

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory)
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rustadi Sosrosumihardjo, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, FM. Judajana, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Noormartany, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrin, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, JB. Soeparyatmo, M. Yolanda Probohoehsodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.
Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com

Akreditasi No. 66/DIKTI/KEP/2011

**INDONESIAN JOURNAL OF
CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Perbedaan Kolagen IV di Kerusakan Hati dan Infeksi Hepatitis C di Pasien Talasemia dengan Kelebihan Zat Besi (<i>Difference of Collagen IV in Liver Damage and Hepatitis C Infection in Iron Overload Thalassemia Patients</i>)	1-8
Nuri Dyah Indrasari, Ina Susanti Timan, Pustika Amalia	1-8
Pemeriksaan Tingkat sdLDL Serum Sebagai Petanda Diagnostik Stenosis Koroner (<i>Serum sdLDL Level as A Diagnostic Marker of Coronary Stenosis</i>)	9-15
Indranila K. Samsuria, Laily Adninta	9-15
Hubungan Glycated Albumin dengan Angka Banding Kolesterol LDL/HDL di Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Association of Glycated Albumin with LDL/HDL Cholesterol Ratio in Type 2 Diabetics</i>)	16-21
Tiwik Eriskawati, Tahono, M.I. Diah. P	16-21
Deteksi Clostridium Difficile Toksigenik Menggunakan Uji Cepat Toksin dan Real Time Polymerase Chain Reaction (<i>Toxigenic Clostridium Difficile Detection Using Toxin Rapid Test and Real Time Polymerase Chain Reaction</i>)	22-26
Ika Yasma Yanti, Dalima Ari Wahono Astrawinata	22-26
Kloning dan Overekspresso Protein P24-Gag HIV (<i>Cloning and Overexpression P24-Gag of HIV</i>)	27-33
Efrida, Andani Eka Putra	27-33
Analisis Kadar Serum Feritin di Karsinoma Payudara (<i>Analysis of Feritin Levels in Carcinoma Mammapa</i>)	34-37
Sriwati Atjo, Uleng Bahrun, Hardjoeno	34-37
Turnaround Time Uji Cocok Serasi di Pelayanan Bank Darah (<i>Turnaround Time Cross Match in the Blood Bank</i>)	38-41
Glent Nurtanio, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	38-41
FcγII (CD32) Monosit di Infeksi Dengue Primer dan Sekunder { <i>FcγRII (CD32) Monocytes in Primary and Secondary Dengue Infection</i> }	42-47
Umi S. Intansari, Usi Sukorini, Shanti Ika Sari	42-47
Kesahihan Pemeriksaan Complex Specific Cocktail Antigen Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Metode Cepat Immunochromatography pada Cairan Serebrospinal Pasien Meningitis Tuberkulosis { <i>Validity of Rapid Immunochromatography Complex Specific Cocktail Antigen Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Using Cerebrospinal Fluid of Tuberculous Meningitis Patient</i> }	48-54
Livia Noviani, Ida Parwati, Ganiem AR, Turbawati DK	48-54

Kenasaban Kadar 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) Serum dengan Derajat Defisit Neurologis pada Strok Iskemik (<i>Correlation of Serum 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) with Neurological Deficits in Ischemic Stroke</i>)	55–59
Liza, Ida Parwati, Andi Basuki Prima Birawa, Sylvia Rachmayati	
LDL Teroksidasi dan Kepadatan Mineral Tulang (<i>Oxidized LDL Cholesterol and Bone Mineral Density</i>)	60–64
Sheila Febriana, Yurdiansyah, Siti Rafiah, Ruland DN Pakasi, Uleng Bahrun	
Perbedaan Kadar Prolylcarboxypeptidase di Pasien Sindrom Koroner Akut dengan Pasien Angina Stabil (<i>The Difference of Prolylcarboxypeptidase Level in Acute Coronary Syndrom and Stable Angina Patient</i>)	65–71
Maenaka Smaratungga, Rita C, Indrati AR, Martha JW	
Analisis Feritin dan AST to Platelet Ratio Index sebagai Petanda Derajat Fibrosis Penyakit Hati Kronis (<i>Analysis Ferritin and AST to Platelet Ratio Index As A Marker Degree of Fibrosis Chronic Liver Disease</i>)	72–76
Yulianti Yasin, Uleng Bahrun, Ibrahim Abdul Samad	
Neopterin dan Peroksida Serum Sebagai Petanda Makrofag Teraktivasi pada Tuberkulosis Paru Aktif dan Individu Berkebahanayaan Tinggi (<i>Serum Neopterin and Peroxide As Marker of Activated Macrophages on Active Pulmonary Tuberculosis and Individuals at High Risk</i>)	77–81
I Nyoman Wande, Ni Made Linawati, I Made Bagiada, IWP. Sutirta Yasa, AAN. Subawa	
Indeks Aterogenik Plasma di Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Atherogenic Index of Plasma in Type 2 Diabetes Mellitus</i>)	82–86
Amarensi M Betaubun, Nurahmi, Uleng Bahrun, Ruland Pakasi	
Nitrit Oksida dan Volume Edema Otak pada Strok Perdarahan dalam Otak dengan Polimorfisme G894T (<i>Nitrit Oxide and Cerebral Edema Volume in Intracerebral Hemorrhagic Strok with G894T Polymorphism</i>)	87–91
Iskandar Zakaria, Arif Faisal, Sri Sutarni, Ahmad Hamim Sadewa, Imran	
TELAAH PUSTAKA	
Fungsi dan Pemeriksaan Limfosit T $\gamma\delta$ (<i>Functions and Examination of $\gamma\delta$T lymphocytes</i>)	92–98
Yulia Nadar Indrasari, Jusak Nugraha	
LAPORAN KASUS	
Mieloma Multipel Nonsecretory (<i>Nonsecretory Multiple Myeloma</i>)	99–103
Maimun Zulhaidah Arthamin, Nyi R. Wahidah, Boy A. Sihite	
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	104

