengan baik sehingga tidak menimbulkan kecacatan vaskuler yang mengakibatkan preeklampsia.<sup>(7)</sup>

Dengan pemeriksaan HLA-G dan LILRB1 dengan metode HLIT memberikan sebuah terobosan baru dalam mendiagnosis dini preeklampsia sehingga preeklampsia dapat dideteksi sebelum adanya gejala pada wanita hamil yang berisiko. Selain itu pemeriksaan HLA-G dan LILRB1 dengan mengambil serum ibu memberikan cara diagnosis yang mudah dan efektif serta tidak terlalu invasif. Berdasarkan paparan tersebut diharapkan bahwa metode HLIT dapat berperan dalam diagnosis dini preeklampsia sehingga dapat dilakukan terapi lebih awal serta mencegah berbagai komplikasi.<sup>(7)</sup>

Adapun permasalahan yang dikaji dalam karya tulis ini meliputi peranan sHLA-G sebagai pertahanan fetus terhadap sistem imun ibu pada kehamilan dan ikatannya terhadap reseptor LILRB1, peranan sHLA-G dalam patogenesis preeklampsia, aplikasi dan analisis manfaat dari metode HLIT sebagai metode diagnosis dini preeklampsia. Karya tulis ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran kepada kalangan medis dan masyarakat mengenai HLIT dan potensinya sebagai metode diagnosis dini preeklampsia, memperkaya khasanah medis Indonesia terutama tentang upaya diagnosis dini preeklampsia dengan memanfaatkan pemeriksaan imunologi seperti pemeriksaan sHLA-G dan LILRB1 yang ekspresikan melalui serum maternal, dan memberikan alternatif

diagnosis yang dapat mendeteksi preeklampsia lebih awal sehingga dapat dilakukan penanganan lebih cepat dan tidak timbul komplikasi.

## **ANALISIS DAN SINTESIS**

### **Peranan sHLA-G sebagai Pertahanan Fetus Terhadap Sistem Imun Ibu pada Kehamilan dan Ikatannya Terhadap Reseptor LILRB1**

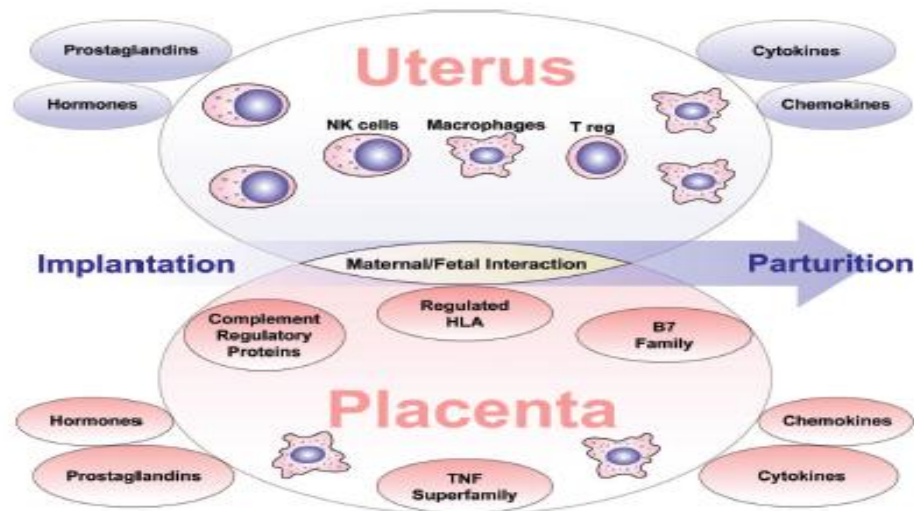
Selama kehamilan, sistem imun ibu aktif dan pada beberapa kondisi bisa mengakibatkan kerusakan atau kematian pada fetus. Seperti yang terjadi pada eritroblastosis yaitu terjadi destruksi pada eritrosit fetus dan pada alloimmun trombositopenia yaitu terjadinya destruksi pada platelet oleh antibodi ibu. Ketika terjadi infeksi saat kehamilan, makrofag yang aktif akan mensekresikan sitokin *T Helper 1* (Th1) berkadar tinggi yang merubah keseimbangan sitokin ibu dan fetus. Namun hal tersebut tidak terjadi karena terdapat beberapa mekanisme yang melindungi fetus dari serangan sistem imun ibu seperti terpisahnya jaringan ibu dan fetus, kurangnya antigen fetus yang bisa menstimulasi penolakan dari ibu dan berkembangnya toleransi imun. Sistem imun ibu biasanya lebih cenderung melakukan toleransi dari pada menolak keberadaan fetus.<sup>(8)</sup>

Pada saat kehamilan, secara normal ibu akan membentuk antibodi dan CTL terhadap HLA asing dari ayah dan antigen lain yang diekspresikan oleh sel fetus. Sehingga antigen HLA disebut antigen "transplantasi" karena terdiri dari stimulator sangat kuat dari *graft rejection*. Namun antibodi antipaternal ini

bersifat tidak merusak. melainkan cenderung bersifat tolerogenik dari pada imunogenik.<sup>(8)</sup>

Setelah implantasi, di dalam uterus terjadi perubahan pada subpopulasi leukosit endometrium (desidua). Endometrium akan mengalami penyesuaian terhadap proteksi lokal yang diperantarai oleh sistem imun awal (*innate immun system*). Limfosit T dan B

memiliki peran utama dalam imunitas yang diadaptasi. Sel ini terutama ditemukan di distal myometrium jaringan fetus, dimana sel sistem imun bawaan seperti sel NK dan makrofag dominan terdapat di desidua. Hormon imunomodulator seperti prolaktin, chorionic gonadotropin dan progesteron serta kemokin mengontrol jumlah dan jenis sel imun.<sup>(8)</sup>



