

EKSPRESI HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-G, HEAT SHOCK PROTEIN-90, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A DAN KOLAGEN TIPE IV PADA MOLAHIDATIDOSA (SUATU KAJIAN BIOLOGI MOLEKULER MOLAHIDATIDOSA)

Respati, Supriyadi Hari

PROMOTOR : Prof. Dr. Agus Abadi, dr., Sp.OG. (K)

LEUCOCYTE ANTIGEN; HIDATIDIFORM

KKA KK Dis K 51/12 Res e

Copyright© 2010 by Airlangga University Library Surabaya

RINGKASAN

EKSPRESI HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-G, HEAT SHOCK PROTEIN-90, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A DAN KOLAGEN TIPE IV PADA MOLAHIDATIDOSA (SUATU KAJIAN BIOLOGI MOLEKULER MOLAHIDATIDOSA)

Molahidatidosa adalah penyakit trofoblas gestasional (PTG), merupakan kehamilan abnormal yang secara histologik ditandai dengan proliferasi sel trofoblas, villi korialis yang avaskuler dan mengalami degenerasi hidropik. Di Indonesia penyakit trofoblas gestasional masih merupakan masalah pelayanan reproduksi yang besar, karena prevalensi yang tinggi, faktor risiko yang banyak dan penyebaran yang merata. Gambaran demografi negara kita menunjukkan bahwa jumlah wanita dalam masa reproduksi masih sangat banyak.

Patogenesis molahidatidosa sampai saat ini masih belum jelas, antigen leukosit manusia G (HLA-G) adalah gen histokompatibilitas mayor non klasik yang secara normal diekspresikan hanya didalam trofoblas ekstravilli selama kehamilan, antigen ini dianggap sebagai bagian dari *Self*, sehingga tidak memicu respon imunologis ibu terhadap janin. Sedangkan trofoblas ekstravilous menginvasi desidua yang banyak mengandung sel pembunuh alamiah (sel NK). sel NK ini yang melisis sel yang kekurangan molekul antigen HLA-G. Ekspresi HLA-G dapat memberikan penjelasan mengapa trofoblas tidak diserang sel NK pada ibu. HLA-G dapat menyebabkan inaktivasi NK sel, HLA-G melindungi trofoblas dari lisis sel yang disebabkan oleh NK sel. Apabila HLA-G menurun aktifitas NK sel akan meningkat, adanya aktifitas NK sel tersebut mengakibatkan sel trofoblas mengalami stres sehingga ada beberapa protein yang mengalami perubahan. Untuk melindungi protein tersebut maka sel trofoblas mensintesis protein stres yaitu Hsp-90. Pada sebagian sel yang mengalami kematian Hsp-90 yang berada di dalamnya akan terlepas keluar, kemudian Hsp-90 tersebut ditangkap oleh TLR-4 pada permukaan sel makrofag, didalam makrofag terjadi signal transduksi yaitu peningkatan aktifitas enzim protein kinase, enzim ini memicu faktor transkripsi sehingga di bentuklah sitokin seperti : IL-6; IL-1 dan TNF- α . Hal ini akan memicu makrofag lainnya, sehingga makrofag tersebut mensekresikan TGF- β yang akan merangsang fibroblast untuk mensintesis kolagen IV. Pada jalur yang berbeda trofoblas yang mengalami proliferasi akan mengaktifkan enzim 15-hidroksi-prostaglandin dehidrogenase (15-OH-PGDH), sehingga enzim ini mendegradasi prostaglandin. Rendahnya prostaglandin tersebut akan menghambat proses angiopoitin, sehingga terjadi penurunan pembentukan VEGF-A mengakibatkan terjadi gangguan angiogenesis. Tujuan penelitian ini adalah mengungkap patogenesis molahidatidosa dengan menganalisis ekspresi HLA-G, Hsp-90, VEGF-A dan Kolagen-IV pada trofoblas molahidatidosa, juga kadar Hsp-90, VEGF-A dan Kolagen-IV pada serum molahidatidosa. Hasil penelitian dengan menggunakan uji t didapatkan hasil pada molahidatidosa ekspresi HLA-G lebih rendah dari kehamilan normal ($p < 0,05$), hal ini menyebabkan trofoblas yang terbentuk akan dianggap sebagai *non self*, sehingga trofoblas