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol 22 No. 1 November 2015

Purwanto AP, AAG. Sudewa, Rismawati Yaswir, July Kumalawati, Sidarti Soehita, Ninik Sukartini,
Maimun Z. Arthamin, Rustadi Sosrosumihardjo, Tahono, Prihatini, Jusak Nugraha, Aryati,
Kusworini Handono, Endang Retnowati, Edy Widjajanto, FM. Judajana

FUNGSI DAN PEMERIKSAAN LIMFOSIT $\gamma\delta$ T

(*Functions and Examination of $\gamma\delta$ T lymphocytes*)

Yulia Nadar Indrasari, Jusak Nugraha

ABSTRACT

T lymphocytes most have TCR α and β chains. However, TCR formed from γ and δ chains determine a new subset of T lymphocytes. $\gamma\delta$ T lymphocytes have several innate cell-like features that allow their early activation following the recognition of conserved stress-induced ligands. $\gamma\delta$ T lymphocytes able to rapidly produce cytokines that regulate pathogen clearance, inflammation and tissue homeostasis in response to tissue stress. They are capable of generating more unique antigen receptors than $\gamma\delta$ T lymphocytes and B lymphocytes combined, yet their repertoire of antigen receptors is dominated by specific subsets that recognize a limited number of antigens. A variety of sometimes conflicting effector functions have been ascribed to them, yet their biological functions remain unclear. Innate features of $\gamma\delta$ T lymphocytes underlie their non-redundant role in several physiopathological contexts and are therefore being exploited in the design of new immunotherapeutic approaches. The purpose of writing is giving an overview in mainly functions of $\gamma\delta$ T lymphocytes in the immune system and laboratory tests that expand knowledge about the introduction of $\gamma\delta$ T lymphocytes.

Key words: Gamma delta T lymphocytes, innate cell, cytokine

ABSTRAK

Limfosit T paling banyak memiliki TCR rantai α dan β . Namun, TCR yang dibentuk dari rantai γ dan δ menentukan subset limfosit T baru. TCR $\gamma\delta$ khusus untuk berbagai jenis ligan, termasuk: fosfoantigen bakteri, molekul MHC-I nonklasik dan protein yang tidak terproses. Limfosit T $\gamma\delta$ memiliki beberapa bentuk menyerupai sel imun alamiah yang memungkinkan aktivasi dini setelah pengenalan ligan yang terimbas oleh stres. Limfosit T $\gamma\delta$ dapat menghasilkan sitokin yang mengatur penyingkiran patogen, inflamasi dan homeostasis jaringan secara cepat sebagai respons terhadap stres jaringan serta mampu menghasilkan reseptor antigen lebih khusus dibandingkan dengan gabungan limfosit T $\gamma\delta$ dan limfosit B, tetapi kelompok reseptor antigen dikuasai oleh subset yang khas dan mampu mengenali sejumlah antigen. Fungsi biologis limfosit T $\gamma\delta$ masih belum jelas. Bentuk alami limfosit T $\gamma\delta$ mendasari perannya dalam tautan fisiopatologis dan oleh karena itu masih terus diteliti dalam pendekatan imunoterapi yang baru. Tujuan penulisan adalah memberikan gambaran tentang limfosit T $\gamma\delta$ terutama fungsinya dalam sistem imun dan pemeriksaan laboratorium sehingga memperluas wawasan tentang pengenalan limfosit T $\gamma\delta$.

Kata kunci: Limfosit T gamma delta, sel imun alamiah, sitokin

PENDAHULUAN

Limfosit T dibagi menjadi dua (2) sub populasi yang masing-masing mengandung rantai *T cell receptor* (TCR) yang disandi oleh lokus gen α dan β atau γ dan δ . Penggolongan sel limfosit T tersebut disebut limfosit T $\alpha\beta$ dan limfosit T $\gamma\delta$.^{1,4,10}

Limfosit T $\gamma\delta$ memiliki beberapa bentuk menyerupai sel imun alami yang memungkinkan aktivasi awal limfosit T $\gamma\delta$ setelah pengenalan rangsangan melalui ligan tertentu.^{2,10}

Limfosit T memiliki molekul heterodimer di permukaan, yaitu reseptor limfosit T (*T cell receptor/ TCR*), yang berfungsi untuk mengenali antigen khusus yang dipresentasikan oleh molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) dan melakukan respons imun yang adaptif. Limfosit T paling banyak memiliki TCR rantai α dan β . Namun, TCR yang dibentuk dari rantai γ dan δ menentukan subset limfosit T baru. TCR $\gamma\delta$ khusus untuk berbagai jenis ligan, termasuk fosfoantigen bakteri, molekul MHC-I nonklasik dan protein yang tidak terproses.^{3,11}

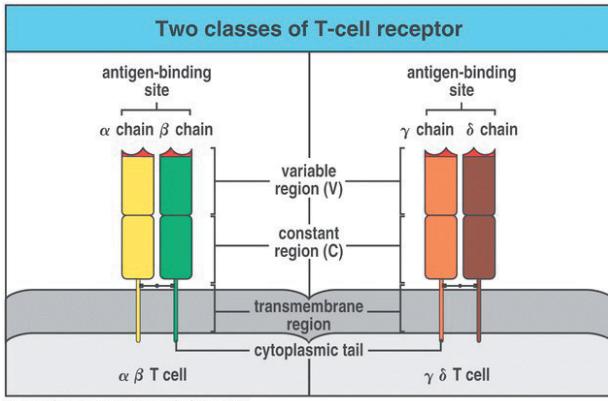


Figure 3-7 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Gambar 1. Dua kelas TCR, limfosit T $\alpha\beta$ yang terdiri dari rantai α dan β ; limfosit T $\gamma\delta$ (rantai γ dan δ).⁴