**Gambar 1.** Mekanisme Multipel Toleransi Ibu Terhadap Fetus<sup>(8)</sup>

Fetus juga akan melakukan proteksi terhadap dirinya dari serangan imun ibu yang diperantarai oleh sel trofoblas. Sel ini berasal dari sel progenitor dalam lapisan trophoblast blastosit. Sel progenitor ini akan bergabung membentuk lapisan sel tunggal yang berhubungan langsung dengan darah ibu atau berproliferasi untuk membentuk sel sitotrofoblas extravillous yang kontak dan menginfiltrasi desidua serta berhubungan dengan leukosit uterus ibu pada awal kehamilan. Leukosit ini terdiri dari sel NK, sel myelomonositik dan beberapa sel T. Sel sitotrofoblas extravillous bermigrasi dari plasenta ke desidua dan menginfiltrasi arteri spiralis ibu yang memfasilitasi aliran darah ke

plasenta. Sel ini sangat proliferasif pada awal kehamilan.<sup>(7,8,9)</sup>

Sel trofoblas mencegah kerusakan yang diperantarai antibodi dengan meningkatkan kadar *complement regulatory protein* dan mengurangi *cell mediated immunity* dengan mengekspresikan inhibitor *B7 family* dan *TNF (Tumor Necrosis Factor)* yang menginduksi apoptosis; sitokin immunosupresif; kemokin dan prostaglandin yang mengurangi proliferasi limfosit T; mengeluarkan hormon immunosupresif seperti progesteron; meregulasi ketat ekspresi gen HLA dan produksi proteinnya. Jika protein ini dikenali sebagai benda asing oleh sel imun ibu akan menstimulasi CTL anti-fetal untuk

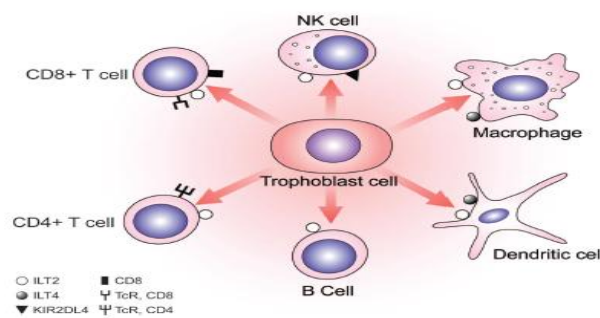
menghancurkan sel fetus yang mengekspresikan HLA.<sup>(8)</sup>

HLA yang paling berperan dalam respon imun ibu terhadap fetus adalah HLA-G. HLA-G bisa menghambat migrasi transendothelial sel NK dan bisa menghambat sitolisis yang diperantari oleh sel NK dan *antigen-specific* CD8<sup>+</sup>T cell. Ikatan HLA-G sel trofoblas pada reseptor akan menghambat aktivasi sinyal dari leukosit desidua. HLA-G dikenali oleh reseptor ILT (*Immunoglobulin-Like Transcript*) yang diekspresikan oleh limfosit T dan B, serta sel NK dan sel fagosit mononuklear. Beberapa penelitian menunjukkan ILT4 pada monosit/makrofag merupakan reseptor utama HLA-G, dimana monosit/makrofag merupakan sel kedua terbanyak dalam desidua. ILT2 dan ILT4 selanjutnya disebut sebagai LILRB1 dan B2.<sup>(8,10,11)</sup>

Reseptor HLA-G pada sel NK dan sel myelomonositik bisa diperoleh dari darah perifer. Reseptor sel NK adalah KIR2DL4

(*Killer Immunoglobulin-Like Receptor 2 DL4*) yang merupakan keluarga dari KIR. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa fungsi primer dari HLA-G bukan presentasi antigen tapi sebagai ligan inhibitori untuk sel NK. Sel dendritik dan makrofag mengekspresikan reseptor inhibitori dari LILR yaitu LILRB1 dan LILRB2. LILRB1 dan B2 sebagian besar berikatan dengan molekul HLA-I (*Human Leukocyte Antigen Class I*) dan HLA-G memiliki afinitas paling tinggi.<sup>(9)</sup>

LILRB1 dideteksi pada beberapa APC antara lain pada semua sel dendritik dan makrofag, 20% pada sel NK dan 10% pada sel T. Sedangkan LILRB2 diekspresikan dalam jumlah yang kecil pada sel dendritik dan makrofag. Interaksi antara APC dan HLA-G ini mengakibatkan *down-regulation* pada proliferasi dan respon sel T allogenik. Di perifer, LILRB1 juga diekspresikan oleh limfosit T dan B perifer dan oleh sel NK dan monosit.<sup>9,10</sup>



**Gambar 2.** Reseptor Potensial pada Sel Imun yang Ditarget oleh HLA-G<sup>(8)</sup>

a. Interaksi HLA-G dengan Limfosit T

Sanders *et al.* menyebutkan bahwa sel yang mengekspresikan HLA-G akan berikatan dengan sel yang mengekspresikan CD8 $\alpha$  homodimer yang merupakan bentuk molekular yang diekspresikan oleh subset sel T di dalam

usus dan oleh sel NK. Sel T mengekspresikan CD8 $\alpha\beta$  heterodimer yang berperan sebagai ko-reseptor untuk sel T (TcR) dan merupakan molekul transduksi sinyal yang sangat penting selama aktivasi sel T. Berikatan dengan TcR merupakan fungsi primer dari HLA-G.<sup>(8)</sup>

sHLA-G memegang peranan penting dalam meregulasi sel T CD8<sup>+</sup> selama kehamilan dengan mengeliminasi sel T alloreaktif (antipaternal). sHLA-G yang terpapar sel T CD8<sup>+</sup> akan memicu ekspresi dan sekresi Fas ligan yang mengakibatkan kematian dari sel T yang aktif melalui jalur Fas/Fas ligan. Pada kehamilan sHLA-G menginduksi apoptosis sel CD8<sup>+</sup> yang bereaksi dengan antigen paternal, dimana sHLA-G berada pada serum ibu.<sup>(8)</sup>