dirusak oleh sistem imun seluler, yang diperankan oleh sel NK. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya stres sel pada trofoblas sehingga dikeluarkan Hsp-90 yang menyebabkan ekspresi Hsp-90 lebih tinggi pada molahidatidosa dibanding kehamilan normal ($p < 0,05$), hal ini juga menyebabkan peningkatan ekspresi kolagen-IV dibanding kehamilan normal ($p < 0,05$). Kerusakan sel yang terjadi juga menyebabkan proliferasi yang berlebihan pada trofoblas, akan mengaktifkan enzim 15 hidroksi prostaglandin dehidrogenase (15-OH-PGDH) yang berefek turunya ekspresi VEGF-A pada molahidatidosa dibanding kehamilan aterm normal. Hasil penelitian pada serum kadar Hsp-90 dan Kolagen-IV lebih tinggi pada molahidatidosa dibanding kehamilan normal ($p < 0,05$), sedang VEGF-A tidak ada perbedaan antara molahidatidosa dengan kehamilan normal ($p > 0,05$). Dengan menggunakan analisis regresi ada hubungan kausatif antara ekspresi HLA-G yang rendah dengan peningkatan ekspresi Hsp-90, peningkatan ekspresi Kolagen-IV dan penurunan ekspresi VEGF-A ($p < 0,05$). Pada serum juga didapatkan hubungan kausatif antara peningkatan kadar Hsp-90 dengan peningkatan kadar Kolagen-IV ($p < 0,05$). Untuk mencari *marker* molahidatidosa hanya Hsp-90 saja yang bisa dijadikan *marker* molahidatidosa dengan nilai *cut off point* 47,69 ng/ml didapatkan angka ketepatan prediksi sebesar 70,0% berarti cukup layak digunakan sebagai *marker*.

SUMMARY

EXPRESSION OF HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-G, HEAT SHOCK PROTEIN-90, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A AND COLLAGEN TYPE IV IN HIDATIDIFORM MOLE. (MOLECULAR BIOLOGICAL STUDY OF HIDATIDIFORM MOLE)

Hidatidiform mole is a gestational trophoblastic disease (GTD), an abnormal pregnancy characterized by proliferation of trophoblastic cells, avascular chorionic villi, and underwent hydropic degeneration. Gestational trophoblastic disease in Indonesia still pose as a great reproductive health problem, with its high prevalence, numerous risk factor, and its even distribution. Demographic profile in our country showed high number of women in their reproductive age.

The pathogenesis of hidatidiform mole is still unclear. Human Leukocyte Antigen G (HLA-G) is a non-classic major histocompatibility gene that is expressed only inside the extra villous trophoblast during the duration of pregnancy, which is considered as self, and thus doesn't trigger maternal immunologic response to the fetus. This extra villous trophoblast invades the decidua that contains large number of natural killer cells (NK-cell). The same NK-cell lyses cells that lacks antigen molecule HLA-G. the expression of HLA-G can hold the key to why the trophoblast is not attacked by maternal NK-cells. HLA-G can cause inactivation of NK-cell, and thus protects the trophoblast from NK-cell induced lyses.

NK cell activity increases as the expression of HLA-G decreases. The increase of NK cell activity will induce stress to the trophoblast, which in turn, induce changes to some proteins. In response to these, the trophoblast would synthesize a stress protein, called the Hsp-90, to protect the aforementioned proteins. Cells that underwent apoptosis will release this Hsp-90, which will be captured by TLR-4 on the macrophage surface. This process will trigger a transduction signal inside the macrophage that causes an increase protein kinases enzyme activity, that triggers transcription factors for the production of cytokines like the IL-6, IL-8, IL-1, and TNF- α . This cascade of events will trigger other macrophages to secrete TGF- β , which will induce fibroblast to synthesize Collagen-IV.

In a different path, proliferated trophoblasts will activate 15-hydroxy prostaglandin-dehydrogenase (15-OH-PGDH), enzyme to degrade prostaglandin. The decrease of

prostaglandin will inhibit the angiopoetin process, and cause the decrease of VEGF-A formation, which will interfere with the angiogenesis process.

By using t-test, result of this study showed that hidatidiform mole expressed less HLA-G compared with normal pregnancies ($p < 0.05$). this would cause the formed trophoblast to be considered as a non self element, and thus attacked by the cellular immunity system, a process led by the NK cells. This would induce a cellular stress in the trophoblast, which caused the release of Hsp-90 protein. This was proven by higher Hsp-90 expression in mole, compared to normal pregnancy ($p < 0.05$). This too caused an increase of type IV Collagen compared to normal pregnancy. The resulting cell damage causes a redundant proliferation of the trophoblast, which activated the 15-hydroxy-prostaglandin- dehydrogenase (15-OH-PGDH) enzyme that resulted in the decrease of VEGF-A expression in mole, compared to normal pregnancy. Result of this study showed an increase of Hsp-90 and type-IV collagen serum level in mole, compared to normal pregnancy ($p < 0.05$), while we observed no difference in VEGF-A level ($p > 0.05$). Using a regression analysis model, we found a causative relationship between the low expression of HLA-G with the increase in Hsp-90 and type-IV Collagen expression, and the decrease of VEGF-A expression. We also found a causative relationship between the increase in Hsp-90 and type-IV collagen expression in the serum. ($p < 0.05$). As for finding a predictor for hydatidiform mole, we found that only Hsp-90 can be used as a marker, with a cut off point of 47.69 ng/ml, and an accuracy of 70.0%.

