

Understanding the New Innovative Parameter: M2BPGi

Wahyu Siswandari

Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unsoed/ RSUD Margono Soekarjo Purwokerto

Abstrak

Fibrosis hati merupakan akumulasi berlebihan matriks ekstraseluler yang menyebabkan perubahan molekuler maupun histologi hati. Baku emas penegakan diagnosis fibrosis hati adalah pemeriksaan histopatologi yang didapatkan dari biopsi. Beberapa kendala yang terjadi pada biopsi hati menyebabkan dilakukan pengembangan pemeriksaan non invansif. Biomarker nonivasif terbagi dua yaitu direk dan indirek marker. Akhir-akhir ini dikembangkan pemeriksaan baru yaitu Mac-2 Binding Protein Glycosylation Isomer (M2BPGi). M2BPGi merupakan glikobiomarker yang menurut beberapa penelitian berhubungan dengan derajat fibrosis dan risiko kejadian karsinoma hepatoseluler.

Pendahuluan

Penyakit hati kronik merupakan sindrom klinis dan patologis yang berlangsung terus-menerus tanpa penyembuhan dalam waktu paling sedikit enam bulan, yang disebabkan oleh berbagai etiologi (Sujono, 2002). Salah satu penyakit hati kronik yang sering didapatkan adalah sirosis hepatitis yang ditandai dengan pembentukan jaringan ikat difus (fibrosis) serta pembentukan nodul - nodul regeneratif (Friedman, 2004 dalam Nurdjanah, 2006). Fibrosis hati merupakan akumulasi berlebihan matriks ekstraseluler (*Extra Cellular Matrix /ECM*) yang menyebabkan perubahan, baik secara molekuler maupun histologi hati (Gressner *et al.*, 2007; Amirudin, 2007; Dufour, 2005).

Baku emas penegakan diagnosis fibrosis hati adalah biopsi dan pemeriksaan histopatologi hati. Beberapa kendala terjadi pada biopsi hati yang bersifat invasif, sehingga menyebabkan pengembangan pemeriksaan non invansif. Biomarker nonivasif terbagi dua yaitu direk dan indirek marker. Direk marker digunakan untuk menilai tingkat fibrosis didasarkan pada mekanisme seluler dan molekuler dari proses fibrogenesis, antara lain: hyaluronan dan laminin, kolagen (prokolagen III, type IV), kolagenase dan inhibitornya (metalloproteins), dan beberapa sitokin terutama TGF β 1 dan TNF (Plebani dan Basso, 2007 ; Gressner *et al.*, 2007). Indirek marker mengukur biokimia tes fungsi hati yang muncul akibat kerusakan seluler dari proses fibrosis hati, antara lain: aminotransferase (*aspartat transferase/AST* dan *alanin transferase/ALT*), alkali fosfatase (ALP) dan *gamma glutamil transpeptidase* (GGT) yang meningkat, kadar bilirubin,

albumin, serta studi koagulasi yang memanjang(Nurdjanah, 2006; Sulaiman 2006; Gish dan Locarnini, 2003).

Akhir-akhir ini berkembang pemeriksaan baru untuk melihat fibrosis hati pada penyakit hati kronik yaitu Mac-2 Binding Protein Glycosylation Isomer (M2BPGi). M2BPGi adalah isomer modifikasi rantai gula dari Mac-2 Binding Protein.

Proses fibrosis merupakan proses dinamik yang berpotensi untuk mengalami regresi dan progresi, sehingga disepakati bahwa fibrosis hati bersifat reversibel (Gieling, 2008; Pinzani, 2008; Friedman, 2008). Namun demikian, sampai saat ini belum diketahui dengan pasti derajat fibrosis yang masih bisa reversibel. Oleh karena itu, penting untuk melakukan pengembangan marker non invasif untuk penegakan diagnosis dini dan penentuan derajat fibrosis agar dapat dilakukan terapi seawal mungkin.

