

GAMBARAN IgG4 dan IgE TERHADAP PROTEIN MIKROFILARIA PADA SERA PENDUDUK ENDEMIS FILARIASIS DI KECAMATAN PASIR PENYU, RIAU

Basundari SU*, Lilliana Kurniawan*, Soeroto A.**,
Rita Marleta* dan M.Yasin***

ABSTRACT

Western blot test to detect specific IgG4 and IgE was performed to 12 microfilaraemic and 13 amicrofilaraemic individuals from malayan filariasis endemic area, Pasir Peny, Riau.

No differences in binding patterns of IgG4 and IgE antibodies to microfilarial protein components was shown. There was a parallel protein components recognition by IgG4 and IgE of molecular weight ranging from 158 kd to 14 kd. Protein component of 125 kd was only recognized by IgG4 and of 112 kd only by IgE.

These findings suggest that in filarial infection IgG4 antibodies play a role as a blocking antibodies to inhibit the spesific reaction of IgE that is usually expressed as an allergic reaction.

PENDAHULUAN

Gejala klinis filariasis yang dialami oleh penduduk di daerah endemis filariasis seperti : demam, limfangitis dan limfadenitis, biasanya terjadi secara berulang. Penderita yang menunjukkan adanya gejala di atas dapat ditemukan bersama sama dengan keadaan mikrofilaremik atau amikrofilaremik. Dengan adanya perbedaan pada manifestasi klinis dan parasitologis, kemungkinan gejala klinis yang

dialami penderita dalam perjalanan penyakitnya merupakan fase penting; karena gejala klinis merupakan refleksi respon imun dari hospes terhadap parasitnya.⁽¹⁾ Hebatnya ekspresi klinis yang timbul tergantung pada lamanya infeksi dan tipe respon imun yang timbul dari hospes terhadap parasitnya.

Penelitian imunologik menunjukkan bahwa respon imun baik humoral maupun seluler terhadap mikrofilaria pada kelompok

* Puslit Penyakit Menular, Badan Litbang Kesehatan.
** Namru 2, Jakarta.
*** Ditjen P2M PLP, Depkes.

amikrofilaremik lebih baik dari pada kelompok mikrofilaremik.⁽²⁾ Hasil penelitian Canlas dan Kazura menunjukkan bahwa kelompok amikrofilaremik mempunyai IgG yang mengenal komponen protein mikrofilaria dengan berat molekul 75, 70 dan 25 kilo dalton.^(3,4) Bagaimanakah keadaan IgE dan subkelas IgG?

Telah dipaparkan bahwa terlihat pola pengenalan yang sama antara IgG dan IgE terhadap komponen protein cacing dewasa *Wuchereria bancrofti*.⁽⁵⁾ Bukti-bukti menunjukkan bahwa dalam sera penderita yang mikrofilaremik kadar IgG4 ternyata 17 kali lebih tinggi dibandingkan penderita elefantiasis. Bila secara kualitatif diteliti, IgG4 mengenal hampir seluruh komponen protein mikrofilaria.⁽⁶⁾

Dengan demikian dugaan yang timbul adalah IgG4 merupakan subkelas IgG yang kemungkinan mempunyai peran pada respon imunologi filariasis yang berkaitan dengan respon IgE. Penelitian ini disusun dengan berdasar pada dugaan di atas; tes western blot dilakukan untuk mempelajari pola pengenalan subkelas IgG4 dan IgE terhadap komponen protein mikrofilaria *Brugia malayi*. Sampel sera

yang diambil berasal dari penduduk daerah endemis di kecamatan Pasir Penyau daerah Riau.

BAHAN DAN CARA

Sampel sera

Berdasarkan survey parasitologis, diambil sera dari 12 penduduk yang mikrofilaremik dan 13 sera dari penduduk yang amikrofilaremik. Sampel disini tidak dikelompokkan lagi menurut keadaan klinis penderita karena sangatlah sulit mengidentifikasi keadaan klinis penderita di daerah endemis, karena gejala demam yang berulang, ataupun limfangitis dan limfadenitis sudah sangat jarang mereka alami; hal ini dapat diketahui pada saat anamnesa dan pemeriksaan klinis dilakukan. Keadaan klinis yang sering didapat pada saat pemeriksaan klinis adalah adenitis dan elephantiasis.

