



Peran Limfosit T Helper-1 (T_H1) dan T Helper-2 (T_H2) pada Patogenesis Arthritis Lepra

Suyanto Hadi,¹ Sunarto,¹ Hardyanto S.,² Triyulianti,² Susanto J.,³ F.X. Hartono,⁴

ABSTRACT

The role of lymphocyte T Helper-1 (T_H1) and T Helper-2 (T_H2) in the pathogenesis of leprosy arthritis

Background: The autoreactive of T_H CD4⁺ cells is the thought to play an important role in arthritis leprosy pathogenesis. However, whether of T_H1 or T_H2 predominant has never been studied.

Methods: Various Ag *M. leprae* (Ag 35 kDa, 10 kDa, 45 kDa, 85 kDa, and MLSA 2 ug/ml) were stimulated to the peripheral blood (10cc) lymphocyte culture (PBMC) using 96 wells microplate and RPMI 1640 media of 22 leprosy arthritis cases, control-1 (n=12) (leprosy without arthritis) and control 2 (n=12) (healthy contact). The activity difference between T_H1 and T_H2 CD4⁺ lymphocyte was analysed using the difference delta levels of IFN- γ and IL-4 (ELISA) of the three group studies. Statistical analysis used were ANOVA, Kruskal Wallis or Mann Whitney, and Chi-square.

Results: IFN- γ delta levels was significantly higher in the lymphocytes cultures in LA group (the median 132.234 pg/ml, 60.347 pg/ml, 14.093 pg/ml, 16.619 pg/ml and 138.394 pg/ml) compared with IL-4 value level (median 0.317 pg/ml, 0.017 pg/ml, -0.206 pg/ml, -0.200 pg/ml and 0.492 pg/ml) after being stimulated with 35 kDa, 10 kDa MMP-1, 45 kDa LAM, 85 kDa and MLSA of 2 ug/ml dose consecutively (all $p < 0.001$). The IFN- γ delta value in LA group also showed the significantly higher level in response to all *M. leprae* Ag compared to all control-groups, with all p value < 0.05 .

Conclusion: T_H1 CD4⁺ lymphocyte activity is more dominant compared than T_H2 CD4⁺ lymphocyte activity in leprosy arthritis group patients.

Key Words: Leprosy arthritis, IFN- γ , IL-4, T_H1 CD4⁺ and T_H2 CD4⁺ lymphocyte, and *M. leprae* Ag

ABSTRAK

Latar belakang: T_H CD4⁺ autoreaktif diduga kuat pada patogenesis arthritis lepra. Apakah autoimunitas akibat dominansi aktivasi limfosit T_H1 atau T_H2 pada penderita lepra belum pernah diteliti.

Metode: Berbagai Ag *M. leprae* (35 kDa, 10 kDa, 45 kDa LAM, 85 kDa, dan MLSA dosis 2 ug/ml) distimulasikan pada kultur limfosit darah perifer (10 cc darah vena), menggunakan media RPMI 1640 dari 22 kasus arthritis lepra, 12 kontrol-1 (lepra tanpa arthritis), dan 12 kontrol-2 (tetangga sehat kontak positif). Nilai delta kadar IFN- γ dan IL-4 (ELISA) diukur untuk mengetahui peran aktivitas limfosit T_H1 dan T_H2. Statistik yang dipergunakan uji ANOVA, uji Kruskal-Wallis atau Mann Whitney, dan metode Chi-square.

Hasil: Nilai delta IFN- γ kultur limfosit kasus arthritis lepra (median 132,234 pg/ml, 60,347 pg/ml, 14,093 pg/ml, 16,619 pg/ml dan 138,394 pg/ml) kelompok LA lebih tinggi bermakna dibandingkan nilai delta IL-4 (median 0,317 pg/ml, 0,017 pg/ml, -0,206 pg/ml, -0,200 pg/ml dan 0,492 pg/ml) pasca stimulasi dengan Ag *M. leprae* 35 kDa, 10 kDa MMP-1, 45 kDa LAM, 85 kDa dan MLSA dosis 2 ug/ml, ($p < 0,001$). Nilai delta IFN- γ kelompok kasus juga lebih tinggi dibandingkan kedua kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Simpulan: Aktivitas limfosit T_H1 CD4⁺ lebih dominan dibandingkan T_H2 CD4⁺ pada kelompok penderita arthritis lepra.

PENDAHULUAN

Frekuensi arthritis lepra di berbagai RS lepra baik di RS Tugurejo (Semarang, Indonesia), India maupun Mesir cukup tinggi, yaitu berkisar 10–44%, dan sering menyebabkan kecacatan.¹⁻⁴ Patogenesis arthritis lepra diduga sebagai arthritis reaktif bukan arthritis infeksi, karena berdasarkan bukti pemeriksaan patologi anatomi biopsi sinovia sendi, hanya ditemukan *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) pada beberapa kasus saja.^{2,4} Toivanen, Wucherpfennig, dan Sandra Navara berpendapat bahwa arthritis reaktif merupakan inflamasi sendi yang terjadi akibat interaksi antara antigen kuman dengan limfosit T_H CD4+ *autoreactive*.⁵⁻⁷ Limfosit T_H CD4+ kemudian akan terstimulasi oleh antigen kuman untuk menjadi limfosit T_H CD4+ *memory*. Selanjutnya, antigen kuman yang persisten akan menstimulasi kembali limfosit T_H CD4+ *memory* untuk berproliferasi menjadi limfosit T_H CD4+ aktif, yaitu limfosit T_H1 CD4+ atau limfosit T_H2 CD4+ dengan sekresi sitokin masing-masing. Limfosit T_H2 CD4+ yang aktif akan mensekresi sitokin IL-4 (utama), IL-5, dan IL-10, dan kemudian akan menstimulasi limfosit B untuk berproliferasi menjadi sel plasma yang aktif serta memproduksi/mensekresi imunoglobulin.⁷⁻¹²

Ada dua hipotesis yang dapat menerangkan terjadinya arthritis lepra sebagai akibat dominasi aktivitas limfosit T_H2 CD4+ yaitu: (1) kompleks antigen antibodi yang beredar dalam sirkulasi bila masuk ke dalam sinovia sendi akan mengaktifasi sel mast, neutrofil dan makrofag. Ketiganya akan mensekresi berbagai sitokin pro inflamasi sehingga menyebabkan inflamasi dan kerusakan sendi, dan (2) sekresi imunoglobulin oleh limfosit B akibat teraktivasi oleh IL-4 dari limfosit T_H2 CD4+ yang aktif tidak cukup kuat untuk mengeradikasi antigen yang ada. Akibatnya, terjadi persistensi antigen atau kuman menetap dalam tubuh, selanjutnya gabungan kompleks antigen antibodi akan menstimulasi sel sinovia sendi dan menyebabkan inflamasi (arthritis).¹³ Sebaliknya, limfosit T_H1 CD4+ yang aktif akan mensekresi sitokin IFN- γ (utama), IL-2, dan TNF- α , yang kemudian ketiganya akan mengaktifkan respon imun seluler yaitu: makrofag, sel NK dan sel T sitotoksik (sel Tc). Aktivasi makrofag, akan menyebabkan sekresi berbagai sitokin pro inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β , yang kemudian akan memacu timbulnya inflamasi yang tergolong sebagai *delayed type IV hypersensitivity*.⁷⁻¹⁵

