

## **HUBUNGAN EKSPRESI ASIALOGLYCOPROTEIN RECEPTOR PADA PLASENTA IBU HBSAG POSITIF DENGAN HBV DNA TALI PUSAT JANIN DALAM PENULARAN VIRUS HEPATITIS B TRANSPLASENTAL**

**Agus Priyo Wibowo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Profesi Dokter Universitas Muhammadiyah Gorontalo

Email : [aguspriyowibowo@umgo.ac.id](mailto:aguspriyowibowo@umgo.ac.id)

Diterima : 01-12-2023

Direvisi : 03-12-2023

Disetujui : 05-12-2023

### **ABSTRAK**

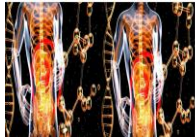
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi reseptor Asialoglikoprotein (ASGP-R) pada plasenta pada ibu HBsAg positif dengan HBV DNA darah tali pusat bayi. Sampel yang digunakan yaitu 66 plasenta dari ibu bersalin yang memiliki serum HbsAg positif, dilakukan prosesi histopatologi menjadi blok parafin plasenta selanjutnya dilakukan proses pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi ASGP-R monoclon. Dilakukan juga pengambilan sampel darah tali pusat pada 66 sampel tersebut untuk dilakukan pemeriksaan HBV DNA dengan metode nested PCR. hasilnya Dengan melakukan pewarnaan Imunohistokimia Ekspresi ASGP-R dari 66 sampel plasenta ibu dengan HBsAg positif, menunjukkan 40 sampel dengan kriteria skor I, 4 sampel dengan kriteria skor II, 6 sampel dengan kriteria skor III, dan 16 sampel dengan kriteria skor IV. Dan pada pemeriksaan HBV DNA tali pusat diperoleh 4 sampel darah tali pusat positif mengandung virus Hepatitis B. Dapat disimpulkan Plasenta yang merupakan organ yang unik yang Allah karuniakan kepada ibu hamil sebagai barier mekanik sekaligus barier imunologis yang menghalangi infeksi virus dan potensi lain yang dapat menimbulkan efek yang buruk terhadap bayi selama proses kehamilan.

**Kata Kunci: Asialoglycoprotein receptor; ASGP-R; HBsAg; HBV DNA; Placenta**

### **ABSTRACT**

*This study aims to determine the relationship between Asialoglycoprotein receptor (ASGP-R) expression in the placenta of HBsAg positive mothers and HBV DNA in the baby's umbilical cord blood. The samples used were 66 placentas from parturient mothers who had positive HBsAg serum, histopathological processing was carried out into placental paraffin blocks, then immunohistochemical staining was carried out with ASGP-R monoclonal antibodies. Umbilical cord blood samples were also taken from 66 samples for HBV DNA examination using the nested PCR method. Results: By carrying out immunohistochemical staining of ASGP-R expression from 66 samples of maternal placenta with positive HBsAg, it showed that 40 samples had score I criteria, 4 samples had score II criteria, 6 samples had score III criteria, and 16 samples had score IV criteria. And during the HBV DNA examination of the umbilical cord, 4 samples of umbilical cord blood were found to be positive for the Hepatitis B virus. It can be concluded that the placenta is a unique organ that God has given to pregnant women as a mechanical barrier as well as an immunological barrier that prevents viral infections and other potential effects. which is bad for the baby during the pregnancy process.*

**Keywords: Asialoglycoprotein receptor; ASGP-R; HBsAg; HBV DNA; Placenta.**



## PENDAHULUAN

Di negara dengan endemisitas infeksi Virus Hepatitis B tinggi, seperti di Indonesia transmisi ibu ke bayi merupakan mekanisme penularan yang penting. Usia pertama kali terinfeksi oleh VHB sangat berhubungan dengan perkembangan menjadi hepatitis B kronik. Bayi yang terinfeksi VHB saat lahir atau selama tahun pertama kehidupan sekitar 90% akan berkembang menjadi kronik, pada usia penularan 1–6 tahun sekitar 30%–50% akan menjadi hepatitis B kronis, dan penularan pada anak-anak di atas usia 6 tahun dan pada dewasa sekitar 5%–10% akan menjadi hepatitis B kronik. Dan setelah fase hepatitis B kronis sekitar 15%–40% akan berkembang menjadi sirosis hati dan karsinoma hepatoseluler.