Pada 25 sera tersebut dilakukan uji western blot, antigen yang dipakai adalah ekstrak mikrofilaria *B.malayi*, sedang konjugat untuk mengidentifikasi subkelas IgG4 dibuat dari sel monoklonal yang diikat dengan biotin dan petanda yang dipakai adalah anti biotin alkaline phosphatase dari Sigma (nomor katalog B3648). Untuk mengidentifikasi IgE dipakai konjugat anti human IgE dari Sigma dengan nomor katalog A9667.

Antigen

Antigen didapatkan dari ekstraksi mikrofilaria *B.malayi*. Mikrofilaria didapat dengan jalan membiakkan cacing filaria *B.malayi* di dalam tubuh gerbil.

Delapan puluh mikrogram protein hasil dari ekstraksi mikrofilaria dielektrophoresis pada agar polyacrylamide. Protein yang telah terurai kemudian dipindahkan ke atas kertas nitroselulose untuk digunakan sebagai antigen pada tes western blot.

Uji western blot

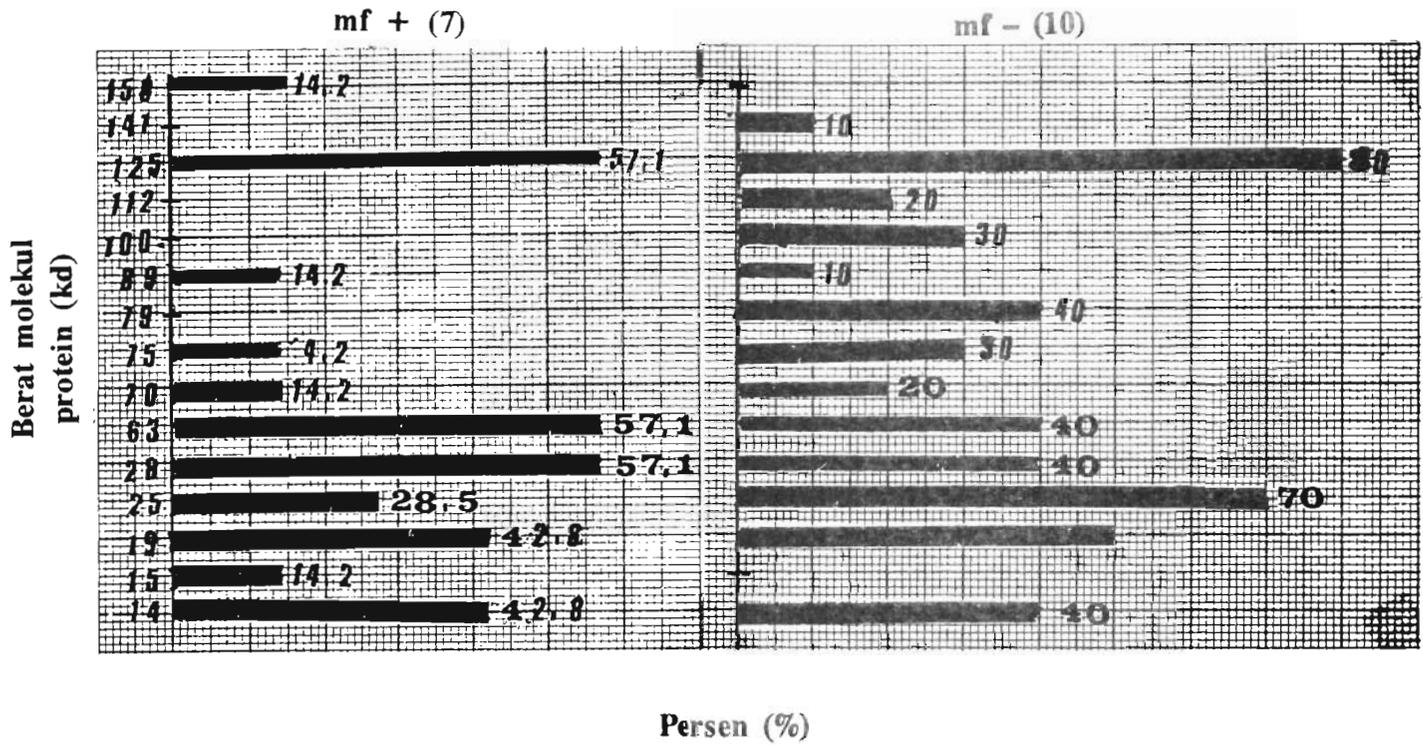
Kertas nitroselulose yang telah siap seperti yang telah diuraikan di atas diinkubasi dengan serum selama 3 jam pada temperatur kamar. Setelah dilakukan pencucian 3 X 10 menit dengan PBS tween kertas nitroselulose tersebut diinkubasi dengan IgG4 atau IgE yang telah diikat dengan biotin dan tanpa biotin selama 2 jam pada temperatur kamar. Setelah dicuci seperti di atas untuk mengidentifikasi IgG4 kertas diinkubasi dengan konjugat antibiotin alkaline phosphatase selama 2 jam pada temperatur kamar. Setelah dilakukan pencucian untuk uji IgG4 ditambahkan substrat BCIP (Promega S-381c) dan NBT (Promega S-380c). Untuk uji IgE ditambahkan