Kajian oleh Allison *et al.*¹⁰ menemukan bahwa TCR didapatkan pertama kali pada awal tahun 1980-an sebagai *mouse T cell lymphoma surface Ag* yang tersusun atas dua ikatan rantai bisulfida. Limfosit T $\gamma\delta$ banyak ditemukan dalam jaringan mukosa. Beberapa pengamatan menunjukkan bahwa limfosit T $\gamma\delta$ mengenali satu set antigen khusus dan berperan penting dalam berbagai respons imun dan homeostasis sel.^{1,3}

LIMFOSIT T $\gamma\delta$ (SEBARAN, MORFOLOGI DAN FENOTIPE)

Limfosit T $\gamma\delta$ mirip dengan limfosit T nonkonvensional lain, yaitu mengenali antigen nonpeptida yang diatur oleh sel stres, sebaran dan ekspresinya menyerupai *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs) atau *Danger Associated Molecular Patterns* (DAMPs) yang dikenali oleh PRR.²

Tabel 1. Kekerapan dan penyebaran limfosit T $\gamma\delta$.²

Spesies	Lokasi perifer	Penggunaan segmen V gene predominan	Diversitas V(D)J
Mencit	Timus dewasa	Beragam	Tinggi
	Limpa	V γ 1 dan V γ 4	Tinggi
	Limfonodus	Beragam	Tinggi
	Epidermis	V γ 5V δ 1	Invariante
	Hati	V γ 1V δ 6.3, V γ 4 dan V γ 6	Intermediate
	Epitel usus	V γ 7V δ 4, V γ 7V δ 5 dan V γ 7V δ 6	Intermediate
	Epitel uterovagina	V γ 6V δ 1	Invariante
Manusia	Epitel paru	V γ 4 dan V γ 6	Intermediate
	Timus	V δ 1	Tinggi
	Darah tepi	V γ 9V δ 2	Intermediate
	Limpa	V δ 1	Tinggi
	Hati	V δ 1 dan V δ 3	Tinggi
	Epitel usus	V δ 1 dan V δ 3	Tinggi
	Dermis	V δ 1	Tinggi

Limfosit T $\gamma\delta$ memiliki fenotipe preaktivasi yang berhubungan dengan upregulasi petanda memori di awal perkembangan. Status preaktivasi ini memungkinkan imbasan fungsi efektor secara cepat setelah deteksi stres jaringan. Limfosit T $\gamma\delta$ terkait erat dengan TCR $\gamma\delta$ di jaringan tertentu, tetapi berbeda dalam pengenalan antigennya (lihat Tabel 1).²

Peran fisiologis limfosit T $\gamma\delta$ termasuk pertahanan dan perlindungan terhadap penyakit intrasel dan ekstrasel, tumor surveilans, modulasi respons imun alami dan adaptif, penyembuhan jaringan dan perawatan sel epitel dan pengaturan fungsi organ tubuh secara fisiologis.²

Penyebaran

Usia dan riwayat imunologis (riwayat infeksi) di individu merupakan dua faktor penting yang sangat mempengaruhi penyebaran limfosit T $\gamma\delta$ di jaringan tertentu. Limfosit T $\gamma\delta$ terdapat antara sekitar 1–5% dari seluruh limfosit T dalam darah tepi manusia sehat dan terbanyak 3% dari limfosit T di limpa dan kelenjar getah bening mencit sehat. Fraksi limfosit T yang mengekspresikan TCR $\gamma\delta$ sangat meningkat di epitel yang terpajan lingkungan luar secara langsung.¹

Limfosit T $\gamma\delta$ muncul sebelum limfosit T $\alpha\beta$ selama ontogeni timus dan predominan pada awal tahap perkembangan janin (hari ke-14 sampai hari ke-18 setelah pembuahan/konsepsi dalam mencit). Limfosit T $\gamma\delta$ membuat fraksi kecil di timosit mencit dan manusia serta limfosit T di limpa, kelenjar getah bening dan darah tepi setelah kelahiran, tetapi banyak ditemukan dalam jaringan epitel, seperti epidermis dan mukosa saluran pencernaan serta reproduksi. Mirip dengan reseptor limfosit B dan reseptor limfosit T $\alpha\beta$ (TCR $\alpha\beta$), TCR $\gamma\delta$ dihasilkan dari pengaturan ulang somatik segmen gen V (variable), D (diversity) dan J (joining). Di Tabel 1 ditunjukkan subset limfosit T $\gamma\delta$ invarian

berasal dari janin timosit $\gamma\delta$, tidak seperti subset perifer yang mengekspresikan TCR $\gamma\delta$ lebih beragam.^{2,6}

Morfologi

Limfosit $T\gamma\delta$ yang matur tidak dapat dibedakan dari limfosit B atau limfosit $T\alpha\beta$ di darah tepi, limpa dan kelenjar getah bening dengan pewarnaan Giemsa atau May-Grunwald. Sel ini secara morfologis, sering terlihat bulat dan halus, diameter $\pm 7-12 \mu\text{m}$, nukleus sentral mengelilingi kromatin, tampak memadat dikelilingi sitoplasma sedikit berwarna biru muda dalam kondisi istirahat. Ketika sel ini teraktivasi dalam *in vitro* atau terjadi infeksi mikroba atau virus. Limfosit $T\gamma\delta$ muncul seperti limfosit $T\alpha\beta$ dan teraktivasi, cukup besar dengan bentuk granuler dan lebih tidak teratur.¹