Mekanisme lain adalah HLA-G menginduksi toleransi ibu pada antigen fetus untuk mengurangi atau mencegah aktivitas sitotoksik sel T CD8<sup>+</sup> melawan sel target, yang tidak tergantung dari induksi apoptosis sel T. HLA-G1 dan HLA-G5 melindungi sel target potensial dari lisis sel T sitotoksik spesifik antigen. HLA-G juga menekan ekspresi mRNA (*messenger Ribonucleic Acid*) CD8 $\alpha$  dan protein IFN- $\gamma$  (*Interferon- $\gamma$* ) dalam sel mononuklear tanpa menginduksi apoptosis atau merubah ekspresi CD3. Semua mekanisme ini mengindikasikan bahwa trofoblas pada kehamilan normal tidak akan mendapatkan respon dari CTL karena adanya HLA-G.<sup>(8)</sup>

b. HLA-G berinteraksi dengan limfosit B

LILR merupakan reseptor utama pada limfosit T dan APC yang berikatan dengan HLA-G. Reseptor ini juga terdapat di limfosit B khususnya LILRB1 yang juga berikatan dengan HLA-G karena pada ibu hamil terjadi pembentukan antibodi terhadap HLA-G plasenta. Selain itu pada beberapa penelitian juga membuktikan bahwa pada wanita yang tidak pernah hamil dan laki-laki, memiliki sedikit antibodi anti-HLA-G pada serumnya. Antibodi ini banyak ditemukan disirkulasi saat

kehamilan dan bersifat tidak merusak perkembangan fetus. Terdapat dua mekanisme yang bisa menjelaskan toleransi sistem imun ibu terhadap fetus yaitu aktivasi reseptor LILRB1 pada sel B oleh sHLA-G yaitu HLA-G5 dan HLA-G6 serta aktivasi reseptor LILRB1 pada limfosit Th.<sup>(8)</sup>

c. Interaksi HLA-G dengan sel NK

Sel NK banyak ditemukan di desidua pada trimester pertama dan kedua kehamilan tapi setelah itu akan terjadi penurunan. Sitotoksitas sel NK desidua dipengaruhi oleh antigen HLA kelas I dan reseptor inhibisi pada permukaan sel NK. Interaksi antara HLA-G dan CD94/NKG2A heterodimer pada permukaan sel NK mencegah sitolisis yang diinduksi sel NK. Selain itu terdapat reseptor yang dimiliki sel NK yang dapat berikatan dengan HLA-G yaitu KIR2DL4 dan LILRB1. Mekanisme lain dari HLA-G yang bisa menghambat aktivitas sitolitik sel NK adalah adanya sel trofoblas primer dan imortal yang resisten pada lisis yang diperantarai sel NK.<sup>(8)</sup>

d. Interaksi HLA-G dengan APC

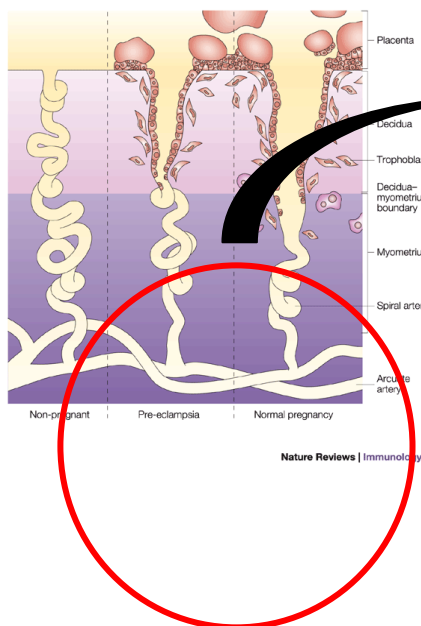
Terdapat dua populasi APC pada desidua endometrium selama kehamilan yaitu makrofag dan sel dendritik yang kemudian dibagi menjadi 3 yaitu makrofag (CD14<sup>+</sup>), sel dendritik *mature* (CD83<sup>+</sup>) dan makrofag atau sel dendritik *immature*. Respon imun yang melibatkan APC berhubungan dengan HLA-G plasenta. Tetramer HLA-G hanya berikatan dengan sel dendritik. HLA-G tidak mengurangi viabilitas sel dendritik *mature* dan *immature* tapi merubah diferensiasi sel dendritik dari monosit darah atau mempengaruhi maturasi sel dendritik. Kondisi inflamasi menstimulasi produksi makrofag dari HLA-G karena terjadi

aktivasi IFN- $\gamma$  yaitu fagosit mononuklear yang mengandung mRNA HLA-G.<sup>(8)</sup>