3'3 diamino benzidine. Bila tes positif akan menunjukkan gambaran pita-pita berwarna ungu kebiruan untuk uji IgG4 dan berwarna coklat untuk uji IgE, dan berat molekul dari pita-pita ini dapat ditentukan dengan berpedoman pada berat molekul standar (produksi BIO RAD).⁽⁷⁾

H A S I L

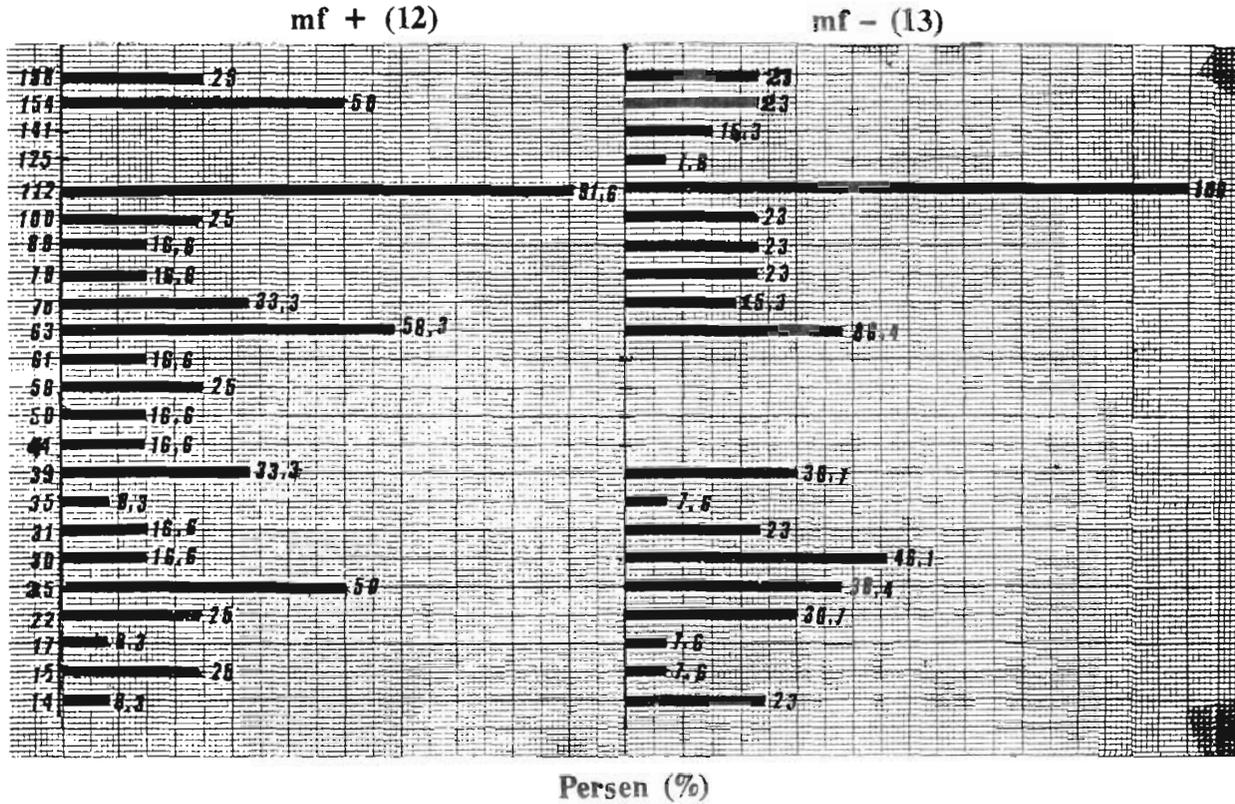
Dari gambar I terlihat bahwa kelompok penderita filariasis amikrofilaremik dan mikrofilaremik mempunyai IgG4 yang mengenal komponen protein mikrofilaria yang sama. Tidak terlihat adanya perbedaan pada pola pengenalan terhadap komponen protein maupun persentase jumlah penderita yang mengenal komponen protein diantara kedua kelompok ini. Demikian pula pola pengenalan IgE pada kelompok amikrofilaremik dan mikrofilaremik tidak terlihat ada perbedaan (gambar II).