Terdapatnya infeksi intrauterine diperlihatkan dalam beberapa studi ditemukannya HBsAg dan HBV DNA positif pada bayi baru lahir dan pada plasenta dengan pemeriksaan PCR. HBsAg merupakan protein pada permukaan virus hepatitis B yang dapat dideteksi dalam kadar tinggi dalam serum selama infeksi virus hepatitis B baik pada periode akut ataupun kronis. Adanya HBsAg menunjukkan bahwa orang tersebut dalam fase aktif menularkan hepatitis B, kecuali jika positif sementara dalam waktu 30 hari setelah pemberian dosis vaksin hepatitis B. DNA HBV dalam serum merupakan penanda replikasi aktif HBV yang dapat diandalkan. Kadar DNA HBV dapat dideteksi 30 hari setelah infeksi, dengan mengukur jumlah DNA HBV dalam aliran darah, dapat menentukan tingkat replikasi virus dan menilai perkembangan penyakit. Viral load yang lebih tinggi sering kali menunjukkan infeksi yang lebih aktif dan peningkatan risiko kerusakan hati.

Asialoglikoprotein reseptor (ASGP-R) merupakan protein membran yang sebagian besar diekspresikan pada permukaan mamalia hepatosit.<sup>4</sup> Reseptor ini dapat berinteraksi dengan preS1 domain HBV.<sup>5-8</sup> ASGP-R mengikat ligan glikosilasi dan domain preS1 HBV adalah glikoprotein.<sup>9</sup> Terdapat peningkatan ekspresi ASGP-R pada sel trofoblas plasenta dan sel dendritik, yang dapat menjadi petunjuk adanya kemungkinan penularan Virus Hepatitis B secara transplasental dari ibu ke janin. Apabila terbukti

adanya penularan secara transplasental melalui protein ASGP-R maka strategi penghambatan reseptor dapat menjadi cara efektif dalam mencegah

## BAHAN DAN METODE

### a. Pemeriksaan Serum HBsAg

Pemeriksaan HBsAg pada serum menggunakan kit Monolisa yang merupakan pemeriksaan qualitative berdasarkan immunoassay enzim metode sandwich, dengan menggunakan monoclonal dan policlonal antibody yang mampu berikatan dengan berbagai variasi subtype HBsAg dilakukan dengan instrument otomatis Monolisa, dengan nilai negatif apabila nilai cut-off <1, dan nilai positif apabila nilai cut-off >1.

### b. Pemeriksaan HBV DNA Tali Pusat

HBV DNA di deteksi dengan menggunakan metode NESTED PCR dengan menggunakan primer universal (P1 dan S1-2) untuk bagian kapsul virus, diikuti oleh dua campuran berbeda yang mengandung tipe-spesifik untuk DNA virus. HBV DNA untuk setiap sampel ditentukan dengan mengidentifikasi pita DNA. Dua produk PCR putaran kedua yang berbeda dari satu sampel secara terpisah dielektroforesis pada gel agarosa 3%, diwarnai dengan etidium bromida, dan dievaluasi di bawah sinar UV.

### c. Proses pewarnaan blok paraffin sampel plasenta dengan pewarnaan imunohistokimia

Blok parafin plasenta dilakukan pewarnaan imunohistokimia Asialoglycoprotein receptor dengan prosedur deparafinisasi dan rehidrasi dengan etanol 100%, 90%, 80%, dan 70%. Rehidrasi bagian antigen diambil dengan buffer sitrat pada suhu 103°C selama 10 menit, kemudian diinkubasi dengan 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selama 10 menit pada suhu kamar untuk memblokir peroksidase endogen, dicuci tiga kali 3 menit masing-masing dengan tris buffer saline (TBS) dan kemudian diinkubasi 30 menit pada suhu kamar dalam 10% BSA (bovine serum albumin) dalam ruang yang dilembabkan pada suhu kamar. Kemudian Antibodi primer, anti-ASGPR1 (A-5, Santa Cruz) 5 µg / mL

diterapkan pada bagian yang telah dibatasi dengan pappen dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Bagian kemudian dibilas tiga kali selama 3 menit masing-masing di TBS dan diinkubasi dengan antibodi sekunder terkonjugasi-HRP selama 30 menit suhu kamar. Kemudian, sampel dicuci dan diinkubasi dengan substrat diaminobenzidine (DAB), selanjutnya dilakukan counterstained dengan haematoxylin, tahap akhir dilakukan dehidrasi dan dipasang dengan DPX.