Sibilia berpendapat pada awalnya, proses inflamasi yang terjadi ini berjalan fisiologis dengan tujuan untuk mengeliminasi protein/antigen tersebut. Reaksi inflamasi fisiologis tersebut dapat berubah menjadi patologis apabila terjadi persistensi antigen dalam jangka panjang. Akibat selanjutnya, inflamasi tersebut akan menimbulkan kerusakan pada sendi (arthritis). Mengapa reaksi inflamasi tersebut menjadi persisten, tergantung dari faktor genetik dan antigen kuman penyebabnya.¹³ Gibson dkk, menduga bahwa inflamasi pada arthritis lepra disebabkan oleh respon imun humoral

yang dominan, yaitu akibat endapan kompleks imun pada sinovia sendi. Dasar pemikiran Gibson adalah karena arthritis lepra lebih sering dijumpai bersamaan dengan reaksi lepra tipe II (*erythema nodosum leprosum/ENL*). Timbulnya ENL tersebut disebabkan oleh adanya antibodi yang berlebihan dalam sirkulasi penderita lepra lepromatosa (dominasi aktivitas limfosit T_H2 CD4+).¹ Soenarto dkk melaporkan dua kasus arthritis lepra bersamaan dengan reaksi lepra ENL. Hasil biopsi sendi menunjukkan bahwa tidak ada *M. leprae* yang utuh.¹⁶ Messina ikut mendukung hipotesis respon imun humoral sebagai penyebab arthritis lepra. Messina melaporkan kenaikan laju endap darah dan C reaktif protein yang positif pada kasus kasus arthritis lepra.¹⁷ Banyaknya kasus arthritis lepra pada penderita lepra lepromatosa dibandingkan pada lepra tipe tuberkuloid juga ikut mendukung hipotesis respon imun humoral akibat dominasi aktivitas limfosit T_H2 CD4+ sebagai dasar terjadinya arthritis lepra.¹⁵ Hipotesis dominasi aktivitas limfosit T_H2 CD4+ mempunyai banyak kelemahan, yaitu tidak didukung oleh bukti langsung meningginya sitokin (IL-4) akibat aktivitas limfosit T_H2 CD4+ atau bukti tidak langsung, yaitu bukti patologi anatomi yang menunjukkan adanya endapan kompleks imun pada sinovia penderita arthritis lepra.^{2,4} Holla dkk, dari 50 biopsi dan Hadi dkk, dari 16 biopsi sendi penderita arthritis lepra (lepra tipe lepromatosa dan tipe tuberkuloid) menjumpai reaksi radang kronik disertai adanya infiltrasi limfosit, makrofag, dan reaksi granulomatosa yang kesemuanya menunjukkan adanya respon imun seluler yang dominan. Semua penderita tersebut telah mendapat terapi obat lepra. Dari temuan gambaran patologi anatomi tersebut, diperkirakan dominasi aktivitas limfosit T_H1 CD4+ berperan utama pada patogenesis dasar terjadinya arthritis lepra.^{2,4}

Antigen *M. leprae* terdiri dari dinding sel PGL-1 (*phenolic glycolipid* I), lipoarabinomanan (LAM) dan berbagai protein. PGL-1 dan LAM saat ini dipergunakan dalam diagnosis penyakit lepra. Protein *M. leprae* terdiri dari protein dinding sel, membran sitoplasma atau protein hasil sekresi *M. leprae*. Protein ini dapat menstimulasi respon imun baik humoral maupun seluler, terutama yang berkaitan dengan imunogenisitas limfosit T_H CD4+. Beberapa antigen protein *M. leprae* yang bersifat imunogenik adalah protein 10 kDa, 14 kDa, 17 kDa, 35 kDa, 45 kDa, 65 kDa, dan MLSA.¹⁸⁻²⁰ Antigen protein peptida *M. leprae* diperkirakan dapat lebih menstimulasi fungsi respon imun penderita lepra dibandingkan antigen yang terdiri dari lipopolisakarida.¹⁸⁻²¹ Semakin kecil dosis antigen yang dapat menstimulasi respon imun, semakin menunjukkan kekuatan sifat imunogenik antigen tersebut.¹⁰ Antaz melaporkan dosis minimal imunogenik antigen *M. leprae* yang dapat menstimulasi sekresi sitokin IFN- γ , dan IL-4 pada kultur limfosit darah perifer penderita lepra adalah sebesar 20 μ g/ml.¹⁹ Protein rekombinan *M. leprae* yang telah dapat diproduksi antara lain 10 kDa Groe Es, 35 kDa MMP-1, 45 kDa, 85 kDa (ML2028) dan MLSA.^{21,22} Dengan

tersedianya berbagai macam antigen protein *M. leprae* tersebut, penelitian eksperimental peran aktivitas limfosit T_H1 CD4⁺ dalam mensekresi IFN- γ atau peran aktivitas limfosit T_H2 CD4⁺ dalam mensekresi IL-4 dalam hubungannya dengan patogenesis artritis lepra dapat dilaksanakan secara *in vitro*.

Sepanjang pengetahuan penulis, penelitian biologi molekular dari aktivitas limfosit T_H1 CD4⁺ dalam mensekresi IFN- γ dan aktivitas limfosit T_H2 CD4⁺ dalam mensekresi IL-4 dalam kaitan dengan patogenesis artritis lepra belum pernah dilaporkan. Pemahaman pada aktivitas limfosit T_H1 CD4⁺ dan limfosit T_H2 CD4⁺ akan bermanfaat pada para klinis untuk menetapkan strategi pengobatan pada penderita artritis lepra. Tujuan penelitian untuk mencari jawaban apakah peran limfosit T_H1 CD4⁺ dalam mensekresi IFN- γ lebih dominan dibandingkan peran limfosit T_H2 CD4⁺ dalam mensekresi IL-4 pada penderita artritis lepra.

METODE

Desain penelitian yang dipergunakan pada penelitian ini adalah desain eksperimental, yaitu *pre and post tes design* dengan kontrol.^{23,24} Populasi penelitian ini adalah penderita lepra dengan komplikasi artritis yang berobat di RS Donorojo, kecamatan Keling, kabupaten Jepara dan memenuhi kriteria inklusif diagnosa klinik, laboratorik dan radiologik artritis lepra sesuai kriteria Holla dkk (1981).⁴

Kriteria inklusi yang dipergunakan adalah kriteria diagnosa klinik, laboratorik dan radiologik artritis lepra: nyeri sendi, pembengkakan sendi, dan aku sendi kurang dari 1 jam. Kriteria laboratorik dengan faktor reumatoid negatif, dan kriteria radiologik adanya erosi, destruksi, dan lisis sendi. Kriteria eksklusif yang dipergunakan adalah menderita artritis lain sesuai kriteria berikut: spondilitis ankilosa,²⁶ artritis psoriatik,²⁷ osteoartritis,²⁸ artritis infeksi (pencegatan Gram/basil tahan asam/BTA)²⁹, artritis gout,³⁰ artritis reumatoid.³¹ Menderita tuberkulosis/TB paru (radiologik), dan tidak sedang mengkonsumsi obat tertentu (steroid).

