

EKSPRESI *MICROPHthalmia ASSOCIATED-TRANSCRIPTION FACTOR (MITF)* DAN PROTEIN S100 PADA VITILIGO

*Marina Rimadhani, M. Yulianto Listiawan, Sawitri, Willy Sandhika**

Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin

** Departemen Ilmu Patologi Anatomi*

FK Universitas Airlangga/RSUD dr. Soetomo, Surabaya

ABSTRAK

Vitiligo adalah kelainan depigmentasi yang didapat dan umum ditemui, ditandai dengan bercak putih susu pada kulit, rambut dan mukosa akibat kerusakan melanosit secara selektif. Jumlah melanosit yang berkurang pada vitiligo digambarkan secara jelas oleh pemeriksaan imunohistokimia protein S100. Mekanisme yang terlibat dalam disfungsi melanosit pada epidermis vitiligo hanya sedikit yang diketahui. Penelitian sebelumnya menunjukkan peran microphthalmia-associated transcription factor (MITF) pada vitiligo dan dapat mengakibatkan disfungsi dan atau kehilangan melanosit. MITF memiliki fungsi diferensiasi melanoblas menjadi melanosit. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi ekspresi MITF dan jumlah melanosit pada vitiligo dibandingkan non-vitiligo. Metode penelitian ini merupakan penelitian potong lintang observasional analitik pada pasien vitiligo sebagai subjek di unit rawat jalan kulit dan kelamin RSUD Dr. Soetomo. Subjek penelitian dikumpulkan secara consecutive sampling dengan jumlah sampel 18 pasien vitiligo dan 10 pasien non vitiligo, data dianalisis secara statistik. Penurunan ekspresi MITF dan jumlah melanosit yang diperiksa dengan antibodi S100 pada pasien vitiligo dibandingkan kulit non-vitiligo berbeda bermakna ($p < 0,001$) secara statistik maupun klinis. MITF berperan dalam patogenesis vitiligo. Imunohistokimia MITF dan pemeriksaan S100 dapat bermanfaat sebagai indikator keberhasilan terapi.

Kata Kunci : *MITF, S100, Vitiligo*

IMMUNOHISTOCHEMICAL MICROPHthalmia ASSOCIATED TRANSCRIPTION FACTOR (MITF) AND S100 EXPRESSION IN VITILIGO LESION

ABSTRACT

Vitiligo is a common acquired depigmentary disease characterized by white patches of the skin, hair and mucous membranes due to selective destruction of melanocytes. Decline number of melanocytes in vitiligo is clearly illustrated by Immunohistochemistry S100 examination. Little is known about the mechanisms involved in the dysfunction of melanocytes in vitiligo epidermis. Previous researches showed that Microphthalmia-associated transcription factor (MITF) may be affected, resulting in dysfunction and/or loss of melanocytes. MITF has function differentiate melanoblast to melanocyte. This study aimed to evaluate MITF expression and melanocyte count in vitiligo compared to non vitiligo. This is an analitic observational cross sectional research, with vitiligo in dermatovenereology outpatient departement Dr. Soetomo hospital as subjects. Subjects have been collected through consecutive sampling with sample size 18 patients with vitiligo and 10 non-vitiligo subjects, data were analyzed analytically; This study found decreased expression of MITF and S100 antibody of the melanocyte in vitiligo patients compared to non - vitiligo skin differs significantly $p < 0.001$ statistically and clinically. MITF have role in vitiligo pathogenesis. Immunohistochemistry MITF and S100 examination can be benefits to therapy success indicator.