### Peranan sHLA-G dalam Patogenesis Preeklampsia

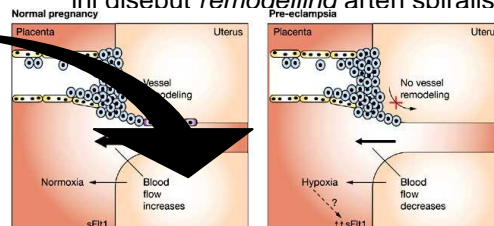
Preeklampsia merupakan salah satu komplikasi dalam kehamilan yang memiliki karakteristik berkurangnya invasi trofoblas ke desidua, disfungsi sel endothel kapiler yang mengakibatkan buruknya perfusi plasenta. Patofisiologi yang mendasari proses preeklampsia adalah sangat rumit, bersifat multifaktorial. Namun yang paling memegang peranan penting dari patofisiologi preeklampsia adalah adanya maladaptasi imunitas karena berkurangnya kadar HLA-G yang melindungi trofoblas dari serangan imun ibu. Maladaptasi imun akan mengakibatkan gagalnya invasi trofoblas, hilangnya mekanisme tolerogenik, dan gagalnya *remodelling* dari arteri spiral ibu.<sup>(11)</sup>

HLA-G merupakan bagian dari mekanisme yang memungkinkan trofoblas untuk invasi tanpa diserang oleh limfosit dan sel NK desidua. Pada preeklampsia terjadi



HLA-G sehingga trofoblas diserang oleh sel NK dan CTL. Hal ini mengakibatkan invasi trofoblas menjadi dangkal dan *remodelling* arteri spiralis menjadi abnormal. Gangguan keseimbangan imun feto-maternal mengindikasikan adanya *graft rejection* pada kehamilan preeklampsia.<sup>(11)</sup>

Pada wanita normal, respon imunitas tidak akan menolak terhadap hasil konsepsi yang bersifat asing dalam tubuh. Hal ini disebabkan karena adanya HLA-G yang diekspresikan trofoblas janin untuk dapat melindungi dirinya dari penghancuran (lisis) oleh sel NK tubuh ibu. Disamping itu, HLA-G akan memudahkan invasi sel trofoblas ke jaringan desidua ibu. Invasi trofoblas ke dalam lapisan otot arteri spiralis menyebabkan degenerasi lapisan otot tersebut sehingga terjadi distensi dan vasodilatasi arteri spiralis yang memberikan dampak penurunan tekanan darah, penurunan resistensi vaskular, dan peningkatan aliran darah pada utero plasenta. Hal ini menyebabkan aliran darah ke janin cukup banyak dan perfusi jaringan juga meningkat sehingga mencukupi kebutuhan untuk pertumbuhan janin dengan baik. Proses ini disebut *remodelling* arteri spiralis.<sup>(11)</sup>



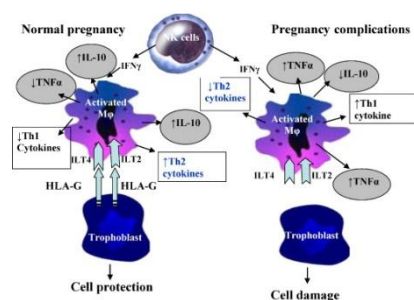
**Gambar 3.** Peran HLA-G dalam Patofisiologi Preeklampsia<sup>(11)</sup>

Pada ibu penderita preeklampsia, terjadi penurunan ekspresi HLA-G yang bersifat immunosupresif oleh trofoblas (Redman, et al, terjadinya interaksi antara trofoblas dengan sel T, sel B, sel NK dan APC yang diperantarai HLA-G dan reseptor inhibitor yang ada pada masing-masing sel, sehingga mengakibatkan gagalnya toleransi imun ibu terhadap fetus karena aktifnya respon sitotoksik dari CTL dan sel NK mengakibatkan lisisnya trofoblas. Hal inilah yang mengakibatkan terjadinya maladaptasi imunitas pada preeklampsia. Tidak adanya trofoblas yang menginvasi arteri spiralis ini berperan dalam kecacatan vaskularisasi plasenta sehingga arteri spiralis menjadi kaku dan lebih sempit.<sup>(9,11)</sup>

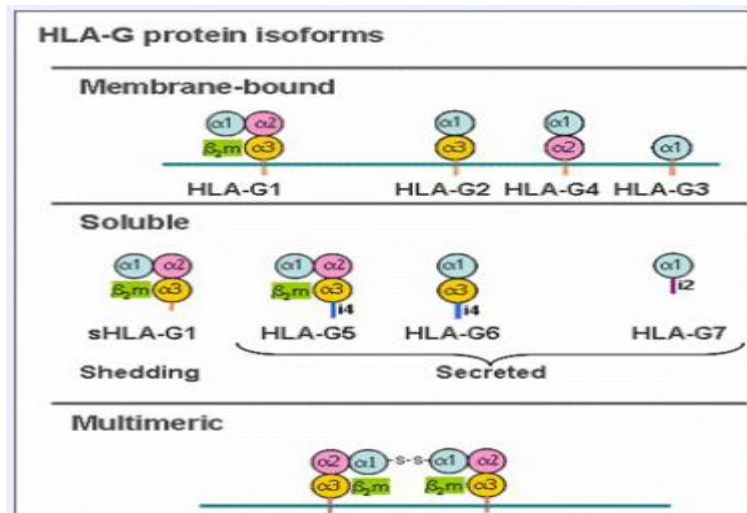
Hackmon *et al.* menemukan bahwa penurunan ekspresi HLA-G selama kehamilan akan memicu respon penolakan autoimun yang bermanifestasi pada perubahan kadar substansi inflamasi. Trofoblas yang tidak mengekspresikan HLA-G rentan mengalami lisis oleh sel NK desidua dan dicegah

2009). Hal ini juga akan menyebabkan terhambatnya invasi trofoblas ke dalam desidua. Tidak adanya HLA-G mengakibatkan tidak menginvasi lebih dalam ke desidua dan arteri spiralis.<sup>(11,12)</sup>