Sebagai kasus artritis lepra adalah penderita lepra dengan komplikasi artritis, termasuk dalam kelompok inklusif dan tidak termasuk dalam kelompok eksklusif. Sedangkan sebagai kelompok kontrol-1 adalah penderita lepra tanpa artritis, dan kelompok kontrol-2 adalah tetangga sehat yang mengalami kontak dengan penderita lepra. Kasus artritis lepra dipilih secara random sederhana sebanyak 22 kasus dari 41 kasus artritis lepra yang ada. Demikian pula randomisasi sederhana dipilih dari kelompok kontrol-1 (n=12) dan kontrol-2 (n=12). Kultur isolasi limfosit darah perifer dengan media RPMI 1640 (Sigma) dilakukan di Laboratorium Hayati Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada (UGM), Yogyakarta. Penelitian dilakukan mulai bulan September 2003 sampai dengan Maret 2004. Media RPMI 1640 (Sigma, USA) dipilih sebagai

media kultur limfosit darah perifer karena media tersebut dapat menghasilkan jumlah limfosit T_H CD4⁺ yang tinggi. Alasan yang lain, media RPMI 1640 telah dipergunakan sebagai media standard kultur limfosit darah perifer oleh para ahli.^{32,33} Sampel darah diperoleh dari 10 cc darah (heparin) perifer baik pada kelompok kasus artritis lepra, kontrol-1, maupun kontrol-2. Stimulasi antigen *M. leprae* 35 kDa MMP-1, 10 kDa, 45 kDa, 85 kDa, dan *whole body M. leprae* (MLSA) dosis 2 ug/ml dan PHA 1:100, dilakukan pada kultur limfosit darah perifer dari ketiga kelompok penelitian. Supernatan hasil kultur limfosit pasca stimulasi diambil, kemudian diperiksa kadar IFN- γ dan IL-4 dengan menggunakan teknik *Pelikine Compact human IFN- γ and IL-4 Sanquin kit The Netherlands*. Pembacaan dengan *Elisa reader* dilakukan dengan menggunakan metoda KC4 dengan panjang gelombang 450 nm, mesin ELX-800 (2002).

Variabel bebas yang dipergunakan pada penelitian adalah kadar IFN- γ (pg/ml) dan IL-4 (pg/ml) pada kultur limfosit darah perifer pasca stimulasi dengan berbagai antigen *M. leprae*. Variabel tergantung yang dipergunakan pada penelitian adalah penderita artritis lepra. Variabel perancu yang dipergunakan pada penelitian ini adalah: usia, jenis kelamin, lama menderita sakit lepra, status pengobatan, tipe lepra, reaksi lepra, riwayat keluarga sakit yang sama. Penentuan distribusi data normal atau abnormal dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilks*. Data dengan distribusi abnormal dianalisis dengan uji beda *Kruskal Wallis* (3 kelompok variabel) atau *Mann Whitney* (2 kelompok variabel). Sebaliknya, data dengan distribusi normal dianalisis dengan uji ANOVA (3 kelompok variabel) atau uji t (2 kelompok variabel). Data nominal dianalisis dengan uji *Fisher exact*, *Pearson Chi square* dan *Yates corrected*.^{34,35}

HASIL

Data dasar kelompok kasus, kontrol-1 dan kontrol-2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Gambaran klinik pada kelompok artritis lepra dijumpai sebagai berikut, keluhan nyeri pada 10% penderita, kaku sendi 10% penderita dengan lama kurang dari 30 menit pada 72% penderita. Poliartritis asimetris pada 81% penderita, dengan lokasi terbanyak adalah pergelangan tangan (95,5%), *metacarpo phalanx/MCP*, *proximal interphalanx/PIP* (77,3%). Gambaran radiologik erosi, destruksi dan lisis sendi terdapat pada semua hasil pemeriksaan radiologik penderita artritis lepra yaitu 22 penderita. Gambar 1 menunjukkan seorang penderita artritis lepra dengan poliartritis asimetris terutama sendi kaki. Tampak pula gambaran radiologik yang menunjukkan adanya erosi dan destruksi.

Nilai delta kadar IFN- γ dibandingkan nilai kadar kadar IL-4 pada kelompok kasus artritis lepra (gambar3).

Nilai delta kadar IFN- γ (median) lebih tinggi bermakna dibandingkan nilai delta kadar IL-4 (median) pada kultur limfosit darah perifer kelompok arthritis lepra pasca stimulasi dengan berbagai antigen *M. leprae* 35 kDa (132,234:0,317 pg/ml), 10 kDa (60,347 pg/ml:0,017 pg/ml), 45 kDa (14,093 pg/ml:-0,206 pg/ml), 85 kDa (16,619 pg/ml:-0,200 pg/ml), dan MLSA (138,394 pg/ml:0,492 pg/ml) dosis 2 ug/ml, keseluruhannya dengan nilai $p < 0,001$ berurutan uji *Kruskal Wallis*.

Nilai delta kadar IFN- γ kasus arthritis lepra dibandingkan dengan kontrol (gambar 4).

Nilai delta kadar IFN- γ kultur limfosit darah perifer limfosit T_H1 CD4+ kelompok kasus arthritis lepra pasca stimulasi dengan Ag. *leprae* 35 kDa (median=132,234 pg/ml), 10 kDa (median=60,347 pg/ml), 45 kDa (median=14,093 pg/ml), 85 kDa (median=16,619 pg/ml) dan MLSA (median=138,394 pg/ml) dosis 2ug/ml lebih tinggi bermakna dibandingkan kadar IFN- γ kelompok kontrol-1 (median=15,488 pg/ml, median=13,657

pg/ml, median=7,086 pg/ml, median=5,279 pg/ml dan median=21,204) pg/ml, maupun kontrol-2 (median=5,51 pg/ml, median=1,938 pg/ml, median=1,635 pg/ml, median=-1,53 pg/ml, dan median=18,788 pg/ml), dengan nilai $p < 0,001$, $p = 0,001$, $p = 0,020$, $p = 0,048$, dan $p < 0,001$ berurutan uji *Kruskal Wallis*.

Nilai delta kadar IL-4 kasus arthritis lepra dibandingkan dengan kontrol (gambar 4).