Fenotip

Rantai TCR γ dan δ , secara definisi merupakan petanda yang paling dipercaya pada identifikasi dan isolasi limfosit $T\gamma\delta$. Permukaan limfosit $T\gamma\delta$ mengangkut satu set molekul permukaan dalam jumlah besar yang ekspresinya dapat dideteksi secara *flow cytometry* dengan berbagai tanda antibodi monoklonal.¹

Limfosit $T\gamma\delta$ banyak yang tidak memiliki koreseptor CD4 atau CD8, yang mencerminkan reaktivitas penting terhadap MHC-unrelated ligands. Ekspresi CD8 $\alpha\alpha$ homodimer oleh limfosit $T\gamma\delta$ dalam epitel usus mungkin disebabkan karena perangsangan dalam *in vivo* yang kronis. Ekspresi CD8 homodimer tidak seperti CD8 heterodimer, dapat diimbangi di berbagai sel limfoid, termasuk limfosit $T\gamma\delta$ dan sel NK, setelah aktivasi secara *in vitro*. Limfosit $T\gamma\delta$ CD8 yang didapatkan secara *ex vivo* menunjukkan beberapa bentuk fenotip dan fungsi preaktivasi/limfosit T memori seperti CD25 atau CD45RO.¹

ONTOGENI LIMFOSIT $T\gamma\delta$

Segi utama perkembangan limfosit $T\gamma\delta$ masih belum jelas sampai saat ini, begitu juga mekanisme perbedaan ekspresi segmen $V\gamma$ dan $V\delta$ di timus.³

Dua subset utama yang predominan di manusia adalah $V\gamma9V\delta2$ dan $V\gamma1V\delta2$. $V\gamma9$ yang meningkat 25% dari jumlah keseluruhan limfosit $T\gamma\delta$ dalam darah tali pusat hingga sekitar 70% dalam darah manusia dewasa. Pada saat yang bersamaan, perbandingan $V\gamma1$ turun dari 50% hingga mencapai <30%. Sebagian besar $V\gamma9$ memiliki memori fenotipe CD45RO yang aktif, akibat rangsangan ligan TCR $V\gamma9V\delta2$, seperti komponen antigen mycobacteria (*nonproteinaceous phosphate-bearing antigenic components*), *Plasmodium falciparum*, superantigen *staphylococcal enterotoxin A*.⁷

Perkembangan di Timus

Pengaturan ulang gen TCR δ di manusia, pertama kali dapat dideteksi pada saat minggu ke-9 masa kehamilan. Pada timus dewasa, terdapat ‘tombol’ menuju menghasilkan limfosit $T\gamma\delta$ yang memiliki segmen $V\gamma2$, $V\gamma1.1$ dan $V\gamma1.2$ dengan beragam sekuen ikatan yang akan berpindah ke organ tubuh limfoid sekunder. Namun, beberapa subset limfosit T matur memiliki TCR invarian yang muncul di awal janin timus. Di mencit dewasa, hampir antara 50–90% limfosit $T\gamma\delta$ dalam darah tepi berupa limfosit $TV\gamma9+V\delta2+$, sedangkan di manusia dewasa angka ini mencapai 98%.^{3,12}

Perkembangan limfosit T di timus memerlukan tiga (3) proses memilih untuk memastikan bahwa limfosit T matur dapat berfungsi dan tidak otoreaktif, yaitu melalui proses memilih β , positif dan yang negatif.^{3,12}

Pemilihan β merupakan faktor penting dalam penentuan limfosit $T\alpha\beta$ atau limfosit $T\gamma\delta$. Selama

Tabel 2. Perbandingan antara limfosit $T\alpha\beta$ dan limfosit $T\gamma\delta$ mencit.⁶

Ciri khas	limfosit $T\alpha\beta$	limfosit $T\gamma\delta$
Fenotip CD4 dan CD8	Subset utama berdasarkan ekspresi CD4 atau CD8	Predominan CD4-CD8- (<i>double-negative</i>); murine Intestinal IELs CD8 $\alpha\alpha$ +
Tipe antigen dan presentasi	Antigen peptida dalam alur MHC-I atau -II; responsutama memerlukan APC	Identifikasi ligan TCR tidak lengkap; β_2 <i>microglobulin independent</i> ; beberapa subset mengenali molekul MHC-Ib
Fungsi T <i>helper</i>	Predominan CD4+; profil sitokin T <i>helper</i> 1 dan 2	Profil sitokin T <i>helper</i> 1 dan 2
Fungsi T sitotoksik	Predominan CD8+; hasil perforin/granzim, <i>Fas ligand</i> - dan <i>NKG2D-mediated</i>	Beberapa subset menggunakan mekanisme yang sama
Fungsi T <i>reg</i>	Beberapa subset T <i>reg</i> termasuk sel CD4+CD25+	Berperan dalam subset murine $V\gamma5^+$ DETCs dan $V\gamma1^+$ manusia
Diversitas TCR junctional	Relatif luas	Relatif terbatas, terutama populasi IEL

pemilihan β , timosit CD4-CD8- DN3 dihasilkan di kapsul timus melalui V(D)J gabungan ulang untuk menghasilkan rantai TCR β yang berfungsi. Di samping itu, CD3 dan PTCRA, yang menyandi rantai pra-TCR α , juga diekspresikan. Penyusunan komponen yang benar di permukaan sel akan membentuk pra-TCR yang berfungsi, melalui program pengembangan yang nanti akan menekan TCR β pada penggabungan ulang, menjaga klonalitas TCR dan mengaktifkan ekspresi CD4 dan CD8 secara bersamaan. Pemilihan β tidak berlangsung dalam prekursor limfosit $\gamma\delta$. Di samping itu, maturasi ke tahap timosit Double Positive (DP) disertai dengan *down regulation* ekspresi TCR γ dan TCR δ , bersama dengan aktivasi TCR α .^{3,12}