Dari gambar III terlihat bahwa IgG4 dan IgE mempunyai pola pengenalan komponen protein mikrofilaria yang sangat mirip; mayoritas komponen protein yang ada dikenal oleh IgG4 sama dengan yang dikenal oleh IgE. Tetapi terlihat komponen protein 125 Kd yang dikenal oleh IgG4 tetapi tidak dikenal oleh IgE; ($P < 0,05$); dan komponen 112 Kd yang dikenal oleh IgE tidak dikenal oleh IgG4 ($P < 0,05$).



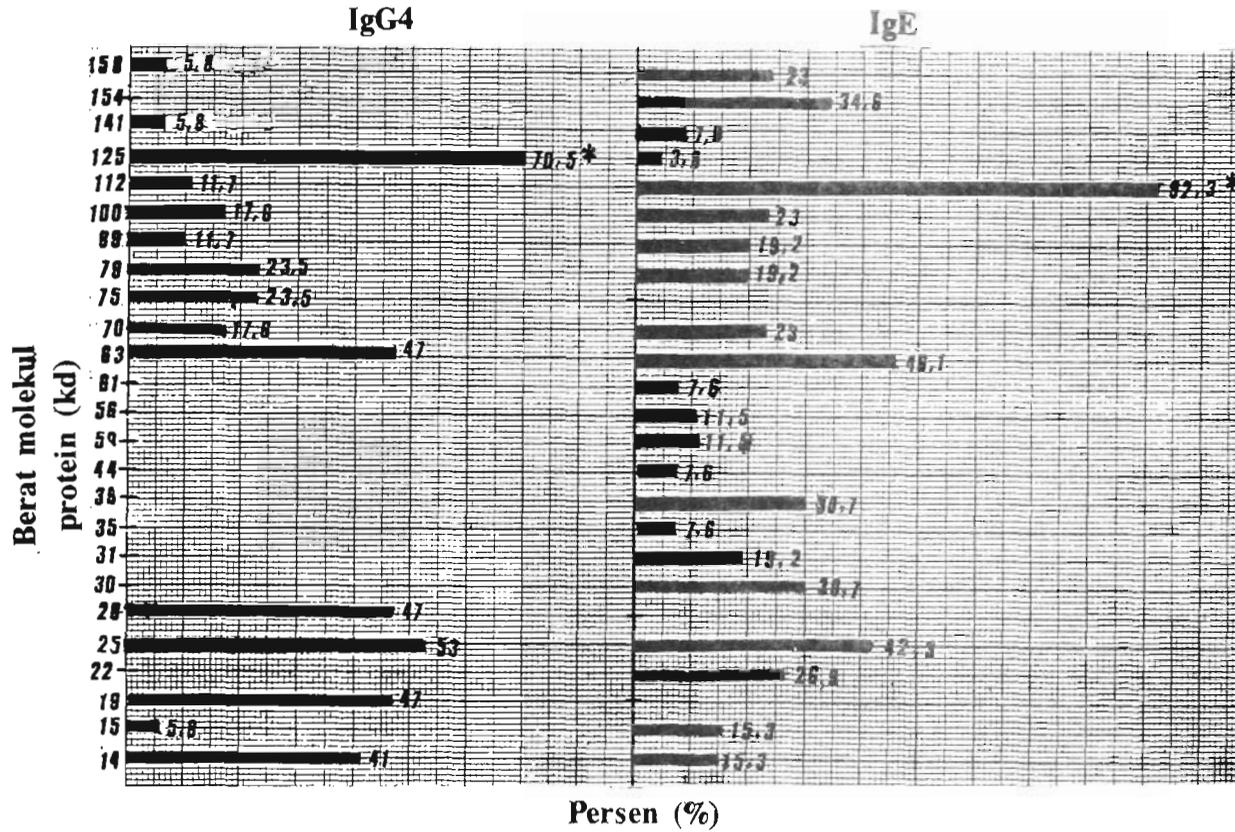
Gambar 1. Komponen Protein mf *B. malayi* yang dikenal oleh : IgG4