Nilai delta kadar IL-4 tidak berbeda bermakna pada kultur limfosit darah perifer kelompok arthritis lepra dibandingkan kelompok kontrol-1 dan kontrol-2 pasca stimulasi dengan Ag *M. leprae* 10 kDa, 45 kDa, 85 kDa, dan MLSA dosis 2 ug/ml (tabel 1) dengan nilai $p = 0,098$, $p = 0,432$, $p = 0,610$, dan $p = 0,410$ berturut turut uji uji *Kruskal Wallis*. Dalam jumlah minimal masih terdapat perbedaan bermakna nilai delta kadar IL-4 pada kultur limfosit darah perifer kelompok arthritis lepra (median=0,317 pg/ml) dibandingkan kelompok kontrol-2 (median=0,000 pg/ml) nilai $p = 0,024$ Uji *Mann Whitney*.

Tabel 1. Data dasar kelompok kasus arthritis lepra (AL), kontrol -1 dan kontrol -2

Data dasar	Kasus (n=22)	Kontrol -1 (n=12)	Kontrol -2 (n=12)	Nilai p
Rerata usia (th)	53,9 ± 14,7	52,0 ± 13,6	52,1 ± 16,6	0,867 ^{a)}
Perbandingan pria : wanita	11 : 11	6 : 6	6 : 6	0,493 ^{d)}
Lama sakit lepra (th)	18,7 ± 2,5	20,5 ± 1,7	-	0,493 ^{b)}
Status terapi	22 (100%)	11 (91,6%)	-	0,353 ^{c)}
Riwayat keluarga sakit lepra	11 (50%)	3 (18,8%)	-	0,275 ^{c)}
Reaksi lepra positif	12 (54,5%)	6 (50%)	-	0,916 ^{d)}
Perbandingan tipe lepra BB/BL:BT/TT	1 : 1	1 : 1	-	0,705 ^{d)}

Keterangan:

Terdapat 22 kasus arthritis lepra (11 pria dan 11 wanita), 12 penderita kontrol-1 (6 pria dan 6 wanita), dan 12 penderita kontrol -2 (6 pria dan 6 wanita). Tidak terdapat perbedaan data dasar usia, dan perbandingan jenis kelamin pada ketiga kelompok penelitian. Data dasar yang lain juga tidak menunjukkan perbedaan antara kasus dibandingkan kontrol, yaitu usia ($p=0,867$), lama sakit lepra ($p=0,493$), status terapi ($p=0,353$), riwayat keluarga sakit arthritis lepra ($p=0,275$), reaksi lepra ($p=0,916$) dan perbandingan tipe lepra BB/BL:TT/BT ($p=0,705$). a) *Kruskal Wallis* b) *Mann whitney* c) *Chi Square test* d) *Fisher Exact*

Tabel 2. Nilai delta kadar il-4 pada ketiga kelompok penelitian pasca stimulasi dengan Ag *M. leprae* 10 kDa, 35 kDa, 45 kDa, 85 kDa, dan MLSA dosis 2 ug/ml

Stimulasi Ag (2ug/ml)	Kadar IL-4 (median pg/ml)			Nilai p
	Kasus (n=22)	Kontrol -1 (n=12)	Kontrol -2 (n=12)	
35 kDa	0,317	0,061	0,000	0,024
10 kDa	0,017	0,000	0,000	0,098
45 kDa	-0,026	0,000	0,000	0,432
85 kDa	-0,200	0,000	0,000	0,610
MLSA	0,492	0,095	0,041	0,140

Keterangan:

Dalam jumlah minimal masih terdapat perbedaan bermakna nilai delta kadar IL-4 pada kultur imfosit darah perifer kelompok arthritis lepra (median=0,317 pg/ml) dibandingkan kelompok kontrol -2 (median=0,000 pg/ml) nilai $p=0,024$ uji *Mann Whitney*.

HASIL PENELITIAN



Poliartritis asimetris



Gambaran Radiologik

Erosi/destruksi/lisis: 22 (100%)

22 pend A. lepra (11 wanita dan 11 pria)

Poliartritis asimetris 18 pend (82 %) Oligo 3 (13 %) dan 1 mono artritis

Oligoartritis = 3 penderita (13%)

1 penderita monoartritis

PEMBAHASAN

Keseluruhan variabel perancu tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara kasus dibandingkan kontrol. Variabel perancu tersebut terdiri atas; usia ($p=0,867$), lama sakit lepra ($p=0,493$), status terapi ($p=0,533$), riwayat keluarga sakit artritis lepra ($p=0,275$), reaksi lepra ($p=0,916$) dan perbandingan tipe lepra LL/BL:TT/BT ($p=0,705$) uji *Kruskal Wallis*.

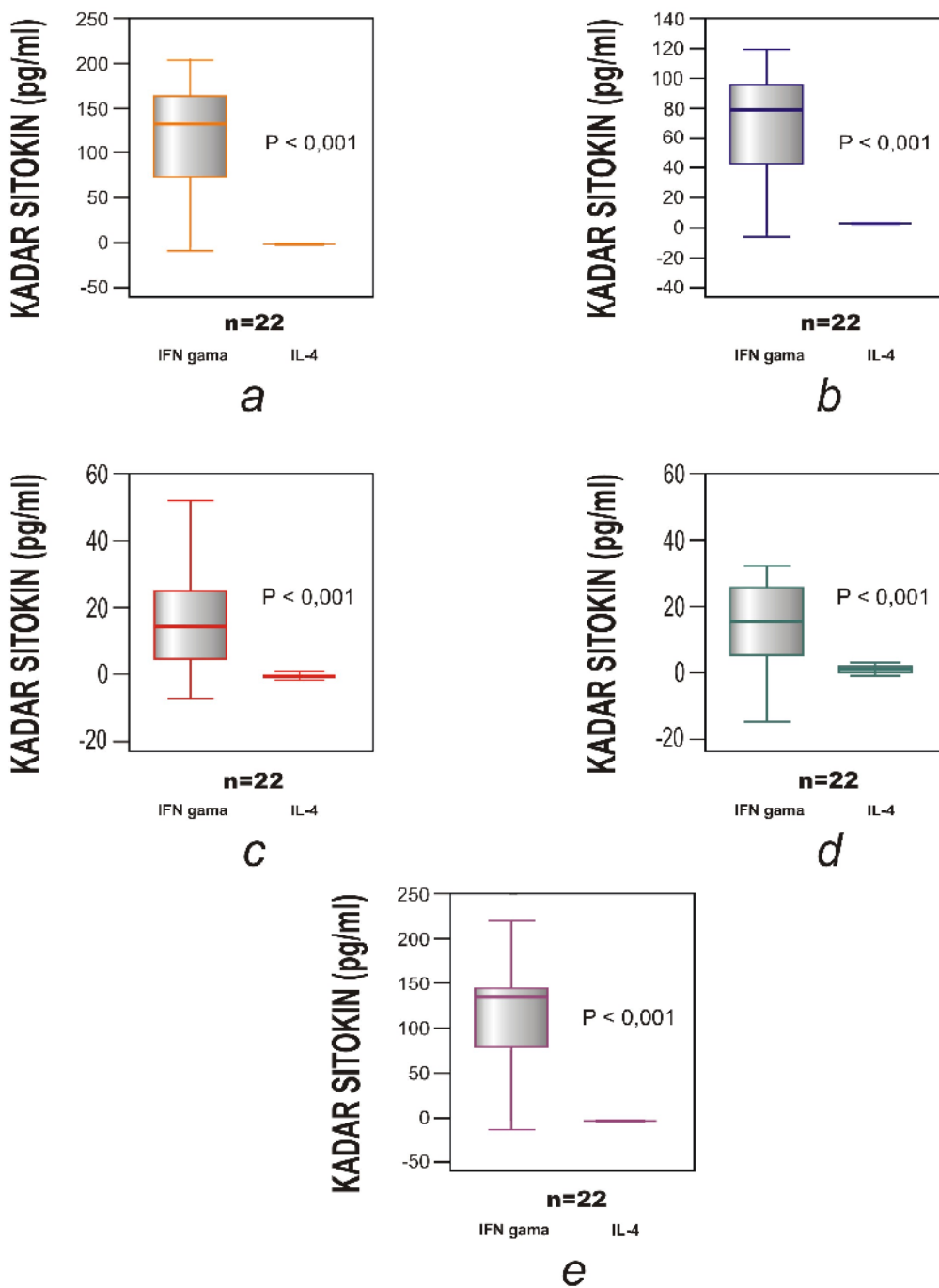
Nilai delta kadar IFN- γ dibandingkan dengan nilai delta kadar IL-4 pada kasus artritis lepra (Gambar 3).