HLA-G memiliki 7 isoform yang telah diidentifikasi yaitu 4 merupakan *membrane bound* dan 3 merupakan *soluble protein*. HLA-G1 memiliki struktur yang sama dengan gen HLA kelas I lainnya, sedangkan isoform G2 dihasilkan dari penghilangan exon 3. Dua isoform diekspresikan sebagai *soluble protein* yaitu HLA-G5 (sG1) dan HLA-G6 (sG2). HLA-G3 dihasilkan dari penghilangan exon 3 dan 4, HLA-G4 dan G7 tidak banyak terdapat di plasenta. Dari ketujuh isoform ini diketahui bahwa HLA-G5 dan HLA-G6 merupakan isoform yang paling berperan dalam respon imun ibu terhadap fetus, dimana HLA-G5 dan HLA-G6 merupakan *soluble* HLA-G. sHLA-G ini bisa dideteksi di darah wanita hamil dan cairan amnion.<sup>(7,11,13)</sup>







**Gambar 4.** Tujuh Isoform dari HLA-G yang Berperan dalam Respon Imun<sup>(14)</sup>

Adanya sHLA-G menjadi parameter kehamilan akan berhasil tanpa adanya penolakan dari ibu. Pada regio sHLA-G tidak ada polimorfisme yang dideteksi sehingga tidak dianggap sebagai benda asing. sHLA-G disintesis oleh sel trofoblastik dan *interferon γ-activated macrophage* tapi tidak disintesis oleh fibroblast plasenta. sHLA-G bersirkulasi pada darah ibu selama kehamilan, dimana yang dominan adalah sHLA-G2 (HLA-G6). HLA-G banyak terdapat pada trimester pertama kehamilan yang akan menginduksi efek protektif melawan lisis dari sel NK.<sup>(7,13,15)</sup>

sHLA-G merupakan faktor yang memicu *alloreactive maternal T cell* berikatan dengan *paternal allopeptid* dan berinteraksi dengan sel T. Ikatan molekul sHLA kelas I dengan CD8 memicu ekspresi Fas ligan dan apoptosis dari sel imun yang aktif oleh interaksi Fas/Fas ligan dan mengakibatkan immunosupresi. Efek supresi yang kuat dari sHLA-G ada respon alloproliferatif dari sel T menunjukkan kadar yang lebih tinggi dari isoform sHLA-G5.<sup>(11)</sup>

**Aplikasi Penggunaan Metode HLIT (sHLA-G dan LILRB1 Immunology Test) sebagai Metode Diagnosis Dini Preeklampsia**

Upaya Dini dalam Mendiagnosis Preeklampsia

Pemeriksaan dengan menggunakan metode HLIT membuka peluang yang cukup besar dalam upaya dini pencegahan perkembangan menjadi preeklampsia pada wanita hamil yang beresiko. Metode HLIT yang terdiri dari pemeriksaan HLA-G dan LILRB1 ini dapat digunakan sebagai diagnosis awal sebelum terjadinya gejala preeklampsia (hipertensi dan proteinuria selama masa kehamilan pada usia kehamilan 20 minggu). Pada metode HLIT, pemeriksaan dapat dilakukan sedini mungkin yaitu pada usia kehamilan 4 minggu pada wanita hamil beresiko. Hal tersebut memiliki keuntungan dibandingkan dengan pemeriksaan standar yang umumnya dilakukan pada wanita hamil beresiko untuk mendiagnosis preeklampsia pada usia kehamilan 20 minggu.

Upaya dini yang dilakukan adalah dengan mengukur kadar HLA-G yaitu sejenis antigen yang dibentuk fetus untuk melindungi diri dari serangan imun ibu. Apabila diketahui kadar HLA-G pada serum ibu hamil di bawah normal (normalnya  $15,2 \pm 8,6$ ng/ml)  $13,4 \pm 10,1$ ng/ml, dapat dilakukan pencegahan

perburukan kondisi menjadi preeklampsia lebih awal,<sup>16,17</sup> sehingga gejala preeklampsia tidak muncul dan semakin parah menjadi eklampsia. Waktu pemeriksaan yang dapat dilakukan sedini mungkin pada usia kehamilan 4 minggu yaitu pada usia sempurna perkembangan plasenta. Perkembangan plasenta yang sempurna ditandai dengan terbentuknya sirkulasi darah maternal dan sirkulasi darah fetus sehingga HLA-G sudah beredar pada sirkulasi darah ibu.<sup>(17,18)</sup>

Upaya pencegahan perburukan kondisi menjadi preeklampsia yang dapat dilakukan yaitu dengan menghindari faktor resiko hipertensi. Caranya yaitu mengevaluasi dan monitoring tekanan darah sehingga tidak terjadi peningkatan tekanan darah atau hipertensi selama kehamilan. Jenis dan pola makanan yang seimbang dan teratur dapat membantu stabilisasi tekanan darah, begitu juga dengan mengurangi resiko stress dan kecemasan.