ABSTRAK

EKSPRESI HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-G, HEAT SHOCK PROTEIN-90, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A DAN KOLAGEN TIPE IV PADA MOLAHIDATIDOSA (SUATU KAJIAN BIOLOGI MOLEKULER MOLAHIDATIDOSA)

Molahidatidosa adalah penyakit trofoblas gestasional (PTG) dan merupakan kehamilan abnormal yang secara histologik ditandai dengan proliferasi sel trofoblas, villi korialis yang avaskuler dan mengalami degenerasi hidropik. Di Indonesia penyakit trofoblas gestasional masih merupakan masalah pelayanan reproduksi yang besar, karena prevalensi yang tinggi, faktor risiko yang banyak dan penyebaran yang merata.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi protein HLA-G, Hsp-90, VEGF-A dan Kolagen-IV di trofoblas dan serum pada molahidatidosa dan kehamilan normal. Disamping itu juga bertujuan menganalisis adakah hubungan kausatif adanya penurunan ekspresi HLA-G terhadap peningkatan ekspresi Hsp-90 dan Kolagen-IV serta penurunan ekspresi VEGF-A pada molahidatidosa.

Rancangan penelitian: Penelitian ini adalah penelitian Observasional Analitik dengan rancangan *Cross Sectional*. Subyek yang telah memenuhi kriteria sampel dilakukan pemeriksaan imunohistokimia HLA-G, Hsp-90, VEGF-A dan Kolagen tipe-IV dan pemeriksaan Elisa Hsp-90, VEGF-A dan Kolagen tipe-IV dan sebagai kontrol dilakukan pemeriksaan serupa yang diambil dari plasenta kehamilan normal.

Hasil: Pemeriksaan imunohistokimia ekspresi HLA-G pada trofoblas molahidatidosa lebih rendah, Hsp-90 lebih tinggi, VEGF-A lebih rendah dan Kolagen-IV lebih tinggi dibanding pada trofoblas plasenta kehamilan normal ($p < 0,05$). Pada pemeriksaan Elisa kadar Hsp-90 dan Kolagen-IV pada molahidatidosa lebih tinggi dibanding pada kehamilan normal ($P < 0,05$), sedang kadar VEGF-A lebih rendah tidak terbukti ($p > 0,05$). Sebagai *marker* molahidatidosa Hsp-90 mempunyai tingkat prediksinya sebesar 70%.

Kesimpulan: HLA-G yang rendah pada trofoblas merupakan patogenesis molahidatidosa. Hsp-90 dapat digunakan sebagai *marker* molahidatidosa dengan tingkat prediksi 70%.

Kata Kunci: Molahidatidosa, HLA-G, Hsp-90, VEGF-A, Kolagen-IV.

ABSTRACT

EXPRESSION OF HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN-G, HEAT SHOCK PROTEIN-90, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A AND COLLAGEN TYPE IV IN HIDATIDIFORM MOLE. (MOLECULAR BIOLOGICAL STUDY OF HIDATIDIFORM MOLE)

Background: Hidatidiform mole is a gestational trophoblastic disease (GTD), an abnormal pregnancy characterized by proliferation of trophoblastic cells, avascular chorialis villi, and underwent hydropic degeneration. Gestational trophoblastic diseases in Indonesia still pose as a great reproductive health problem, with its high prevalence, numerous risk factors, and smooth distribution.

Objective: The aim of this study is to analyze the expression of HLA-G, Hsp-90, VEGF-A and type-IV collagen in the trophoblast and serum of patients with hydatidiform mole, and normal pregnancy. We aimed to analyze the possibility of causative relationship between the decrease in HLA-G expression, and the increase of Hsp-90 and type IV collagen expression, and the decrease of VEGF-A expression in hydatidiform mole.

Design: This is an observational analytic study with a cross sectional design. Subjects that fulfill our sample criterion were subjected to HLA-G, Hsp-90, VEGF-A and type-IV collagen immunohistochemical examination, and ELISA study for the same proteins. Control for this study was taken from placentas of normal pregnancies.

Result: Our immunohistochemical examination found out that a lower HLA-G, higher Hsp-90, lower VEGF-A and higher type IV collagen expression in samples from hydatidiform mole, compared with trophoblast in placenta normal pregnancies ($p < 0.05$). Using ELISA method, we found higher levels of Hsp-90 and type IV collagen in hydatidiform mole, compared with normal pregnancy ($p < 0.05$), while the decrease of VEGF-A was not established ($p < 0.05$). The Hsp-90 was found to be a marker for hydatidiform mole with a predictive value is 70.0%.

Conclusions: the low HLA-G in trophoblast is the pathogenesis of hydatidiform mole. Hsp-90 can be used as a hydatidiform mole marker, with a prediction value is 70%.

Keywords: Hydatidiform mole, HLA-G, Hsp-90, VEGF-A, Collagen type IV