#### d. Interpretasi immunohistokimia Asialoglycoprotein receptor pada plasenta

Sampel slide plasenta yang telah dilakukan pewarnaan immunohistokimia Asialoglikoprotein Reseptor dilakukan analisis dan penilaian berdasarkan persentase area membran sel plasenta yang terwarnai dengan immunohistokimia Asialoglikoprotein reseptor, dengan kriteria skor I (<5%), skor II (5-30%), skor III (31-60%), dan skorIV (>60%).<sup>10</sup> Dengan hipotesis skor I dan skor II adalah plasenta ibu yang tidak berpotensi menularkan HBV dari ibu ke bayi, skor III adalah skor intermediate, dan skor IV adalah plasenta ibu yang berpotensi menularkan HBV darinya ibu ke bayi.

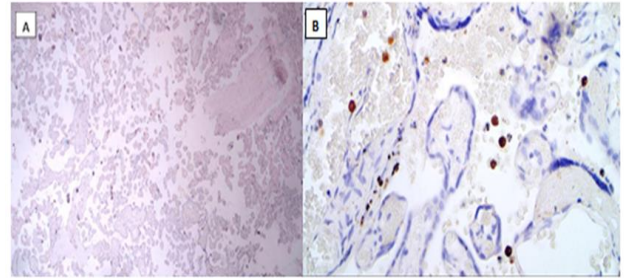
#### e. Metode Statistik

Dengan mengumpulkan 66 plasenta dari ibu bersalin yang memiliki serum HbsAg positif, dilakukan pewarnaan immunohistokimia dengan antibodi ASGP-R monoclon pada blok parafin plasenta. Kemudian dilakukan penilaian hubungan variabel dengan cara melakukan perbandingan antara variabel bebas yaitu HBV DNA darah tali pusat bayi dengan derajat ekspresi Asialoglycoprotein receptor pada plasenta ibu yang telah melahirkan bayi yang merupakan variabel tergantung. Penilaian hubungan antara kedua variabel dilakukan dengan cara melakukan tabulasi dan menilai secara analitik dan melakukan uji statistic dengan uji Chi-Square.

### HASIL PENELITIAN

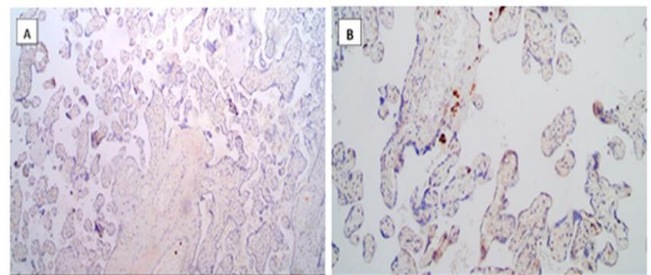
Pemeriksaan Ekspresi Asialoglycoprotein reseptor pada plasenta berdasarkan derajat luas area plasenta yang terwarnai adalah :

#### 1. SKOR I



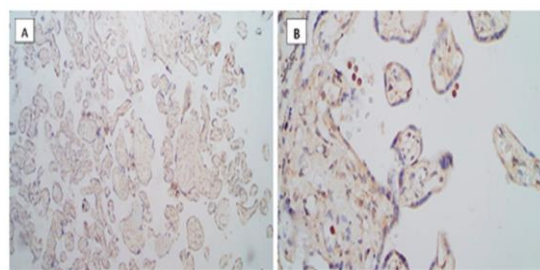
Ekspresi Asialoglycoprotein receptor skor I, (A) Luas area plasenta yang terwarnai < 5%, (B) hanya terekspresi pada sel radang.