Keywords: *MITF, S100, Vitiligo*

Korespondensi:

Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo
No.6-8 Surabaya 60131
Telepon: 031-5501609
E-mail: rimadhani@yahoo.com

PENDAHULUAN

Vitiligo adalah kelainan spesifik yang didapat, berbentuk makula berwarna putih susu, berbatas tegas ditandai dengan hilangnya fungsi melanosit. Vitiligo merupakan penyakit multifaktori, gangguan poligenik dengan patogenesis kompleks yang belum banyak diketahui.¹ Prevalensi vitiligo menunjukkan peningkatan selama beberapa dekade ini. Penelitian retrospektif oleh Hutomo (2012), menunjukkan proporsi pasien baru vitiligo di Divisi kosmetik Unit Rawat Jalan (URJ) Kesehatan Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Utama Daerah (RSUD) Dr. Soetomo periode 2009-2011 (3 tahun) sebesar 0,35%² dan meningkat pada tahun 2014 menjadi 0,5%. Beberapa penelitian menunjukkan lesi vitiligo dapat menurunkan kualitas hidup seseorang, akibat rasa cemas dan tidak percaya diri dalam membentuk sebuah hubungan.³

Para klinisi mengevaluasi terapi vitiligo hanya secara klinis yaitu persentase repigmentasi.^{1,4} Pengertian repigmentasi yang seragam hingga saat ini belum ada, karena penilaiannya hanya secara subjektif. Evaluasi repigmentasi secara objektif sangat penting bagi para klinisi dalam indikator keberhasilan atau kegagalan terapi, edukasi bahkan pemilihan terapi. Pada lesi depigmentasi vitiligo masih terdapat melanosit namun tidak mampu mensintesis melanin pada melanosom.⁵ Sehingga terdeteksinya melanosit saja oleh imunohistokimia protein S100 pada vitiligo belum tentu bisa dijadikan indikator keberhasilan terapi vitiligo. Fungsi melanosit dapat dideteksi oleh MITF. Evaluasi terapi dengan menilai fungsi dan jumlah melanosit akan menjadi lebih objektif dan akurat.

Penelitian ini mengevaluasi ekspresi MITF dan jumlah melanosit yang diwarnai antibodi S-100 pada lesi pasien vitiligo. Setiap pemeriksaan imunohistokimia pada pasien vitiligo ini akan dibandingkan dengan imunohistokimia pada pasien non-vitiligo. Vitiligo merupakan kelainan pigmentasi akibat hilangnya melanosit, sehingga diharapkan terjadi penurunan ekspresi MITF yaitu fungsi dan jumlah melanosit pada pasien vitiligo. Penurunan fungsi dan jumlah melanosit yang diperiksa dengan protein

S100 pada vitiligo akan membuktikan peran MITF dalam mekanisme hilangnya melanosit pada vitiligo, sehingga diharapkan dapat menjadi indikator keberhasilan terapi vitiligo.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional potong lintang analitik dengan dan membandingkan ekspresi MITF dan S-100 kulit antara pasien vitiligo dengan pasien non-vitiligo. Penelitian dilakukan sejak bulan November 2015 sampai Februari 2016 di Divisi Kosmetik URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Masing-masing sampel dicatat dan dilakukan biopsi plong 4 mm di tengah lesi vitiligo. Pemeriksaan imunohistokimia MITF dilakukan di RSUP Dr. Sarjito, Yogyakarta. Pemeriksaan imunohistokimia S100 dilakukan di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Kemudian dilakukan penghitungan ekspresi MITF dan jumlah melanosit dalam 2 lapang pandang, masing-masing sebesar satu milimeter. Uji analisis menggunakan Mann-Whitney.