Berat molekul protein (kd)



Gambar II. Komponen Protein mf B. malayi yang dikenal oleh : IgE

Gambar II. Komponen Protein mf *B. malayi* yang dikenal oleh : IgE



Gambaran IgG4 dan IgE terhadap Basunder SU elai

Gambar III. Komponen Protein mf *B. malayi* yang dikenal oleh : IgG4 dan IgE

PEMBAHASAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit biasanya erat kaitannya dengan reaksi alergi dan respon IgE. Pada penderita filariasis justru gejala klinis yang berupa reaksi alergi sangat jarang terjadi. Ottesen mengemukakan bahwa hal ini ada hubungannya dengan terdapatnya faktor inhibitor yang terdapat dalam sera penderita filariasis yang dapat mencegah pembebasan histamin; pada sera normal faktor ini tidak ada. Dalam usaha membuktikan teorinya dia telah berhasil menyimpulkan bahwa faktor hambatan ini adalah IgG, karena pengaruh hambatan akan hilang bila IgG di dalam sera penderita filariasis diserap terlebih dahulu dengan antigen spesifiknya.⁽⁸⁾

Penelitian lebih lanjut tentang subkelas antibodi pada filariasis telah diungkapkan, bahwa ternyata IgG4 adalah subkelas IgG yang mempunyai kaitan sangat erat dengan respon IgE; dugaan ini timbul karena telah terbukti bahwa IgG4 ternyata mempunyai kemampuan yang sama dengan IgE, yaitu dapat menempel pada sel basophil seperti IgE. Pada primata IgG4 dan IgE dapat menempel pada mast sel.^(9,10)

Peneliti lain mengemukakan bahwa terdapat kemiripan atau persamaan pola pengenalan komponen protein cacing dewasa filaria antara IgG4 dan IgE.⁽¹¹⁾ Pernyataan ini sangat menunjang kedua teori di atas, bahwa IgG4 dapat mencegah IgE untuk berikatan dengan antigennya. Pernyataan ini konsisten dengan penulisan Ottesen, yaitu jumlah IgG4 pada filariasis dapat meningkat jumlahnya sampai 95% dari total IgG terutama pada

penderita yang mikrofilaremik dan tropical eosinophilia.⁽¹²⁾

Penelitian ini menunjukkan hasil yang sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana komponen protein mikrofilaria yang dikenal oleh IgG4 juga dikenal oleh IgE. Pada tabel I terlihat bahwa komponen protein 61 kd - 30 kd yang dikenal oleh IgE tidak dikenal oleh IgG4, tetapi perbedaan ini secara statistik tidak bermakna. Kecuali untuk komponen 112 kd tidak dikenal oleh IgG4 dan komponen 125 kd yang dikenal oleh IgG4 tidak dikenal oleh IgE.