Pada tahap pemilihan β , timosit Double Negative (DN) harus mengekspresikan TCR $\gamma\delta$ atau pra-TCR, yaitu isyarat TCR $\gamma\delta$ menjadi lebih kuat dibandingkan dengan isyarat pra-TCR. Dengan demikian dapat mengarahkan $\gamma\delta$ TCR $^+$ DN progenitors ke dalam lineage limfosit $\gamma\delta$. Pengaturan atau penyusunan gen TCR muncul secara berurutan, yaitu lokus TCR γ , δ dan β disusun pertama kali, kemudian diikuti lokus TCR α pada hari berikutnya.^{1,3} Selama perkembangan limfosit $\gamma\delta$ dalam timus, timosit $\alpha\beta$ melalui beberapa ‘pos pemeriksaan’ yang memungkinkan *selective survival* dan ekspansi sel, sehingga dapat melewati tahap maturasi dan penyingkiran hingga selesai. Limfosit $\gamma\delta$ sebagai pengendali epigenetik yang rumit masih menjadi perdebatan sampai saat ini. Limfosit $\gamma\delta$ tidak melalui DP tingkat tertentu dan tidak menerima isyarat maturasi lewat struktur seperti pra-TCR. Limfosit $\gamma\delta$ seperti limfosit T $\alpha\beta$ melalui proses memilih positif dan negatif.¹

Perkembangan Ekstra Timus

Perkembangan limfosit $\gamma\delta$ bergantung timus, berbeda dengan limfosit T $\alpha\beta$. Piliero *et al.*³ menyatakan bahwa pasien *complete DiGeorge syndrome* mengalami hipoplasia timus berat dan tidak memiliki limfosit T $\alpha\beta$ di usia muda, tetapi mereka memiliki limfosit T $\gamma\delta$ yang normal. Wucherpfennig *et al.*³ menyatakan bahwa klon limfosit $\gamma\delta$ hati janin manusia yang ditemukan, menunjukkan penyusunan kembali TCR $\gamma\delta$, berbeda dari limfosit $\gamma\delta$ timus di masa awal. Dan menunjukkan bahwa hati janin manusia merupakan tempat perkembangan limfosit $\gamma\delta$.³

Pemilihan Perifer

Kajian di manusia menunjukkan limfosit $\gamma\delta$ mengalami pemilihan perifer. Limfosit T V δ 2 $^+$ meningkat secara sebanding sesuai usia, dengan peningkatan tertinggi pada usia enam (6) tahun, sedangkan limfosit T V δ 1 $^+$ menurun seiring dengan pertambahan usia (segmen V δ 1 paling banyak

digunakan oleh TCR dari *tissue-specific* $\gamma\delta$ T cells). Peningkatan jumlah limfosit T V δ 2 $^+$ tidak disertai perubahan timus. Peningkatan jumlah limfosit T V δ 2 $^+$ berasas dengan ekspresi CD45RO di permukaan sel, menunjukkan proliferasi terhadap respons pajanan antigen.³

FUNGSI LIMFOSIT T $\gamma\delta$ DALAM SISTEM IMUN

Peningkatan bukti dari beberapa telitian menunjukkan bahwa limfosit $\gamma\delta$ berperan khusus dalam respons imun yang terpisah secara jelas dari kelas limfosit lain. Limfosit $\gamma\delta$ merupakan bagian sistem imun tertentu dengan subset lain dan peran berbeda dalam respons imun.³

AKTIVASI LIMFOSIT T $\gamma\delta$

Eksplansi dan diferensiasi terkait fungsi limfosit T $\alpha\beta$ MHC yang terbatas memerlukan keterlibatan TCR dan reseptor kostimulator yang berfungsi secara bersama-sama dalam mengeluarkan isyarat dengan kekuatan, lama waktu dan mutu yang cukup. *Danger Associated Molecular Patterns* (DAMPs) dikenali oleh reseptor ko-stimulator, akan menentukan prekursor limfosit T naif akan berkembang dan berdiferensiasi menjadi limfosit T efektor. Di limfosit $\gamma\delta$ deteksi *stress-induced molecules* dilakukan oleh TCR dan molekul nonTCR (seperti *Toll-Like Receptors/TLRs*), serta *Natural Killer Receptors* (NKR) yang bekerja secara terpisah, bekerjasama atau membantu mengaktifkan fungsi efektor limfosit $\gamma\delta$ tertentu.²

PENGENALAN INFENSI DAN SEL STRES MELALUI TCR $\gamma\delta$

Contoh pengenalan *stress-induced molecules* dan PAMP yang dilakukan oleh limfosit T V γ 9V δ 2 $^+$ manusia yang diaktivasi oleh jalur metabolit isoprenoid yang dikenal sebagai fosfoantigen. Limfosit T V γ 9V δ 2 $^+$ dapat diaktifkan oleh fosfoantigen dalam jumlah sangat kecil (<1 nM) yang dihasilkan dari jalur isoprenoid yang ada dalam mikroorganisme, tetapi limfosit T ini 1000x kurang peka terhadap fosfoantigen yang dibuat dari jalur mevalonat di dalam sel binatang menyusui.²