Kadar IFN- γ kultur darah perifer kelompok kasus artritis lepra lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan nilai delta kadar IL-4 pasca stimulasi dengan antigen *M. leprae* 35 kDa, 10 kDa, 45 kDa, 85 kDa dan MLSA dosis 2 $\mu\text{g/ml}$ dengan nilai kesemuanya $p < 0,001$ uji *Kruskal - Wallis*. Perbandingan nilai delta kadar IFN- γ dengan nilai delta kadar IL-4 pasca stimulasi dengan berbagai antigen *M. leprae* adalah sebagai berikut; stimulasi dengan antigen 35 kDa (IFN- $\gamma=132,234$ pg/ml, dibandingkan IL-4=0,306 pg/ml), 10 kDa (IFN- $\gamma=60,347$ pg/ml, dibandingkan IL-4=0,165 pg/ml), 45 kDa ((IFN- $\gamma=14,093$ pg/ml, dibandingkan IL-4=-0,206 pg/ml), 85 kDa (IFN- $\gamma=16,619$ pg/ml, dibandingkan IL-4 = -0,200), dan MLSA (IFN- $\gamma=132,234$ pg/ml, dibandingkan IL-4=0,306 pg/ml), (IFN- $\gamma=138,394$ pg/ml, dibandingkan IL-4=0,492 pg/ml). Keadaan ini sesuai dengan laporan dari Elson dkk dengan *pristine induce arthritis* pada tikus. Elson melaporkan bahwa limfosit T_H CD4⁺ pada cairan sendi tikus yang mengalami artritis mensekresi IFN- γ lebih dominan dibandingkan sekresi IL-4. Sebaliknya,

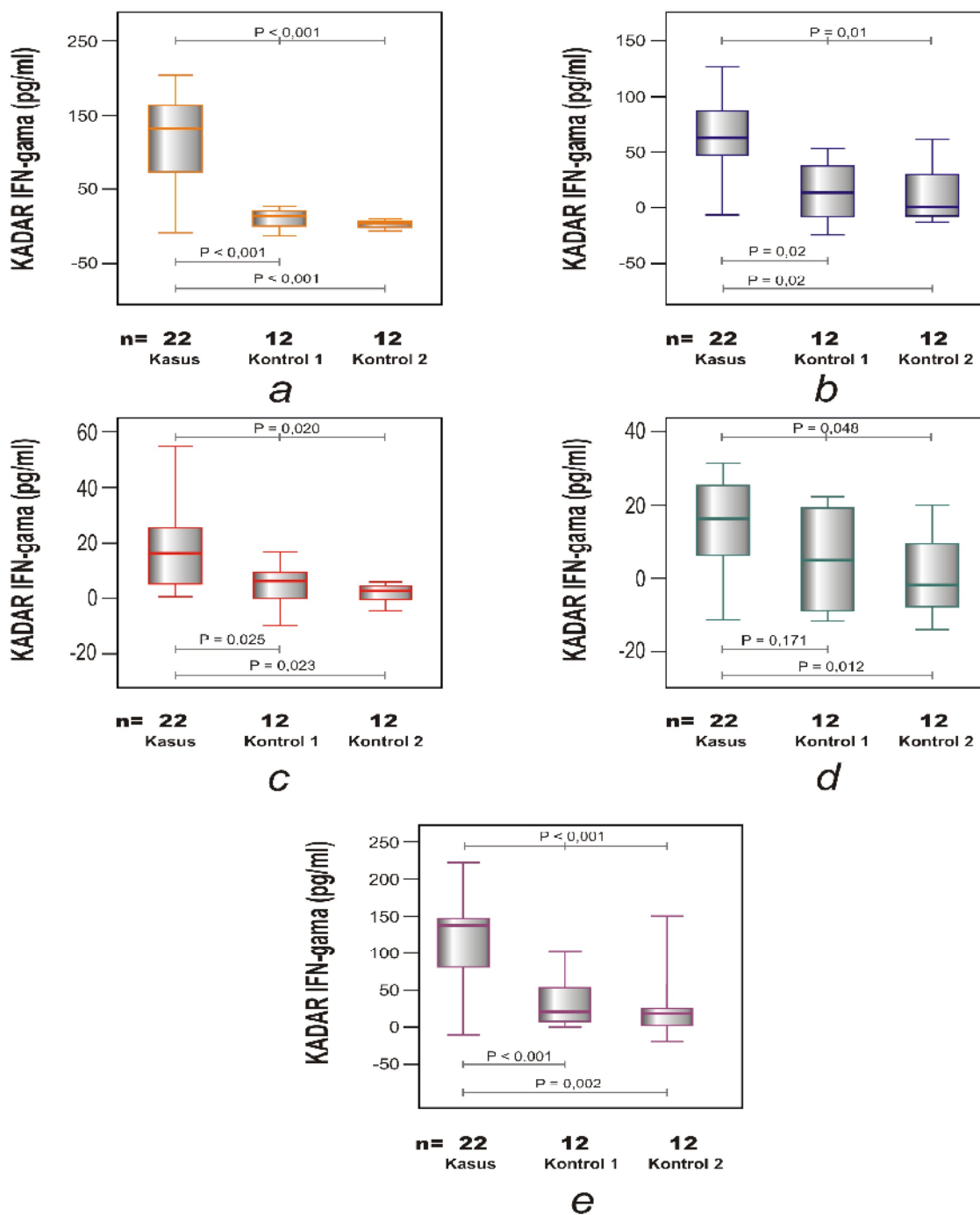
tikus yang tidak mengalami artritis mensekresi IL-4 lebih dominan.³⁶

Nilai delta kadar IFN- γ kasus artritis lepra dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4).