#### 2. SKOR II



Ekspresi Asialoglycoprotein receptor skor II. (A) Terekspresi pada 5-30% luas area plasenta. (B) Terekspresi pada sel trophoblast dan sel radang

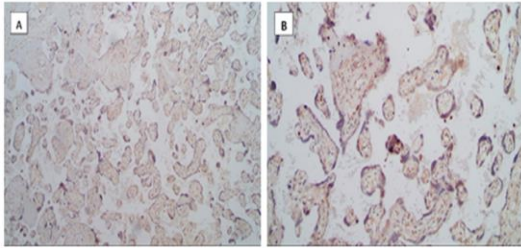
#### 3. SKOR III



Ekspresi Asialoglycoprotein receptor skor III. (A) Terekspresi pada 30-60% luas area plasenta, (B) Terekspresi pada sel trophoblast dan sel radang.



#### 4. SKOR IV



Ekspresi Asialoglycoprotein Receptor skor IV. (A) Terekspresi pada > 60% luas area plasenta (B)Terekspresi pada sel trophoblast dan sel radang.

Berdasarkan hasil penilaian pewarnaan imunohistokimia Asialoglikoprotein reseptor pada plasenta ibu dengan HbsAg Positif didapatkan Hasil Penilaian Imunohistokimia Asialoglicoprotein Receptor

SKOR	Jumlah sampel yang terwarnai
I	40 (60,6%)
II	4(6,1%)
III	6(9,1%)
V	16(24,2%)
TOTAL	66 (100%)
SAMPEL	

Hasil penilaian 66 sampel plasenta dengan pewarnaan imunohistokimia antibodi Asialoglycoprotein receptor, didapatkan hasil bahwa semua sampel terwarnai dengan derajat yang bervariasi

yaitu dengan : Skor I dengan jumlah 40 sampel, Skor II dengan jumlah 4 sampel, Skor III sejumlah 6 dan Skor IV sejumlah 16 sampel.

Pemeriksaan HBV DNA darah tali pusat pada bayi, didapatkan hasil :

Hasil pemeriksaan HBV DNA serum tali pusat bayi	
HBV DNA darah tali pusat bayi	Frequency
Positif	4 (6.1%)
Negatif	62 (93.9%)

Sampel HBV DNA darah tali pusat bayi berasal dari sampel darah tali pusat bayi yang dilahirkan oleh ibu dengan HBsAg positif dengan pemeriksaan DNA quantitative di dapatkan 62 sampel(93.9%) dan sampel darah tali pusat dengan HBV DNA negatif di dapatkan 4 sampel (6.1%)

#### ANALISIS STATISTIK

Analisis hubungan derajat skor ekspresi Asialoglycoprotein reseptor plasenta dengan HBV DNA darah tali pusat janin. Untuk menilai adanya hubungan derajat skor ekspresi Asialoglycoprotein reseptor plasenta dengan HBV DNA darah tali pusat janin maka dilakukan dengan melakukan perbandingan dengan tabulasi dan dilakukan uji Chi-Square.

Tabel analisis hubungan antara derajat ekspresi Asialoglycoprotein reseptor dengan serum HBV DNA Cord Blood

Skor ASGP-R	HBV DNA Cord Blood		P- Value
	Positive	Negative	
I	2(3,03%)	38(57,7%)	P = 0,524
II	0	4(6,06%)	
III	0	6(9,09%)	
IV	2(3,03%)	14(21,2%)	
Total	4	62	

Berdasarkan tabel diatas dari total 66 sampel dengan HBV DNA darah tali pusat bayi positif terdapat pada plasenta dengan ekspresi Asialoglycoprotein

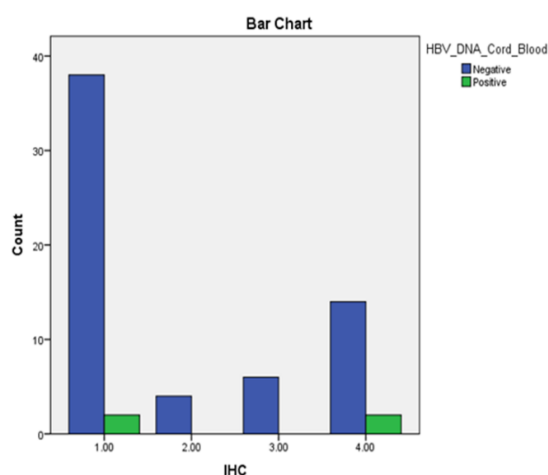
receptor pada skor I sejumlah 2 sampel, skor II sejumlah 0 sampel, skor III sejumlah 0 ,dan skor IV sejumlah 2 sampel. Dan pada HBV DNA darah tali pusat bayi