#### Pemeriksaan HLA-G dalam Sampel Darah Menggunakan teknik ELISA

Pada metode ini digunakan teknik ELISA (*Enzyme-Link Immunosorbent Assay*) secara spesifik dan paling sederhana yaitu teknik ELISA *Direct*. Teknik ELISA *Direct* menggunakan suatu antigen atau antibodi lain yang bersifat spesifik dengan antibodi atau antigen yang akan diuji. Antigen/antibodi yang diuji tersebut akan bertautan dengan antibodi/antigen yang spesifik dicampurkan ke atas permukaan sehingga muncul interaksi antara antigen dan antibodi yang bersesuaian. Suatu substrat ditambahkan ke permukaan

untuk memunculkan suatu sinyal sehingga dapat terdeteksi.<sup>(19,20)</sup>

Prinsip dasar pemeriksaan kadar HLA-G dalam sampel darah ibu hamil dengan metode *direct*, yaitu menggunakan dua antibodi, anti-LILRB1-PE dan anti-HLA-G. Keseluruhan uji ELISA dilakukan pada 40-*Well Plate* mikrotiter. 100 µl anti-LILRB1-PE diencerkan atau dilarutkan dengan *coating buffer* untuk mendapatkan konsentrasi akhir 0,5µg/ml kemudian ditambahkan ke masing-masing *well* dengan pembagian yang rata (50ng/100 ml). *Plate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4°C. *Plate* dicuci menggunakan PBS Tween 0,2% (Tween 20) sebanyak 3 kali dalam suhu ruangan. 50 µl sampel darah yang telah diencerkan dengan *assay buffer* ditambahkan pada *plate* dan diinkubasi selama 2 jam pada ELISA *plateshaker*. Kemudian *plate* dicuci dengan Tween 0,2% sebanyak 3 kali.<sup>(10,19)</sup>

SA HRP (enzim) yang diencerkan dengan *assay buffer* ditambahkan ke masing-masing ruang *plate* sebanyak 50 µl kemudian diinkubasi selama satu jam pada ELISA *plateshaker*. *Plate* selanjutnya dicuci sebanyak 3 kali dengan Tween 0,2% dan menambahkan 50 µl substrat sure blue TMB 100 µl pada masing-masing ruang *plate*. Inkubasi kembali selama 20-30 menit pada ruangan gelap. Reaksi enzim kemudian dihentikan dengan menambahkan 50 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N pada masing-masing ruang. Pembacaan hasil menggunakan elisa *reader* dengan panjang gelombang atau *lamda* 450-492nm.<sup>(10,19)</sup> Untuk menghitung kuantitas kadar HLA-G dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer sebagai alat bantu.<sup>(20)</sup> Pengujian antibodi anti-HLA-G dilakukan dengan konsentrasi yang

sama pada 10 ruangan pada *plate* yang sama dengan anti-LILRB1-PE.<sup>(10)</sup>

### **Analisis Manfaat Metode HLIT (sHLA-G dan LILRB1 Immunology Test) sebagai Metode Diagnosis Dini Preeklampsia**

Pemahaman tentang HLIT dalam patogenesis preeklampsia menunjukkan bahwa HLIT memegang peranan yang esensial. Fungsinya dalam mendiagnosis dini preeklampsia yang berhubungan dengan teori imunitas. Bukti dari penelitian terkait yang ada menunjukkan potensi yang tinggi dari HLIT dalam memberikan gambaran dalam mendiagnosis dini preeklampsia.

HLIT yang memiliki peranan intraseluler yang tidak hanya dapat diukur melalui pemeriksaan biopsi plasenta. Sejumlah molekul HLIT yang berada dalam darah membuka peluang yang tinggi dalam penggunaannya sebagai penanda baru yang efektif dan tidak terlalu invasif dalam diagnosis dini preeklampsia. Terlebih lagi telah terdapat penelitian pada wanita hamil yang menunjukkan bahwa HLIT berada dalam serum maternal.<sup>10</sup> Namun hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut untuk memperkuat bukti ilmiah. Pemeriksaan HLIT juga memiliki kelemahan terkait kadarnya yang rendah dalam serum ibu jika dibandingkan dengan di desidua atau plasenta sehingga untuk pemeriksaan yang lebih baik adalah dengan menggunakan biopsi plasenta.<sup>(9)</sup>

HLIT yang telah meningkat sejak proses pembentukan plasenta dimulai yaitu pada minggu ke-4 memberikan keuntungan yang sangat besar jika diaplikasikan sebagai faktor diagnosis dini. Metode HLIT yang berpotensi sebagai faktor diagnosis dini tentu memerlukan

perbandingan dengan pemeriksaan yang saat ini telah banyak digunakan sebagai baku emas yakni pemeriksaan tekanan darah dan proteinuria. Dalam kasus preeklampsia, pemeriksaan tekanan darah dan proteinuria berperan sebagai diagnosis dini. Seperti yang telah dijabarkan di awal, bahwa arteri spiralis mengalami vasokonstriksi yang menyebabkan terjadinya iskemia sehingga merangsang pembentukan radikal bebas yang mengakibatkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel pada pembuluh darah sistemik menyebabkan hipertensi dan pada pembuluh darah ginjal menyebabkan proteinuria.<sup>(21)</sup> Tanda hipertensi dan proteinuria merupakan kondisi lanjut atau komplikasi akibat disfungsi endotel yang biasanya terjadi pada kehamilan di atas 20 minggu. Terkadang pula tanda hipertensi dan proteinuria terkontrol normal tetapi secara sistem imunitas patofisiologi preeklampsia telah terjadi sehingga dapat menyebabkan keterlambatan dalam penanganan preeklampsia sejak dini dan bahkan telah berlanjut ke eklampsia serta komplikasi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa hipertensi dan proteinuria kurang mampu memberikan diagnosis dini terjadinya preeklampsia.

Perbandingan antara metode HLIT dalam darah dan pemeriksaan tekanan darah dan proteinuria merujuk pada kemampuan diagnosis awal yang lebih baik dari HLIT. Hal ini mengarah pada peluang yang lebih baik dalam terapi saat ini dimana lebih mengarah dalam menghambat progresivitas. Diagnosis dini yang tepat sebelum timbulnya tanda berupa hipertensi dan proteinuria memberikan

harapan yang tinggi dalam mencegah peralihan preeklampsia menjadi eklampsia.