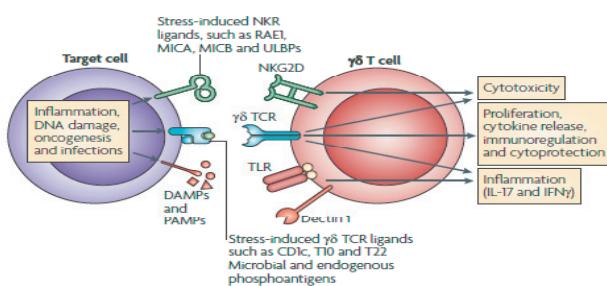
Sel binatang menyusui yang teraktivasi atau mengalami transformasi, fosfoantigen diatur dengan kuat, hingga mencapai tingkat yang cukup untuk mengaktifkan sel T V γ 9V δ 2 $^+$, mendukung peran dalam pengenalan sel stres dan infeksi. Mekanisme ini belum terlalu jelas dan diduga melibatkan reseptor

permukaan sel yang memiliki afinitas dengan substrat fosforilasi, yaitu *ecto-F1 ATP synthase complex*.²

Pengenalan stres dan infeksi juga dilakukan oleh limfosit T V δ 1 manusia, yang banyak bereaksi terhadap sel epitel tumor dan yang terinfeksi virus herpes dengan bantuan TCR.^{2,13} Limfosit T γ δ dapat mengenali tiga (3) rangkaian perangsangan pengimbang stres secara terpisah, melalui penambahan, atau kerjasama (lihat Gambar 2), yaitu: ligan TCR terkait MHC dan yang tidak terkait (seperti molekul *polymorphic MHC class I-like human CD1*, molekul T10 dan T22 mencit, mikroba dan fosfoantigen endogen), berbagai molekul permukaan sel seperti: *retinoic acid early transcript 1 (RAE-1)* dan *MHC class I polypeptide-related sequence A (MICA)* yang terlibat dalam aktivasi *Natural Killer Receptors (NKR)* seperti *NK group 2, member D*

T V γ 9V δ 2+ manusia melawan infeksi virus tanpa keterlibatan TCR. Mekanisme yang mendasari aktivasi NKG2D yang bergantung TCR dan yang tidak masih belum jelas, tetapi kemungkinan dipengaruhi oleh pertautan jaringan yang mengalami aktivasi limfosit T γ δ dan derajat pajanan sel oleh sitokin inflamasi sebelumnya.²

Keterlibatan TLR dan *NOD-like receptors* oleh *Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMP)* dapat memicu respons inflamasi awal yang dimediasi oleh sel imun alami dan limfosit T termasuk limfosit T γ δ . Secara umum, aktivasi respons limfosit T γ δ oleh PAMP dilakukan secara tidak langsung, melibatkan TLR yang memicu pelepasan sitokin proinflamasi oleh sel dendritik.²



Gambar 2. Pengenalan sel stres dan infeksi oleh limfosit T γ δ .²

(NKG2D) dan *Danger-Associated Molecular Patterns (DAMP)* atau *Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)* yang dikenali oleh PRR (*Toll-like receptors (TLR)* dan *dectin 1*).²

PENGENALAN INFEKSI DAN SEL STRES MELALUI RESEPTOR LAIN

Deteksi seluler stres oleh limfosit T γ δ juga melibatkan reseptor nonklonal seperti TLR dan NKR yang diatur setelah diferensiasi fungsional memori limfosit T. Respons limfosit T γ δ terhadap tumor dan sel yang terinfeksi diaktifkan oleh *activating and inhibitory immunoglobulin-like or lectin-like NKRs*. Aktivasi reseptor *natural killer group 2, member D* (NKG2D) sangat berperan dalam proses ini karena ekspresi NKG2D oleh limfosit T γ δ dan reaktivitasnya terhadap ligan terkait MHC, diatur oleh sel yang terinfeksi. NKG2D berfungsi sebagai ko-stimulator dengan TCR T γ δ secara kerja sama, tetapi NKG2D juga dapat memicu respons sitotoksik oleh limfosit

FUNGSI EFEKTOR

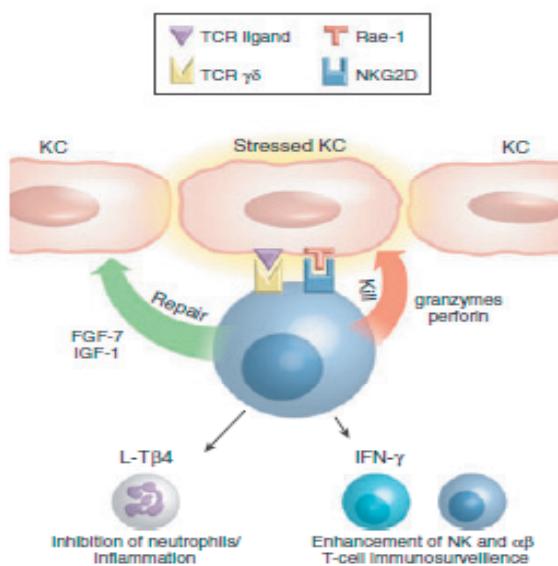
Limfosit T γ δ memiliki fungsi efektor luas yang mencerminkan keterlibatannya dalam patofisiologi. Limfosit T γ δ dapat ‘membunuh’ sel yang terinfeksi, teraktivasi atau yang bertransformasi, melalui jalur yang melibatkan *death-inducing receptors* seperti CD 95 (juga dikenal dengan FAS) dan *TNF-related apoptosis-inducing ligand receptors (TRAILR)* dan pelepasan molekul efektor sitotoksik seperti perforin dan granzim. Di samping itu, limfosit T γ δ juga berperan dalam menghilangkan patogen secara langsung dengan menghasilkan molekul bakteriostatik dan molekul yang bersifat litik seperti granulisin dan defensin dan secara tidak langsung dengan mengimbangi fungsi antibakteri sel efektor imun dan epitel.²