Pemilihan subyek penelitian secara *consecutive sampling*, berdasarkan kriteria penerimaan dan penolakan sampai jumlah subyek terpenuhi. Tempat penelitian di URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin Divisi Kosmetik RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Sampel studi merupakan pasien vitiligo, tidak menggunakan kortikosteroid topikal, *calcineurin inhibitor* topikal, kalsipotriol topikal dalam 2 minggu terakhir, tidak menggunakan obat sistemik kortikosteroid dalam 3 bulan terakhir, tidak menggunakan PUVA, NB-UVB, laser *excimer* dalam 3 bulan terakhir, tidak hamil, berusia lebih dari 15 tahun, keadaan umumnya masih baik dan bersedia untuk mengikuti penelitian. Jumlah keseluruhan subyek penelitian ada sebanyak 28 orang yaitu 18 pasien vitiligo dan 10 pasien non-vitiligo. Pengambilan sampel kulit non-vitiligo tidak sebanyak pasien vitiligo karena terkait etik dan jumlah tersebut dapat mewakili populasi non-vitiligo.⁶ Penelitian ini merupakan penelitian pengulangan atau *verification study*, dan bertujuan untuk menilai hasil penelitian terdahulu. Penelitian jenis ini menggunakan studi yang sama dengan subjek dan lokasi yang berbeda.

HASIL PENELITIAN

Telah dilaksanakan penelitian terhadap 28 sampel yang terdiri dari 18 sampel studi dan 10 sampel kontrol. Semua sampel memenuhi persyaratan sampel dan bersedia ikut serta penelitian dengan menandatangani *information for consent*, *informed consent* dan lembar persetujuan tindakan medis. Penelitian dilakukan sejak bulan November 2015 sampai Februari 2016 di Divisi

Kosmetik URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD dr. Soetomo Surabaya. Masing-masing sampel dicatat datanya dan dilakukan biopsi plong 4mm dan dilakukan pemeriksaan imunohistokimia MITF dan S100 untuk dilakukan penghitungan ekspresi MITF dan jumlah melanosit dalam dua lapang pandang, satu lapang pandang sebesar satu milimeter. Dari hasil pengumpulan data tersebut, diperoleh gambaran sebagai berikut.

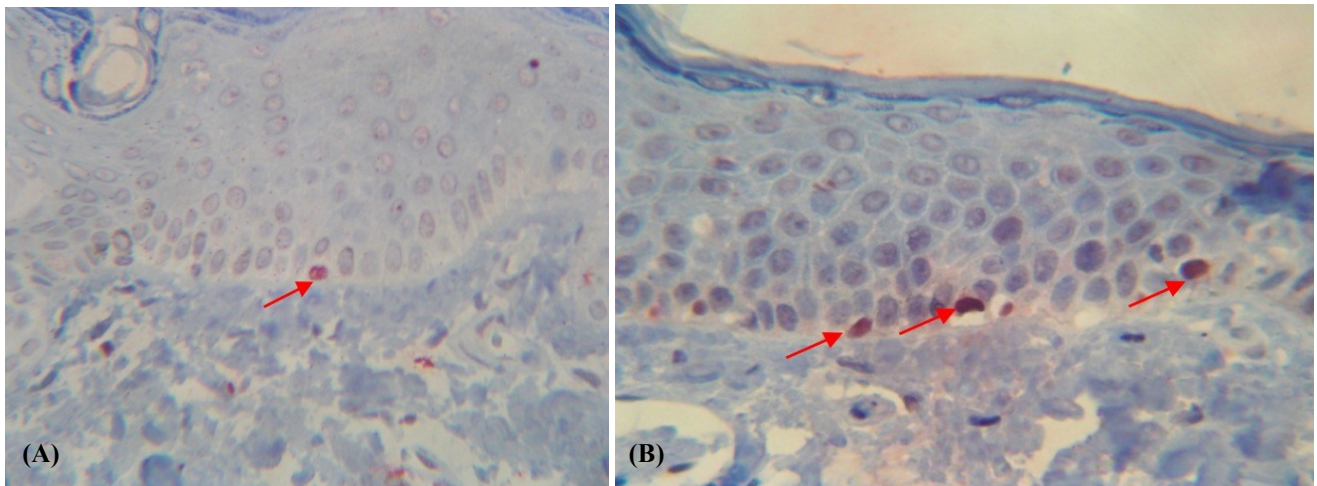
Tabel 1. Distribusi jenis kelamin, usia, ama vitiligo dan hasil pemeriksaan imunohistokimia S 100 dan MITF pada pasien Vitiligo Dibandingkan Dengan pasien non vitiligo, Divisi Kosmetik Medik URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin, RSUD Dr. Soetomo Surabaya Periode 2016