Aplikasi metode HLIT dalam darah untuk mendiagnosis preeklampsia memiliki feasibilitas yang tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh tersedianya alat yang diperlukan. Biaya pemeriksaan sebanding dengan manfaat yang didapatkan menunjukkan bahwa metode HLIT memiliki peluang yang tinggi untuk diaplikasikan mengingat spesifitas dan keuntungan yang diberikan lebih menjanjikan. Pada tabel 1 diberikan analisis biaya dalam aplikasi HLIT menggunakan alat dan reagen yang sesuai dengan penelitian terkait HLIT dalam serum.

Potensi yang tinggi dari HLIT tentunya tidak lepas dari adanya kekurangan. Terbatasnya metode pemeriksaan yang dapat mengukur kadar HLIT dalam darah menjadi kekurangan utama dari aplikasi HLIT. Penggunaan ELISA menjadi metode yang

paling efektif mengingat konsentrasi HLIT dalam darah berkisar pada skala mikro dan memerlukan proses multiplikasi. Namun penggunaan ELISA sebagai metode pemeriksaan utama memerlukan biaya operasional yang cukup tinggi. Hal ini menuntut penelitian lebih lanjut dalam hal penggunaan metode terkait sehingga didapatkan suatu metode yang lebih mudah dan efisien.

Penggunaan metode HLIT dalam mendiagnosis dini preeklampsia memerlukan penelitian lebih lanjut untuk menilai sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan ini. Disamping itu, diperlukan pula penelitian epidemiologi terkait batasan kadar HLIT dalam darah penderita preeklampsia yang berguna dalam interpretasi data diperlukan untuk menyempurnakan penggunaannya sebagai marker diagnosis dini.

**Tabel 1.** Analisis biaya pemeriksaan HLIT dalam darah

<b>Jenis Pengeluaran</b>	<b>Harga (Rp)</b>	<b>Biaya sekali pakai (Rp)</b>
<b>Peralatan</b>		
<i>Washer Systems</i>	12.042.927	12.043,93
<i>ELISA Plate Readers</i>	12.042.927	12.043,93
<i>Single Channel Manual Adjustable Pipettor</i>	2.738.087	2.738,09
<b>Mesin sentrifugasi</b>	3.767.403	3.767,40
<b>Membran sentrifugasi</b>	1.981.758	1.982,76
<b>Inkubator</b>	3.661.404	3.661,40
<i>Sputit</i>	400.000	4.000,00
<i>Microwell plate 40 (Santa Cruz)</i>	2.054.250	17.118,75
<i>Tabung EDTA</i>	300.000	3.000,00
<b>Subtotal</b>		55.104,66
<b>Bahan</b>		
<b>Bufer Fosfat 500ml (Santa Cruz)</b>	182.600	1.826

<b>Tween-20 500ml (Santa Cruz)</b>	228.250	2282,5
<b>Sampel darah 2 ml</b>	1.241.680	12.416,8
<b>Antibodi anti HLA-G 50 µL</b>	2.503.440	25.034,4
<b>Antibody anti LILRB1 50 µL</b>	2.503.440	25.034,4
<b>Subtotal</b>		85.888,2
<b>Lain – lain</b>		
<b>Biaya analis</b>	40.000	40.000
<b>Subtotal</b>		40.000
<b>TOTAL BIAYA PEMERIKSAAN</b>		<b>170.992,86</b>

## SIMPULAN

Berdasarkan analisis dan sintesis atas gagasan yang dikaji, maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Peranan sHLA-G sebagai pertahanan fetus terhadap sistem imun ibu pada kehamilan adalah sebagai proteksi trofoblas yang akan berikatan dengan reseptor pada sel T, sel B, sel Nk dan APC, dimana yang dominan sebagai reseptor inhibisi adalah LILRB1. Ikatan ini akan mengakibatkan toleransi dari sistem imun ibu terhadap fetus dengan supresi pada lisis oleh sel NK dan sitotoksik oleh CTL. Toleransi ini akan mencegah pengenalan fetus sebagai benda asing oleh sistem imun ibu sehingga fetus dapat berkembang dengan baik.
2. Peranan sHLA-G dalam patogenesis preeklampsia didasari oleh rendahnya sHLA-G pada serum wanita hamil yang mengalami preeklampsia. Dimana penurunan kadar sHLA-G ini sudah terjadi saat plasenta mulai mengalami maturasi yaitu pada usia kehamilan 4 minggu. Kadar sHLA-G yang rendah ini mengakibatkan maladaptasi imunitas sehingga sel trofoblas tidak bisa menginvasi desidua dan arteri spiralis serta terjadilah kecacatan vaskularisasi yaitu penyempitan arteri spiralis yang mengakibatkan tekanan darah meningkat.
3. Pemeriksaan HLA-G pada sampel darah dapat dilakukan dengan metode ELISA dengan menggunakan 2 antibodi yaitu anti-LILRB1 dan anti-HLA-G. Melalui diagnosis awal dapat dilakukan pencegahan dini terhadap perburukan kondisi menjadi preeklampsia seperti evaluasi dan monitoring tekanan darah sehingga tetap stabil.
4. Keuntungan penggunaan HLIT yakni mampu memberikan diagnosis lebih dini dari pemeriksaan yang sudah ada untuk mendiagnosis preeklampsia, dimana

pemeriksaan ini bisa dilakukan pada usia kehamilan 4 minggu. Penggunaan HLIT juga memiliki beberapa kelemahan terkait kadarnya yang rendah dalam serum ibu jika dibandingkan dengan di desidua atau plasenta. Dengan memperhatikan potensinya dalam memberikan diagnosis dini, penggunaan HLIT tentunya memiliki prospek yang cerah dalam mengurangi angka mordibitas dan mortalitas akibat preeklampsia.