Limfosit T γ δ dapat menghasilkan sitokin imunomodulator yang berperan dalam melindungi sistem imun terhadap virus dan patogen intrasel (TNF dan IFN γ), bakteri ekstrasel dan jamur (IL-17), serta parasit ekstraseluler (IL-4, IL-5 dan IL-13). Respons sitokin ini juga mendasari peran limfosit T γ δ pada proses imun akibat terimbang stres, seperti inflamasi tumor (*tumour-induced inflammation*) melalui hasilan IFN γ , IL-6 dan GM-CSF, otoimun (melalui hasil IFN γ dan IL-17) dan alergi serta asma (melalui produksi IL-4 dan IL-13). Limfosit T γ δ juga berperan dalam *down-regulation* sel efektor imun alami dan adaptif dengan menghasilkan sitokin imunosupresif *transforming growthfactor-β (TGFβ)* dan IL-10) dan membantu pemulihan jaringan serta sel epitel melalui hasilan faktor pertumbuhan sel epitel (*keratinocyte growth factor 1 (KGF1)*; juga dikenal dengan *FGF7*) dan KGF2 (juga dikenal dengan *FGF10*) dan menghasilkan *survival factors (EGF1*; atau *fibropellin 1*).²

IMUNOSURVEILANS ANTIMIKROBA OLEH LIMFOSIT T γ δ

Limfosit T V γ 9V δ manusia dapat meningkatkan komponen sistem imun lain setelah pajanan agen infeksi atau sel yang mengalami stres metabolismik atau sel yang akan mati, melalui sekresi kemokin secara cepat dan yang terkait sitokin Th1 seperti IFN γ ; sel V γ 9V δ juga dapat merangsang NK, NKT dan sel T $\alpha\beta$. Sel V γ 9V δ juga dapat berfungsi sebagai *Antigen-Presenting Cells* (APC) profesional dapat mencerna, memproses dan mempresentasikan peptida antigen untuk merangsang CD4 $^+$ dan CD8 $^+$.⁶

Gambar 3 menjelaskan tentang limfosit T γ δ yang dapat mengenali kerusakan sel keratinosit yang menggambarkan ligan TCR maupun yang untuk NKG2D (seperti *retinoic acid early-1* (RAE-1)). Sel keratinosit yang rusak ini mudah tersingkirkan melalui sekresi granzim dan perforin. Secara bersamaan, limfosit T γ δ dapat meningkatkan ‘microscopic wound healing’ melalui pelepasan *fibroblast growth factor-VII* (FGF-VII; *keratinocyte growth factor I*) dan IGF-1, merangsang sel keratinosit sehat di sekitarnya untuk berproliferasi dan mengisi pori yang kosong. Sekresi molekul anti-inflamasi juga dapat melindungi penghalang epidermis kulit dari mediator oksidatif yang dilepaskan oleh neutrofil. Sekresi IFN γ dari limfosit T γ δ dapat meningkatkan fungsi antimikroba, antitumor dan meningkatkan aktivitas sel NK dan sel $\alpha\beta$ lain dalam mempertahankan penyatuan epidermis kulit.⁶



Gambar 3. Imunosurveilans oleh limfosit T γ δ di kulit mencit.⁶

PEMERIKSAAN LABORATORIK LIMFOSIT T γ δ

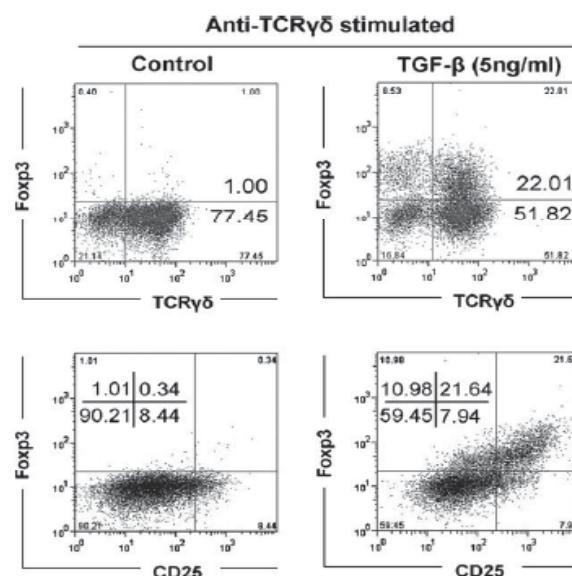
Metode Flow Immunophenotype

Spesimen⁵: Darah vena tepi dengan antikoagulan heparin atau EDTA sebanyak antara 2–5 mL; Aspirasi Sumsum tulang dengan antikoagulan heparin (lebih dianjurkan) atau EDTA sebanyak antara 1–3 mL; Kultur limfosit T δ dari darah tepi yang diperoleh dari *Peripheral Bloodmononuclear Cells* (PBMCs), dengan media kultur RPMI 1640; *Fresh Tissue Biopsy* dengan media kultur jaringan RPMI 1640.

Suspensi sel yang mengandung >95% sel mononuklear viabel, tanpa eritrosit dan debris, didapat dari spesimen jaringan dan sampel darah tepi dengan cara *Ficoll-hypaque density gradient centrifugation*.

Flowcytometric Analysis:^{8,9} Alat yang digunakan: *FACS-scan fluorescent activated cell sorter* (*Becton Dickinson*) dengan laser Argon atau *FACS Calibur Flow Cytometer* (*Becton Dickinson*) menggunakan perangkat lunak *Cell Quest*; Debris dan sel yang mati dikeluarkan dengan gating dan pengecetan Propidium Iodide (PI). Isyarat pemancaran fluoroisotiosianat, fikoeritrin dan duokrom (DC) dikumpulkan dengan penyaring dengan panjang gelombang 530, 575 dan 625 nm setelah mengalami amplifikasi logaritmis.