negatif terdapat pada sampel plasenta dengan ekspresi Asialoglycoprotein receptor, skor I sejumlah 38 sampel, skor II sejumlah 4 sampel, skor III sejumlah 6 ,dan skor IV sejumlah 14 sampel. Berdasarkan uji Chy Square didapatkan  $p = 0,524$  ( $p > 0.05$ ) sehingga disimpulkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara derajat ekspresi Asialoglycoprotein receptor plasenta dengan HBV DNA darah tali pusat bayi.

## PEMBAHASAN

Hubungan Derajat Ekspresi Asialoglycoprotein reseptor Plasenta pada ibu dengan HBV DNA pada darah tali pusat janin berdasarkan uji statistik Chi-Square didapatkan  $p = 0,524$  ( $p > 0.05$ ) sehingga disimpulkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara derajat ekspresi Asialoglycoprotein receptor plasenta dengan HBV DNA darah tali pusat bayi.

Diagram hubungan ekspresi Asialoglicoprotein reseptor plasenta dengan HBV DNA serum darah tali pusat bayi.



Pada diagram batang diatas menunjukkan bahwa pada derajat ekspresi Asialoglycoprotein reseptor pada plasenta dengan skor I dan IV terdapat HBV DNA yang positif pada darah tali pusat janin. Pada ekspresi Asialoglycoprotein reseptor dengan skor I terdapat adanya ekspresi

Asialoglycoprotein reseptor dengan luas area  $<5\%$  dan pada ekspresi Asialoglycoprotein Receptor dengan skor IV terdapat adanya ekspresi Asialoglycoprotein reseptor dengan luas area  $> 60\%$ . Pada dua sampel plasenta dengan ekspresi Asialoglycoprotein Receptor dengan skor I terdapat ekspresi Asialoglycoprotein receptor pada sel-sel radang yang bersirkulasi baik pada area intervili yang merupakan darah ibu dan terdapat pula ekspresi Asialoglycoprotein receptor pada sel-sel radang yang berada pada area pembuluh darah fetalis, tetapi tidak terdapat ekspresi Asialoglycoprotein reseptor pada sel-sel trophoblast, sedangkan pada dua sampel plasenta dengan ekspresi Asialoglycoprotein reseptor dengan skor IV, terdapat ekspresi Asialoglycoprotein reseptor pada sel-sel imun yang bersirkulasi, makrofag dan pada sel-sel trophoblast. Ekspresi Asialoglycoprotein reseptor yang bervariasi pada sel-sel trophoblast plasenta ibu dengan HBsAg positif. Terdapat 4 sampel HBV DNA tali pusat positif pada ekspresi Asialoglycoprotein reseptor pada plasenta dengan skor I dan IV menunjukkan adanya transmisi pada sampel tersebut. Vyas

Pada penelitian ini terdapat 4 sampel darah tali pusat dengan HBV DNA positif dapat di analisa terdapat kemungkinan adanya transmisi hepatitis B secara transplasental melalui jalur sel-sel imun yang bersirkulasi dan melalui jalur virus hepatitis B yang menginfeksi sel-sel trophoblast pada plasenta dengan kerusakan barrier plasenta pada saat kontraksi uterus sebagai contoh pada solusio plasenta ataupun adanya plasenta dengan kelainan morfologi tertentu, yang menurunkan fungsi plasenta sebagai barrier mekanik maupun imunologis yang akan meningkatkan resiko terjadinya transmisi.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian ini adanya ekspresi Asialoglycoprotein reseptor dengan derajat skor yang bervariasi belum dapat dijadikan dasar sebagai penanda atau prediktor untuk penularan virus hepatitis B secara transplasental. Sekaligus dengan hasil penelitian dapat membantah hasil penelitian sebelumnya oleh Vyas et al yang menyatakan adanya hubungan antara ekspresi Asialoglycoprotein reseptor plasenta dengan penularan virus hepatitis B secara transplasental. Plasenta merupakan organ sementara yang menjadi penghubung antara fetus dan sekelilingnya. Terdiri dari lapisan trofoblas yang tebal dengan terdapat lapisan endotel pembuluh darah fetus berfungsi sebagai membran semipermeable. Plasenta berperan dalam respirasi, transport nutrisi dan obat, organ endokrin, serta organ imunologis yang melindungi bayi dari infeksi yang berasal dari ibu ke janin. Fungsi plasenta melibatkan proses transfer molekuler, melalui proses difusi baik aktif maupun pasif, yang berdasarkan penelitian ini membuktikan plasenta merupakan organ yang Allah SWT ciptakan untuk melindungi bayi dari infeksi Virus Hepatitis B.