No. Pasien	Jenis Kelamin	Usia	Lama vitiligo	IHC S100	IHC MITF
1 vitiligo	L	30	7 bulan	3	1
2 vitiligo	L	25	3 tahun	3	0
3 vitiligo	P	30	6 tahun	1	1
4 vitiligo	L	45	10 tahun	2	1
5 vitiligo	P	50	22 tahun	3	2
6 vitiligo	L	30	1 tahun	2	1
7 vitiligo	P	60	5 tahun	0	0
8 vitiligo	P	49	11 tahun	0	0
9 vitiligo	P	42	15 tahun	0	1
10 vitiligo	L	49	2 tahun	2	1
11 vitiligo	L	16	1 tahun	2	2
12 vitiligo	L	64	20 tahun	3	1
13 vitiligo	P	48	11 tahun	3	1
14 vitiligo	L	18	9 tahun	2	2
15 vitiligo	P	50	5 tahun	2	2
16 vitiligo	P	45	10 tahun	2	1
17 vitiligo	L	58	1 tahun	2	2
18 vitiligo	L	69	4 tahun	3	2
1 non-vitiligo	L	44	-	8	9
2 non-vitiligo	P	43	-	9	10
3 non-vitiligo	P	46	-	9	9
4 non-vitiligo	P	42	-	9	12
5 non-vitiligo	L	22	-	7	8
6 non-vitiligo	P	22	-	7	7
7 non-vitiligo	L	45	-	7	12
8 non-vitiligo	L	33	-	8	15
9 non-vitiligo	L	35	-	9	13
10 non-vitiligo	P	58	-	8	8

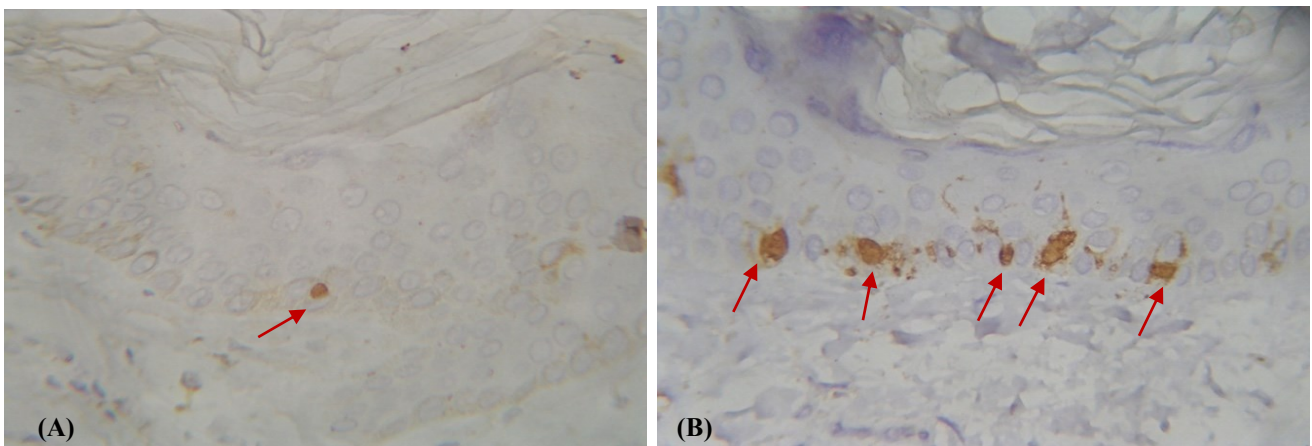
Pada kulit orang non-vitiligo paling banyak ditemukan 15 dan paling sedikit tujuh ekspresi MITF. Pada kulit vitiligo terdapat tiga pasien yang tidak memiliki ekspresi MITF sama sekali, paling banyak memiliki dua ekspresi MITF.