## SARAN

Beberapa saran yang dapat diberikan melalui karya tulis ini antara lain:

1. Pengembangan metode HLIT dengan pengambilan sampel HLA-G pada plasenta agar memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi.
2. Penelitian terkait metode baru yang dapat mengukur kadar HLIT dalam darah sangat diperlukan mengingat saat ini yang dapat digunakan hanya metode ELISA sehingga diharapkan dapat menurunkan biaya dan memudahkan proses pemeriksaan.
3. Penelitian terkait intervensi terhadap peranan HLIT dalam patogenesis preeklampsia menjadi hal yang sangat esensialHal ini dikarenakan peranan dari HLIT yang sangat vital dalam

pencegahanperburukan kondisi preeklampsia.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Uzan Jennifer, Carbonnel Marie, Piconne Olivier, Asmar Roland, Ayoubi Jean-Marc. Pre-Eclampsia: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Vascular Health and Risk Management*. 2011;7:467–474.
2. Hernawati, I. Analisis Kematian Ibu Di Indonesia Tahun 2010 Berdasarkan Data SDKI, Riskesdas Dan Laporan Rutin KIA. 2011. [cited: March 21, 2013]. Available from: <http://www.kesehatanibu.depkes.go.id/wp-content/uploads/downloads/2011/08>.
3. Wagner, Lana K. Diagnosis and Management of Preeclampsia. *American Family Physician*. 2004. Volume 70, No. 12.
4. Alladin Ambreen A, Harrison Melinda. Preeclampsia: Systemic Endothelial Damage Leading to Increased Activation of The Blood Coagulation Cascade. *Journal of Biotech Research* 2012;4:26-43.
5. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal Mortality from Preeclampsia/Eclampsia. *US National Library of MedicineNational Institutes of Health*. 2012.
6. EHN (European Heart Network). *Cardiovascular Disease Statistics*. 2012. [cited: March 21, 2013] Available from <http://www.ehnheart.org/cvd-statistics.html>.

7. Bouteiller Philippe Le and Mallet Valerie. HLA-G and Pregnancy. *Journals of Reproduction and Fertility*.1997: 2:7-13.
8. Hunt Joan S., Petroff Margaret G., McIntire Ramsey H., and Ober Carole. HLA-G and Immune Tolerance in Pregnancy. *The FASEB Journal*. 2005;10:681-690.
9. Apps Richard, Gardner Lucy, Sharkey Andrew M, Holmes Nick and Moffett Ashley. A Homodimeric Complex of HLA-G on Normal Trophoblast Cells Modulates Antigen-Presenting Cells Via LILRB1. *European Journal of Immunology* 2007;37:1924-1937.
10. Changlin Li, Houser Brandy L., Nicotra Matthew L., and Strominger Jack L.. HLA-G Homodimer-Induced Cytokine Secretion Through HLA-G Receptors on Human Decidula Macrophages and Natural Killer Cells. *PNAS Early Edition*. 2009;1:1-6.
11. Laskowska Marzena and Oleszczuk. Serum Soluble Human Leukocyte Antigen-G in Pregnancies Complicated by Severe Preeclampsia. *Archives of Perinatal Medicine*. 2011;17(3):147-152.
12. Moreau Philippe, Contu Licinio, Alba Francesco, Lai Sara, Simoes Renata, Orru Sandro, Carcassi Carlo, Roger Michel, Rabreau Michele, and Carosella Edgardo D. HLA-G Gene Polymorphism in Human Placentas: Possible Association of G\*0106 Allele with Preeclampsia and Miscarriage. *Biology of Reproduction*. 2008;79:459-467.
13. Hunt Joan S., Jadhav Lalita, Chu Wenjiang, Geraghtyn Daniel E, and Ober Carole. Soluble HLA-G Circulates in Maternal Blood During Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;185: 682-688.
14. Menier Catherine, Freiss Nathalie Rouas, and Carosella Edgardo D. The HLA-G Non Classical MHC Class I Molecule is Expressed in Cancer with Poor Prognosis. Implications in Tumor Escape from Immune System and Clinical Applications. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* 2008;1:879-886.
15. Hylenius Sine, Andersen Anne-Marie Nybo, Melbye Mads, and Hviid Thomas Vauvert F. Association Between HLA-G Genotype and Risk of Preeclampsia: A Case-Control Study Using Family Triads. *Molecular Human Reproduction*. 2004;10(4):237-246.
16. Sulistyowati S. Ekskresi Protein in MHC Class IB (HLA-G & QA-2) yang Rendah Terhadap Profil Hsp 70 VCAM-1 dan MMP-9 pada Preeklampsia. *Penelitian pada Ibu Hamil dan Hewan Coba Musculus dengan Model Disfungsi Endotel*. 2011.
17. Widyani N. *Fisiologi Plasenta. Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin*. 2011.

18. Kliman H. J. From Trophoblast to Human Placenta. Yale University School of Medicine. 2010.
19. Anonim. ELISA. 2009. [cited: March 20, 2013]. Available from: <http://www.scribd.com/doc/39010855/ELISA.htm>.
20. Hartanto J. Prosedur ELISA HSP 70. 2012. [cited: March 20, 2013]. Available from: <http://www.scribd.com/doc/prosedur-elisa-hsp-70.htm>.
21. Cunningham F. Gary, Leveno Kenneth J., Bloom Steven L., Hauth John C., Rouse Dwight J., Spong Catherine Y. Obstetri Williams Edisi 23 Volume 2. Jakarta: EGC. 2009\