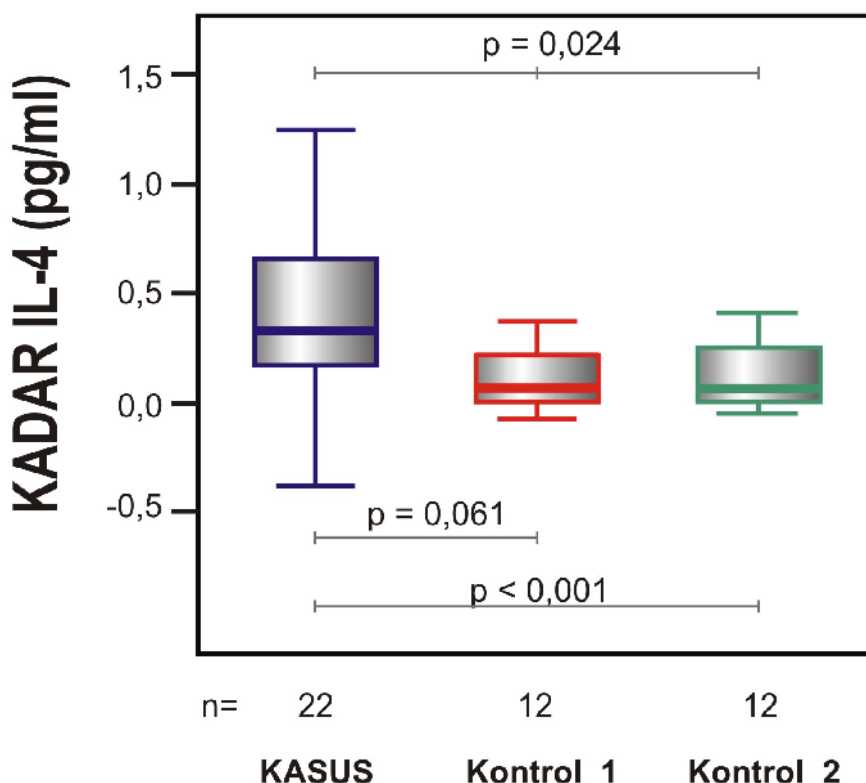
Nilai delta kadar IFN- γ pada kultur limfosit T_H CD4⁺ darah perifer kelompok kasus artritis lepra lebih tinggi bermakna apabila dibandingkan kelompok kontrol-1 maupun kontrol-2 pasca stimulasi dengan antigen *M. leprae* 35 kDa, 10 kDa, 45 kDa LAM, 85 kDa dan MLSA dosis 2 $\mu\text{g/ml}$ (nilai $p < 0,001$, $p=0,001$, $p=0,020$, $p=0,048$ dan $p < 0,001$ uji *Kruskal Wallis* berurutan). Dominasi aktivitas proliferasi limfosit T_H-1 CD4⁺ dengan kadar IFN- γ yang tinggi ini diduga sebagai penyebab terjadinya artritis lepra. IFN- γ akan menstimulasi inflamasi lokal pada sinovia sendi lewat stimulasi endotel, sinoviosit, sistema makrofag, limfosit Tc dan sel NK. Makrofag yang aktif akan mensekresi IL-12, IL-1 β dan TNF- α . Interleukin-12 akan menstimulasi kembali aktivitas proliferasi limfosit T_H CD4⁺. Interleukin-1 β akan menstimulasi pengaktifan fibroblas dan kondrosit. Pengaktifan ensim metaloprotease (stromielisin dan kolagenase) akan mengakibatkan kerusakan rawan sendi. Tumor nekrosis faktor- α akan menstimulasi pengaktifan endotel kapiler sehingga terjadi vasodilatasi. Interleukin-1 β dan TNF- α bersama sama akan mengaktifkan osteoklas lewat sistem *receptor activator of nuclear factor kb ligand* (RANKL) sehingga terjadi resorpsi tulang dan sendi. Kerusakan rawan sendi berupa destruksi dan erosi terjadi pada fase akhir.^{10,37,38} Proses inflamasi sendi akibat dominasi fungsi sekresi IFN- γ oleh limfosit T_H1 CD4⁺ ini sesuai dengan hipotesis terjadinya artritis



Gambar 3. Gambar box plot perbandingan nilai delta kadar IFN- γ (median pg/ml) dibandingkan nilai delta kadar IL-4 (median pg/ml) pada kultur limfosit darah perifer kelompok artritis lepra (n=22) pasca stimulasi dengan berbagai antigen *M. leprae*. Stimulasi dengan 35 kDa kDa (a), 10 kDa (b), 45 kDa (c), 45 kDa (d) dan MLSA (e) dosis 2 ug/ml, nilai *p* seluruhnya <math>< 0,001</math> uji *Mann Whitney*.



Gambar 4. Gambar box plot perbandingan nilai *delta* kadar IFN- γ pada kultur limfosit darah perifer kasus artritis lepra (n=22), dibandingkan lepra tanpa artritis (n=12, kontrol-1) dan kontak sehat (n=12, kontrol-2) pasca stimulasi dengan berbagai antigen *M. leprae*. Stimulasi dengan antigen 35 kDa (a), 10 kDa (b), 45 kDa (c), 85 kDa (d) dan MLSA (e) dosis 2 ug/ml, nilai p < 0,001, p=0,01, p<0,020, p=0,048 dan p<0,001 berurutan uji *Kruskal Wallis*.



Gambar 5. Gambar box plot perbandingan nilai delta kadar IL-4 pada kultur limfosit darah perifer antara kelompok kasus arthritis lepra (median 0,317 pg/ml, n=22), lepra tanpa arthritis (median=0,061 pg/ml, n=12, kontrol-1) dan kontak sehat (median=0,000 pg/ml, n=12, kontrol-2) pasca stimulasi dengan antigen *M. leprae* 35 kDa MMP-1 dosis 2 ug/ml. Nilai $p = 0,024$ uji *Kruskal Wallis*.

reaktif akibat *molecular mimicry*.^{9,7,13} Antigen protein *M. leprae* mempunyai struktur yang *mimicry* sel penderita lepra di sinovia sendi, yang kemudian akan bereaksi dengan limfosit T_H CD4+ ($\alpha\beta/\gamma\delta$ reseptor) lewat mekanisme limfosit T_H CD4+ yang autoreaktif. Interaksi antigen *M. lepra/self* antigen yang *mimicry* akan menstimulasi pengaktifan limfosit T_H CD4+ pada sinovia sendi di mana antigen/*self* antigen tersebut berada.^{7,13} Hipotesis ini sesuai dengan laporan beberapa peneliti:

Elson dkk, melaporkan bahwa kultur limfosit cairan sendi tikus yang mengalami arthritis akibat injeksi bahan kimia *pristane*, mensekresi IFN- γ dan IL-2 lebih tinggi bermakna dibandingkan tikus yang tidak mengalami arthritis.³⁶ Buzass dkk (1998), melaporkan hibridoma limfosit T_H CD4+ binatang coba yang mengalami arthritis buatan (*murine aggregans induced arthritis*) mensekresi IFN- γ lebih tinggi bermakna dibandingkan tikus yang tidak mengalami arthritis.³⁶ Studi Cooper dkk, juga melaporkan hal yang sesuai dengan penelitian dari Buzass dkk, menyatakan bahwa pemberian anti IFN- γ dapat mengurangi inflamasi pada binatang coba yang mengalami arthritis.³⁶ Peneliti lain, Chomarat mengisolasi limfosit cairan sendi penderita AR, hasilnya klon limfosit tersebut menunjukkan dominasi sekresi

sitokin IFN- γ , akan tetapi IL-4 tetap dijumpai dalam jumlah minimal.³⁶ Fendler, pada penelitian 215 kasus arthritis reaktif, melaporkan terjadi proliferasi anatomi hampir 3 kali limfosit T_H CD4+ (45% kasus) pasca stimulasi antigen *Chlamidia trachomatis*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, dan *Campylobacter jejuni* dosis 5 ug. Proliferasi terjadi pada minggu ke-2 dan 4 pasca arthritis.⁴⁰ Secara tidak langsung laporan penelitian Holla dkk (1981) dan Hadi dkk (1999) ikut mendukung adanya reaksi respon imun yang disebabkan adanya dominasi aktivitas limfosit T_H1 CD4+ dibandingkan aktivitas limfosit T_H2 CD4+ pada patogenesis terjadinya arthritis lepra. Holla dkk (1981) melakukan biopsi dan pemeriksaan patologik anatomi pada sendi 50 penderita arthritis lepra. Hasil pemeriksaan menunjukkan adanya inflamasi kronik dengan dominasi limfosit, makrofag, sel busa dan reaksi granuloma didapatkan pada 36 kasus yang tidak mengalami reaksi lepra. Sebaliknya *M. leprae* utuh jarang dijumpai. Studi terhadap 16 kasus arthritis lepra disertai dengan pemeriksaan patologik anatomi oleh Hadi S dkk (1999), juga menunjukkan adanya infiltrasi limfosit, makrofag disertai reaksi granuloma, sedangkan *M. leprae* utuh hanya didapatkan pada empat kasus.^{2,4}

Nilai delta kadar IL-4 kasus artritis lepra dibandingkan kontrol (Gambar 4).

Nilai delta kadar IL-4 tidak berbeda bermakna pada kultur limfosit darah perifer kelompok artritis lepra dibandingkan kelompok kontrol-1 dan kontrol-2 pasca stimulasi dengan Ag *M. leprae* 10 kDa, 45 kDa, 85 kDa, dan MLSA dosis 2 ug/ml dengan nilai $p=0,098$, $p=0,432$, $p=0,610$, dan $p=0,140$ berturut-turut uji *Kruskal Wallis* (tabel 1). Dalam jumlah minimal masih terdapat perbedaan bermakna nilai delta kadar IL-4 kelompok artritis lepra (0,317 pg/ml) dibandingkan kelompok kontrol-2 (0,000 pg/ml) dengan nilai $p<0,001$ uji *Mann Whitney* (gambar 4) pasca stimulasi dengan antigen *M. leprae* 35 kDa dosis 2 ug/ml. Kenaikan ini menyebabkan stimulasi terhadap limfosit B untuk mensekresi imunoglobulin. Sekresi imunoglobulin ini akan menyebabkan kenaikan laju endap darah pada 2 kasus artritis lepra. Chomarat dkk mengisolasi limfosit T ($\alpha\beta/\delta\gamma$) dari penderita AR. Hasilnya klon limfosit penderita AR mensekresi IFN- γ dalam jumlah besar, disamping sejumlah kecil IL-4.³⁶ Abulafia menyatakan bahwa pada lepra tuberkuloid terjadi dominasi sekresi IFN- γ oleh limfosit T_H1 CD4+, tetapi IL-4 tetap diproduksi oleh limfosit T_H2 CD4+ dalam jumlah minimal.⁴¹ Kenaikan laju endap darah dan CRP juga dilaporkan oleh Lele dan Gibson.¹ Odendahl melaporkan bahwa artritis akibat lupus eritematosus sistemik disebabkan oleh sekresi imunoglobulin oleh limfosit B yang aktif (bukti terdapat peningkatan ekspresi CD38 dan CD27 limfosit B). Akan tetapi artritis pada lupus tidak menyebabkan erosi dan destruksi sendi.³⁹ Keadaan ini berbeda dengan kasus artritis lepra di mana terjadi erosi dan destruksi sendi yang berat.

SIMPULAN

Peran aktivitas limfosit T_H-1 CD4+ pada penderita artritis lepra lebih dominan dibandingkan peran aktivitas limfosit T_H-2. Patogenesis artritis lepra merupakan suatu bentuk artritis reaktif, yang terjadi akibat dominasi respon imun seluler oleh stimulasi Ag *M. leprae* 35 kDa terhadap limfosit T_H CD4+ autoreaktif di sinovia penderita lepra. Kadar IFN- γ yang tinggi dapat dipergunakan sebagai parameter diagnosis dini, dan parameter obyektif keberhasilan terapi pada penderita artritis lepra.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut dengan pemberian obat reumatik yang tergolong *second line drug* (kloroquin, *methotrexate* dan sulfasalasin) atau pemberian monoklonal antibodi terhadap limfosit TH CD4+ penderita artritis lepra terutama stadium dini, untuk mencegah kecacatan lewat hambatan reaksi sistem imun seluler yang patologis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Direktur RS. Lepra Donorojo, Keling, Jepara. Dr. Widyo Kunto atas ijin penggunaan rumah sakit untuk tempat penelitian. Terimakasih pula kepada Direktur Laboratorium Hayati FK UGM Yogyakarta Prof. DR. Dr. Noerhayati Soeripto, DTMH atas ijin dan kesempatan untuk menggunakan Laboratorium Hayati FK UGM Yogyakarta. Prof. Ottenhoff (Leiden University), John Spencer PhD. (Colorado State University), Bruce Gregory PhD. (Colorado State University), Dr. Hussein Gasem DSPD-KPTI PhD dan Prof. Dr. Sultana M.H. Faradz PhD terimakasih atas segala bantuan dalam pencarian antigen *M. leprae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Gibson T, Ahsan Q, Husein K. Arthritis of leprosy. *Br J of Rheum.* 1994;33:963-6.
- Hadi S, Soenarto, Indra P, Hadi, Indra W. Arthritis in leprosy : clinical, laboratoric, pathologic anatomic, polymerase chain reaction and radiological study. Beijing: APPLAR X; 2000.
- Vengadkrishnan K, Saraswat PK, Mathur PC. A study of rheumatological manifestations of leprosy. *Indian J Dermatol Venerol Leprosy.* 2004;70:76-8.
- Holla VV, Kenetkar MV, Kolhatkar MK, Kulkarni CN. Leprous synovitis. *Inter J of Leprosy.* 1981;29-83.
- Toivannen P, Toivanen A. Two forms reactive arthritis? *Ann Rheum Dis.* 1999;58 (12):737-40.
- Wucherpfennig. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *The J of Clin Invest.* 2001;108:8.
- Navara S. Infectious agents in arthritis and autoimmunity. *Asean Rheumatology Facing Challenges.* Kuala Lumpur, 2006;18-24.
- Hypersensitivity. In: Roitt's I, editor. *Essential immunology.* 9th eds. London: Black Well Science Ltd, 1997;328-50.
- Smith JB, Hagnes M. Rheumatoid arthritis. A mollecular understanding. *Am Physic.* 002;908-15.
- Terr AI. Inflammation. In: Parlslow TG, Stites DP, Terr A, Imboden JP, editors. *Medical immunology.* Boston: A Lange Medical Book, 2003;189-201.
- Cush JJ, Lipsky PE. Reiter's syndrome and reactive arthritis. In: Koopman WJ, editor. *Arthritis and allied conditions a text book of rheumatology.* Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2001; 1324-30.
- Wong KKP, Campbell IK, Ernsmandwicks IP. The role of interleukin-6 family of cytokines in inflammatory arthritis and bone turnover. *Arthritis & Rheum.* 2001;44 (9): 2176-84.
- Sibilia J, Limbach FX. Reactive arthritis or chronic infectious arthritis? *Ann Rheum Dis.* 2002;61 (7):580-5.
- Leader. Relations between steroid hormones and cytokines in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 1998;57:573-77.
- Van Roen JAG, Verhoef CM, Van Roen JLAM, et al. Decrease in peripheral type-1 over type-2 T-Cell cytokin production in patients with rheumatoid arthritis correlates with an increase in severity of disease. *Ann Rheum Dis.* 1997;176:217-20.