Antibodi monoklonal: Limfosit T δ diidentifikasi dengan antibodi monoklonal yang mengenali bagian penentu molekul δ di bawah ini:^{8,9} *Purified anti-human CD3*, *PE-anti-human CD3*, *Purified anti-human TCR γδ* (IMMU510) dari *Immunotech*, *FITC-anti-human TCR γδ*, *Vδ1*, *Vδ2* dari *Immunotech*.



Gambar 4. Hasil memeriksa menggunakan metode flow immunophenotype.⁹

RINGKASAN

Limfosit T dibagi menjadi dua (2) sub populasi yang masing-masing mengandung rantai TCR yang disandi oleh lokus gen α dan β atau γ dan δ . Penggolongan limfosit T tersebut disebut limfosit $T\alpha\beta$ dan limfosit $T\gamma\delta$. Limfosit $T\gamma\delta$ memiliki beberapa bentuk menyerupai sel imun alami yang memungkinkan aktivasi awal limfosit $T\gamma\delta$, setelah pengenalan rangsangan tertentu melalui ligan.

Limfosit T memiliki molekul heterodimer di permukaan, yaitu reseptor limfosit T (*T cell receptor/TCR*), untuk mengenali antigen khusus yang dipresentasikan oleh molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) dan merespons imun yang adaptif. Limfosit T paling banyak memiliki TCR rantai α dan β . Namun, TCR yang dibentuk dari rantai γ dan δ menentukan subset limfosit T baru. TCR $\gamma\delta$ khusus untuk berbagai jenis ligan, termasuk fosfoantigen bakteri, molekul MHC-I nonklasik dan *unprocessed protein*. Deteksi *stress-induced molecules* dilakukan oleh TCR limfosit $T\gamma\delta$ dan molekul nonTCR (seperti *Toll-like receptors/TLRs*), serta *Natural Killer Receptors* (NKRs) yang bekerja secara terpisah, bekerja sama atau membantu mengaktifkan fungsi efektor limfosit $T\gamma\delta$ tertentu. Respons limfosit $T\gamma\delta$ terhadap tumor dan sel yang terinfeksi diaktifkan oleh *activating and inhibitory immunoglobulin-like or lectin-like NKRs*. Limfosit T $V\gamma9V\delta2$ manusia dapat meningkatkan komponen sistem imun lain setelah pajanan agen infeksi atau sel yang mengalami stres metabolismik atau yang akan mati, melalui sekresi kemokin secara cepat dan sekresi sitokin Th1 seperti: IFN γ ; limfosit T $V\gamma9V\delta2$ juga dapat merangsang NK, NKT dan limfosit $T\alpha\beta$. Limfosit $T\gamma\delta9V\delta2$ juga dapat berfungsi sebagai *Antigen-Presenting Cells* (APC) profesional yang dapat mencerna, memproses dan mempresentasikan peptida antigen untuk merangsang CD4 $^{+}$ dan CD8 $^{+}$.

Pemeriksaan laboratoris limfosit $T\gamma\delta$ dapat menggunakan metode *flow immunophenotype* dengan alat *FACS Calibur Flow Cytometer (Becton Dickinson)*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gertner J, Scotet E, Poupot M, Bonneville M, Fournie JJ. Lymphocytes : Gamma Delta. Encyclopedia of Life Sciences, 2007; 1: 1–10.
2. Bonneville M, O'Brien RL, Born WK. Gamma Delta T Cell Effector Functions : a Blend of Innate Programming and Acquired Plasticity. *Nature Reviews Immunology*, 2010; 10: 467–478.
3. Ferreira L. Gamma Delta T Cells : Innately Adaptive Immune Cells?. *International Reviews of Immunology*, 2013; 32: 223–248.
4. Anonim, 2014. mol-biol4masters.masters.grkraj.org. [Online] Available at: mol-biol4masters.masters.grkraj.org [Accessed December 2014].
5. Anonim, 2014. Bone Marrow and Flow Cytometry. [Online] Available at: http://www.medicallaboratoryservices.com[Accessed December 2014].
6. Girardi M. Immunosurveillance and Immunoregulation by Gammadelta T Cells. *Journal of Investigative Dermatology*, 2006; 126: 25–31.
7. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Ontogeny and Phylogeny. In: Roitt's Essential Immunology, 12th Ed., Oxford, Wiley-Blackwell, 2011; 291.
8. Inghirami G, Zhu BY, Chess L, Knowles DM. Flow Cytometric and Immunohistochemical Characterization of The Gamma Delta T Lymphocyte Population in Normal Human Lymphoid Tissue and Peripheral Blood. *American Journal of Pathology*, 1990; 136(2): 357–367.
9. Kang N, Tang L, Li X, Wu D. et al. Identification and Characterization of Foxp3+ Gamma Delta T Cells in Mouse and Human. *Immunology Letters*, 2009; 125: 105–113.
10. Allison TJ, Garboczi DN. Structure of Gamma Delta T Cell Receptors and Their Recognition of Non-peptide Antigens. *Molecular Immunology*, 2001; 38: 1051–1061.
11. O'Brien RL, Roark CL, Jin N, Aydintug MK, French JD, Chain JL, Wands JM, Johnston M, Born WK. Gamma Delta T Cell Receptors: Functional Correlations. *Immunological Reviews*, 2007; 215: 77–88.
12. Carding SR, Egan PJ, Gamma Delta T Cells : Functional Plasticity and Heterogeneity. *Nature Reviews Immunology*, 2002; 2: 336–345.
13. Thedrez A, Sabourin C, Gertner J, Devilder MC, Maillet SA, Fournie JJ, Scotet E, Bonneville M. Self/non-self Discrimination by Human Gamma Delta T Cells: Simple Solutions for a Complex Issue? *Immunological Reviews*, 2007; 215: 123–135.