Menurut Ottesen, sel basophil dan mast sel pada penderita alergi sudah dalam keadaan tersensitisasi dan permukaan sel akan ditemplei oleh IgE, bila IgE ini secara kebetulan bertemu dengan alergennya maka akan terjadilah pembebasan histamin, dan selanjutnya akan timbul gejala alergi.⁽⁸⁾

Berdasarkan teori di atas dapatlah dikemukakan bahwa dengan meningkatnya jumlah IgG4 dalam sera secara spesifik IgG4 ini dapat mengikat komponen protein/antigen yang sama dengan yang dikenal oleh IgE dengan demikian kesempatan IgE untuk bertemu dengan antigennya menjadi sangat jarang, sehingga pembebasan histamin dari sel-sel yang sudah tersensitisasi tidak terjadi; dengan demikian dapatlah dimengerti bila gejala alergi pada penderita filariasis sangat jarang terlihat. Meskipun demikian kemungkinan timbulnya gejala alergi masih dapat terjadi karena tidak semua komponen protein dapat dikenali oleh IgG4 yaitu komponen protein dengan berat molekul 112 kd.

Kesimpulan yang dapat ditarik pada hasil ini adalah : bahwa kehadiran IgG4 pada filariasis adalah sangat penting, karena sangat besar kemungkinannya bahwa IgG4 berperan sebagai penghambat ataupun mengontrol IgE untuk berikatan dengan komponen protein baik itu berasal dari mikrofilaria maupun cacing dewasa, kecuali pada komponen 112 kd dari mikrofilaria IgG4 tidak akan dapat berikatan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Bapak Dr. Suriadi Gunawan DPH, Kepala Puslit Penyakit Menular atas bantuannya sehingga penelitian dan penulisan makalah ini dapat terselenggara; kepada teman-teman staf KPP Bioteknologi Terapan dan staf Bidang Tata Operasional yang telah membantu sepenuhnya dalam penelitian dan penulisan makalah ini.

KEPUSTAKAAN

- Ottesen EA. (1984). Immunological Aspect of Lymphatic Filariasis and Onchocerciasis in man. *Transact of the Royal Trop Med and Hyg* 78:supplement.
- Piessens WF, Mc Greevy PB, Ratiwayanto S, Mc Greevy M, Piessens PW, Koiman I, Saroso JS, Dennis DT. (1980). Immune response In Human Infections with B.malayi correlation of cellular And Humoral Reactions To Microfilarial Antigens with Clinical Status. *Am J Trop Med Hyg* 29 (4) : 563
- Canlas M, Wade A, Lamontagne L, Piessens WF. 1984. A Monoclonal Antibody to surface antigens on microfilaria of B.malayi Reduces microfilaremia in jirds. *A J Trop Med Hyg* 33: 420.
- Kazura JW, Cicirello H, Forsyth K. (1986). Differential Recognition of a protective filarial antigen by antibodies from humans with Bancroftian filariasis. *J of Clin Invest* 77:1985.
- Hussain R, Ottesen E. (1985). IgE Responses in Human filariasis. III Specificities of IgE and IgG antibodies Compared by Immunoblot Analysis. *The J of Immunol* 135 (2): 1415.
- Hussain R, Groggi M, Ottesen E. (1987). IgG Antibody subclasses In Human Filariasis. Differential Subclass Recognition of Parasite Antigens Correlates with Different Clinical Manifestation of Infection. *The J of Immunol* 139 (8) : 2794.
- Utami BS. (1989). Tes Immuno-transblotting dan Aplikasinya. *Medika* 2: 175.
- Ottesen E, Kumaraswami U, Paranjape R, Poindexter RW, Tripathy SP. (1981). Naturally Occuring Blocking Antibodies Modulate Immediate Hypersensitivity Responses In Human Filariasis. *The J of Immunol* 127 (5):2014.
- Vijay HM, and L Perelmutter (1977). Inhibition of Reagin mediated PCA Reactions in monkeys and histamine release from human leucocytes by human IgG4 subclass. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 53:78.
- Stanworth DR and AK Smith (1973). Inhibition of Reagin mediated PCA Reactions in baboons by the human IgG4 subclass. *Clin Allergy* 3:37.
- Hussain R, Ottesen E. (1986). IgE Responses In Human Filariasis. IV Parallel Antigen Recognition by IgE and IgG4 Subclass Antibodies. *The J of Immunol* 136 (5) : 1859.
- Ottesen E, Skvaril F, Tripathy SP, Poindexter RW, Hussain R, (1985). Prominence of IgG4 Antibody To Human Filariasis. *The J of Immunol* 134 (4) : 2707.