16. Soenarto, Hadi S, Agung D. Arthritis of leprosy. Kuala Lumpur, Malaysia: APPLAR;1994.
17. Messina WC, Neto CF, Cossermelli W. Articular inflammatory manifestations in patients different forms of leprosy. *J of Rheumatol.* 1998;25:111-8.
18. Suunetha M, Vardhini D, Suunetha S. *Mycobacterium leprae* binding proteins. A review of their role in pathogenesis. *Int J of Lepr.* 2001; 69(4):410-8.
19. Antaz PRZ, Sales JS, Pereria KC, Oliveria EB, Lunka KS, Sarno EN, et al. Pattern of intracellular cytokines in CD4+ and CD8+ T-Cells from patients with *Mycobacterium* infections. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(8):119-1129.
20. Macfarlane A. Presence of human T-Cell responses to the *Mycobacterium Leprae* 45 kilodalton antigen reflect infection with exposure to *M leprae*. *Clin and Diag Lab Immunol.* 2001;604-11.
21. Spencer J. Research scientist. Laboratory Patrick Brennan PhD. Colorado State University. Korespondensi 2002. Email: john.spencer@colostate.edu.
22. Ottenhoft THM. Dept. Immunohematology and blood transfusion. Leiden: Leiden University Medical Center. 2002. Email: ottenhoft@lume.nl.
23. Larry B, Christensen. *Experimental methodology.* 5th eds. Needham Heights: Simon and Scluser Inc, 1995;280-300.
24. Stuart J Pocock. *Clinical trial, a practical approach.* Chilcester: John Wiiley Sons Ltd, 1983;73-75.
25. Moschella SL. An update on the diagnosis and treatment of leprosy. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51(3):417-25.
26. Calein A. Ankylosing spondylitis. In: Maddison PJ, Isenberg DA, Woo P, Glass DN, editors. *Oxford Textbook of Rheumatology.* Oxford: Oxford Iniversity Press, 1993;681.
27. Boumpas D, Illei GG, Tassioulas IO. Psoriatic arthritis. In: Klippel JH, ed. *Primer on the rheumatic disease.* Twelve eds, Atlanta: Arthritis Foundation, 2001;233-8.
28. Altman R, Alarcon G, Appelrouth D. ACR Criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hand, hip and knee. In: Klippel JH, ed. *Primer on the rheumatic disease.* 11th ed. Atlanta: Arthritis Foundation, 2001;634-7.
29. George Ho. Septic arthritis. In: Klippel JH, ed. *Primer on the rheumatic disease.* 12th eds. Atlanta: Arthritis Foundation, 2001;259-64.
30. Wallace. Criteria for the classification of acute gouty arthritis. In: Klippel JH, ed. *Primer on the rheumatic disease.* 12th ed. Atlanta: Arthritis Foundation, 2001;637.
31. Arnet Dougados, et al. Study group european classification criteria of spondyloarthritis. *Arthritis and Rheum.* 1991;34 (10): 1223-4.
32. Clouston HJ. Lymphocyte culture. In: Rooney DE, ed. *Human cytogenetics, a practical approach.* USA: Oxford University Press, 2001. Available from: <http://fds.oup.com/www.oup.co.uk/pdf/0-19-963839-X.pdf>
33. Valentine F, Leaderman. *Lymphocyte proliferation assay.* Principle, clinical applications and overview of the assay. Version 2.0, 2000;1-11.
34. Wassertheil Sylvia-Smoller. *Biostatistics and epidemiology.* 2nd ed. New York: Springer Verlag, 1995;161-4.
35. Wahana Komputer. *Pengolahan data SPSS 11.5.* Jakarta: Salemba, 2003;184-97.
36. Patrick DW. Kielly the T_H1 & T_H2 model what relevance to inflammatory arthritis? *Ann Rheum Dis,* 1998;57:328-30.
37. Cho TJ, Lehman W, Edgar C, Sadeghi C, Hou A, Einhorn TA, et al. Tumor necrosis factor- α activation of the apoptotic cascade in murine articular chondrocytes is associated with the induction of metalloproteinases and spesific pro resorptive factors. *Arthritis & Rheum,* 2003;48 (10):2845-50.
38. Gradaigh DQ, Ireland D, Burd S, Compston JE. Joint erosion in rheumatoid arthritis, interaction between tumour necrosis factor- α interleukin-1 and receptor activator of nuclear factor kB ligand (RANKL) regulate osteoclasts. *Ann Rheum Dis.* 2004;3:354-9.
39. Odendahl M, Keizer R, Wahn U, Hiepe F, Radbruch A, Donner T, et al. Peripheral B lymphocyte homeostasis in children with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2003;62 (8):715-21.
40. Fendler C, Wu P, Eggens U, Laitko S, Sorensen A, Disler J, et al. Longitudinal investigation of bacterium spesific synovial lymphocyte proliferation in reactive arthritis and lyme arthritis. *Br J of Rheum.* 1998;35:784-8.
41. Abulafia J, Vignale RA. Leprosy: pathogenesis updated. *Inter J of Dermatol.* 1999;8:321-4.