Pada pemeriksaan imunohistokimia protein S100 kulit orang non-vitiligo paling banyak ditemukan sembilan

melanosit, dan paling sedikit tujuh melanosit. Pada kulit vitiligo terdapat tiga pasien yang tidak memiliki melanosit sama sekali, terdapat dua pasien yang ditemukan bersamaan dengan tidak ditemukannya ekspresi MITF, sedangkan paling banyak ditemukan tiga melanosit.



Gambar 1. Ekspresi MITF pada kulit vitiligo (A) dan kulit non-vitiligo (B). Panah merah menunjukkan ekspresi MITF dalam satu lapang pandang, pembesaran 400x



Gambar 2. Melanosit yang terdeteksi oleh protein S100 pada kulit vitiligo (A) dan kulit non-vitiligo (B). Panah merah menunjukkan melanosit dalam satu lapang pandang, pembesaran 400x

Tabel 2. Distribusi Hasil analisis ekspresi MITF pada kulit non vitiligo dibandingkan dengan kulit vitiligo menggunakan uji Mann Whitney, di Divisi Kosmetik Medik URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin, RSUD Dr. Soetomo Surabaya Periode 2016

Ekspresi MITF	Median (Minimum- Maksimum)	Nilai p
kulit non vitiligo (n=10)	9,5 (7,00-15,00)	0,000
kulit vitiligo (n=18)	1,0 (0,00-2,00)	

Uji Mann-Whitney. *Mean Rank* kulit non vitiligo 23,50 ; kulit vitiligo 9,50

Secara statistik didapatkan perbedaan yang bermakna antara ekspresi MITF pada kulit non vitiligo dan kulit vitiligo yang diukur dengan pewarnaan MITF pada 2 lapang pandang, $p < 0,001$ ($p < 0,05$), secara klinis terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi MITF pada kulit non-vitiligo dan kulit vitiligo. Hal ini sesuai secara klinis maupun statistik.

Tabel 3. Distribusi Hasil analisis jumlah melanosit pemeriksaan S100 pada kulit non vitiligo dibandingkan dengan kulit vitiligo menggunakan uji Mann Whitney, di Divisi Kosmetik Medik URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin, RSUD Dr. Soetomo Surabaya Periode 2016

Jumlah melanosit menggunakan S100	Median (Minimum- Maksimum)	Nilai p
kulit non vitiligo (n=10)	8,0 (7,00-9,00)	0,000
kulit vitiligo (n=18)	1,0 (0,00-3,00)	

Uji Mann-Whitney. *Mean rank* kulit non vitiligo 23,50 ; kulit vitiligo 9,50

Secara statistik didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah melanosit kulit non-vitiligo dan kulit vitiligo yang diukur dengan pewarnaan antibodi protein S100 pada 2 lapang pandang, $p < 0,001$ ($p < 0,05$), secara klinis terdapat perbedaan bermakna antara jumlah melanosit yang diperiksa dengan protein S100 pada kulit non-vitiligo dan kulit vitiligo.