## SARAN

Perlu dilakukan evaluasi histopatologi sampel plasenta dari beberapa fokus pada pengambilan sampel plasenta yang sama, karena pada penelitian ini hanya di ambil dari satu fokus pengambilan sampel sehingga kurang mewakili plasenta secara keseluruhan dan perlu dilakukan pemeriksaan viral load sehingga dapat dievaluasi pengaruh viral load pada penularan secara transplasental

## DAFTAR PUSTAKA

EPI Team (WHO). Preventing mother-to-child transmission of hepatitis B; 2006. p.1-53.  
Gentile, I. and Borgia, G. (2014) 'Vertical transmission of hepatitis B virus: Challenges and solutions', International

Journal of Women's Health, 6(1),pp.605–611

- Ghosh M, Nandi S, Dutta S, Saha MK. Detection of hepatitis B virus infection: a systematic review. *World J Hepatol.* 2015; 7:2482-91.
- Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *Int J Med Sci.* 2005;2:50-7.
- Navabakhsh B, Mehrabi N, Estakhri A, Mohamadnejad M, Poustchi H. Hepatitis B virus infection during pregnancy: transmission and prevention. *Middle East J Dig Dis.* 2011;3:92-102.
- Rehman Z, Sadia H, Fahim A, Niazi UHK, Azam MZ. Mutational analysis and interactions of HBV preS1 with asialoglycoprotein receptor. *Future Virol.* 2016; 11:761-74.
- Richard J, Stockert. The asialoglycoprotein receptor: relationships between structure, function, and expression. *Physiol Rev.* 1995; 75:591-609
- Schulze A, Schieck A, Ni Y, Mier W, Urban S. Fine mapping of pre-S sequence requirements for hepatitis B virus large envelope protein-mediated receptor interaction. *J Virol.* 2010;84:1989-2000.
- Shao Q, Zhao X, Yao Li MD. Role of peripheral blood mononuclear cell transportation from mother to baby in HBV intrauterine infection. *Arch Gynecol Obstet.* 2013; 288:1257-61.
- Toshiharu E, Takahashi H. Enhanced inhibition of hepatitis B virus production by asialoglycoprotein receptor-directed interferon. *Nat Med.* 1999; 5 :577-81.
- Vyas AK, Ramakrishna U, Sen B, Islam M, Ramakrishna G, Patra S, et al. Placental expression of asialoglycoprotein receptor associated with hepatitis B virus transmission from mother to child. *Liver Int.* 2018; 38:2149-58.

Witzigmann D, Quagliata L, Schenk SH, Quintavalle C, Terracciano LM, Huwyler J. Variable asialoglycoprotein receptor 1 expression in liver disease: implications for therapeutic intervention. *Hepatol Res.* 2016;46:686-96.

Zhang X, Lin SM, Chen TY, Liu M, Ye F, Chen YR, et al. Asialoglycoprotein receptor interacts with the preS1 domain of hepatitis B virus in vivo and in vitro. *Arch Virol.* 2011;156:637-45.

Tarwoto, N. 2010. *Kesehatan Remaja Problem dan Solusinya*. Salemba Medika. Jakarta.

Utami Baiq Nurlaily *Hubungan Pola Makan Dan Pola Menstruasi Dengan Kejadian Anemia Remaja Putri. Jurnal Keperawatan Soedirman (The Soedirman Journal Of Nursing)*, Volume 10, No.2, Juli 2015

*World Health Organization. Nutrition Landscape Information System (NLIS). Country Profile Indicators: Interpretation Guide. Geneva: World Health Organization, 2015.*