PEMBAHASAN

Vitiligo merupakan kelainan depigmentasi yang ditandai dengan hilangnya fungsi melanosit di epidermis, penyebabnya multifaktori. Banyak penelitian yang membuktikan bahwa terdapat abnormalitas melanosit secara morfologis maupun fungsi secara spesifik. Penelitian sebelumnya mengemukakan sebuah mekanisme alternatif yang melibatkan MITF, yaitu faktor transkripsi yang mengontrol jalur sintesis melanin. MITF merangsang transkripsi tirosinase, TRP-1 dan DCT yang akan menghasilkan melanin. Penelitian MITF pertama kali dilakukan pada hewan yang menunjukkan pengurangan jumlah melanosit pada vitiligo karena hilangnya MITF.⁷ Pada penelitian ini didapatkan perbedaan yang bermakna secara klinis maupun statistik penurunan ekspresi MITF antara kulit non-vitiligo dan kulit vitiligo. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Kitamura dkk. (2004), yang menemukan perbedaan yang bermakna secara statistik pada kulit vitiligo dibandingkan non-vitiligo. Ekspresi MITF ($p < 0,001$) pada lesi kulit vitiligo lebih rendah dibandingkan dengan kulit non-lesi vitiligo. Ekspresi MITF pada lesi vitiligo lebih rendah bila dibandingkan dengan kulit orang sehat ($p = 0,001$).⁸ Dapat disimpulkan bahwa fungsi MITF dalam meregulasi melanosit berkurang pada pasien vitiligo. Penelitian lain yang meneliti ekspresi MITF dibandingkan dengan penanda melanosit lainnya menyatakan bahwa MITF paling akurat menggambarkan fungsi melanosit. MITF diekspresikan pada inti sel terlihat jelas dan gangguan minimal dari pigmen melanin.⁹ Sehingga dapat disimpulkan pada penelitian ini ekspresi MITF berperan dalam mekanisme terjadinya vitiligo.

Penelitian ini menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara jumlah melanosit kulit vitiligo dan non-vitiligo yang diperiksa dengan S100 secara imunohistokimia. Hal ini sesuai dengan penelitian Filho dkk. yang menunjukkan penurunan jumlah melanosit menggunakan protein S100 pada pasien vitiligo dibandingkan kontrol.¹⁰ Imunohistokimia S100 merupakan prosedur baku yang digunakan untuk mendeteksi melanosit. Baik imunohistokimia MITF dan protein S100 dapat digunakan sebagai indikator keberhasilan terapi vitiligo.

Pada penelitian ini terlihat pada kulit non-vitiligo, ekspresi MITF lebih banyak dibandingkan jumlah melanosit yang dideteksi menggunakan protein S100. Hal ini sesuai dengan teori bahwa melanosit kulit orang normal berfungsi baik.^{1,9} Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendeteksi melanosit pada epidermis dibutuhkan faktor transkripsi utama pada awal diferensiasi melanosit yaitu ekspresi MITF. Penemuan ini menarik, karena

protein S100 merupakan antibodi yang paling sering digunakan untuk mendeteksi melanosit hingga saat ini. Protein S100 sudah digunakan dalam jangka waktu lama untuk mendeteksi melanosit namun afinitas dan sensitivitas belum pernah dievaluasi per kasus.⁹ Penelitian Francesco dkk. yang membandingkan MITF dan protein S100 dalam mendeteksi melanosit menyatakan bahwa MITF lebih akurat dalam menandai melanosit di epidermis.¹¹ Pada penelitian ini, MITF lebih banyak diekspresikan melanosit dibandingkan protein S100.

Sebaliknya pada kulit vitiligo jumlah melanosit yang dideteksi oleh protein S100 lebih banyak dibandingkan dengan ekspresi MITF. Hal sesuai teori lain yang menyatakan bahwa pada vitiligo masih terdeteksi melanosit namun fungsinya menurun.¹² Walaupun hingga saat ini dianggap bahwa tanda khas vitiligo adalah tidak didapatkannya melanosit pada epidermis.¹ Penelitian ini membuktikan bahwa pada pasien vitiligo melanosit masih dapat terdeteksi namun tidak semuanya berfungsi normal.

Evaluasi terapi vitiligo hingga saat ini masih beragam, hingga saat ini belum ada indeks spesifik yang seragam untuk mengukur derajat keparahan vitiligo, tidak seperti kelainan lainnya seperti akne vulgaris, eksema, psoriasis yang sudah memiliki kriteria spesifik untuk mengukur tingkat keparahan dan evaluasi terapi masing-masing. Untuk memperoleh konsensus evaluasi terapi dibutuhkan indeks keparahan vitiligo yang seragam. Metode menegakkan diagnosis keparahan vitiligo dan evaluasi terapi merupakan faktor yang dapat memengaruhi kualitas hidup pasien vitiligo. Kepustakaan menyebutkan terdapat dua puluh macam indikator keberhasilan terapi pada empat puluh tiga penelitian vitiligo.¹¹ Perbedaan ini menyebabkan data tidak sesuai dan tidak dapat dibandingkan. Metode yang paling sering digunakan adalah berdasarkan pengamatan visual. Terdapat variasi yang sangat beragam antar pengamat yang menyebabkan hasil menjadi sangat subjektif. Evaluasi terapi vitiligo secara objektif menggunakan pewarnaan imunohistokimia sudah sering dilakukan, salah satunya menggunakan protein S100 yang mendeteksi protein sitoplasma melanosit. Penelitian yang membandingkan berbagai pewarnaan imunohistokimia penanda melanosit menyatakan MITF merupakan penanda melanosit paling akurat. MITF berperan terhadap mekanisme terjadinya vitiligo dan pemeriksaan imunohistokimia MITF dapat dipertimbangkan sebagai indikator keberhasilan terapi dalam mengevaluasi terapi vitiligo secara objektif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Birlea SA, Spritz RA, Norris DA. Vitiligo. Dalam: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffel DJ, penyunting. Fitzpatrick's Dermatology General Medicine. Edisi ke-8. New York: McGraw Hill Co; 2012. h.792-803.
2. Hutomo S, Sukanto H. Penelitian retrospektif penderita vitiligo di divisi kosmetik medik URJ kesehatan kulit dan kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode 2009-2011. Surabaya. (Unpublished)
3. Kutlubay Z, Karakus O, Engin B, Serdaroglu S. Vitiligo as autoimmune disease. J Turk Acad Dermatol. 2012;6:1262.
4. Park HY, Yaar M. Biology of melanocytes. Dalam: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Leffel DJ, penyunting. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Edisi ke-8. New York: McGraw Hill Co; 2012. h.792-803.
5. Tobin DJ, Swanson NN, Pittelkow MR, Peter EM, Schallreuter KU. Melanocytes are not absent in lesional skin of long duration of vitiligo. J Pathol. 2000; 191:407-16
6. Rosner B. Hypothesis testing: two-sample inference. Taylor M, Seibert D, penyunting. Dalam: Fundamentals of biostatistics. Edisi ke-7. Boston: Cengage Learning Publ; 2011. h.301-10.
7. Dell'anna ML, Picardo M. A review and a new hypothesis for non-immunological pathogenetic mechanisms in vitiligo. Pigment cell res. 2006;19:406-11.
8. Kitamura R, Tsukamoto K, Harada K, Shimizu A, Shimada S, Kobayashi T dkk. Mechanisms underlying the dysfunction of melanocytes in vitiligo epidermis: role of SCF/KIT protein interactions and downstream effector, MITF M. J Pathol. 2004; 463-75.
9. Nybakken GE, Sargen M, Abraham R, Zhang PJ, Ming M, Xu X. MITF Accurately Highlight Epidermal Melanocytes in Atypical Intraepidermal Melanocytic Proliferations. Am J Dermatopathol. 2013;35:25-9.
10. Souza Filho LG, Rivitti EA, Miyauchi LM, Sotto MN, Maria DA, Puejo SST, dkk. Comparative study of vitiligo, halo nevus, and vitiligoid variant of lupus erythematosus by immunological, histological, and immunohistochemical methods. An Bras Dermatol. 2005;80:143-8
11. De Francesco V, Stinco G, Laspina S, Parlangei ME, Mariuzzi L, Patrone P. Immunohistochemical study before and after narrowband (311nm) UVB treatment in vitiligo. Eur J Dermatol. 2008;18:292-6
12. Czajkowski R, Męćin ska-Jundziłł K. Current aspects of vitiligo genetics. Dermatology and Allergology. 2014;31:247-55.