Fibrosis Hati

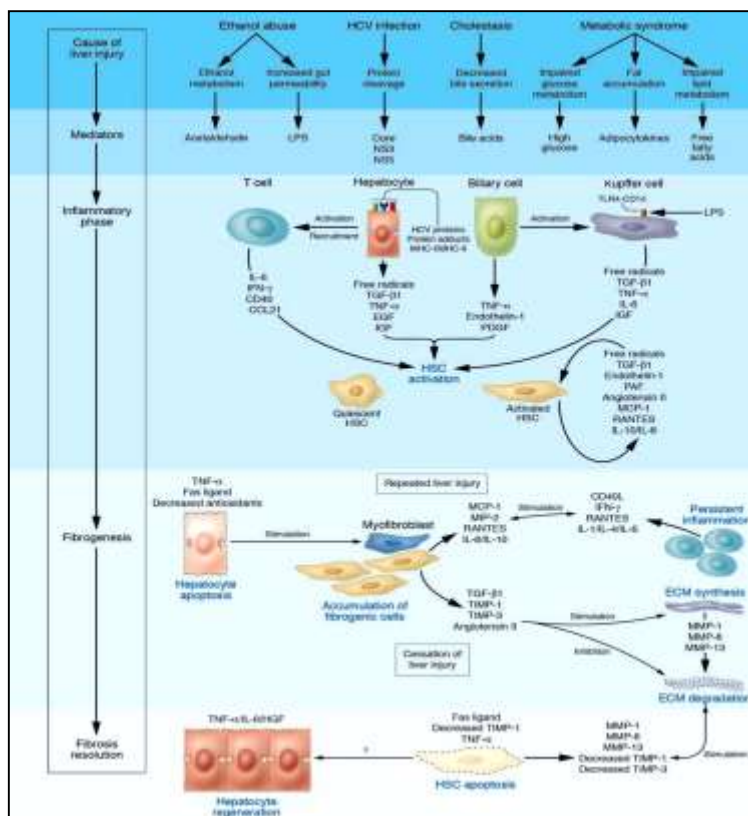
Mekanisme Fibrosis

Fibrosis hepatitis merupakan respon penyembuhan luka terhadap kerusakan di hati yang melibatkan banyak tipe sel dan mediator. Mekanisme fibrogenesis diaktifkan oleh proses perlukaan akut (Friedman, 2008), yang diperantaraioleh bermacam-macam mediator antara lain: alkohol, virus hepatitis, kolestasis, sindroma metabolik, dan aflatoksin (Bataller dan Brenner, 2005; Lelosutan, 2008; Chen *et al.*, 2007). Terbentuknya fibrosis membutuhkan rangsangan yang terus menerus (Friedman, 2008).

Mediator-mediator dengan berbagai sebab tersebut akan menyebabkan reaksi inflamasi. Fase inflamasi ditandai dengan teraktifasinya sel T, hepatosit, sel biliaris dan sel Kupffer sehingga akan menghasilkan sitokin dan produk lain. Sel hepatosit yang teraktivasi akan menghasilkan radikal bebas, TGF- β 1, *tumor necrosis factor alfa* (TNF- α), *endothelial growth factor* (EGF) dan *insulin-like growth factor* (IGF). Sitokin tersebut akan mengaktivasi *hepatic stellate cell* (HSC). Aktivasi sel Kupffer juga akan menyebabkan diproduksi radikal bebas, TGF- β 1, TNF- α , *interleukin-6* (IL-6) dan IGF yang juga akan mengaktivasi HSC. *Hepatic stellate cell* (HSC) yang teraktivasi akan mengeluarkan radikal bebas, TGF- β 1, *endhotelin-1*, *platelet activating factor* (PAF), *angiotensin II*, *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1), *regulated on activation normal T expressed and secreted* (RANTES), TNF- α , IL-8 dan IL-10 yang akan meningkatkan jumlah HSC yang teraktivasi. Akumulasi HSC teraktivasi akan mengeluarkan TGF- β 1,

TIMP-1, TIMP-3, dan angiotensin II yang akan menstimulasi sintesis *extra cellular matrix* (ECM). Mekanisme fibrogenesis ini seperti terlihat pada gambar 1 (Friedman, 2008; Moreno dan Bataller, 2008; Bataller dan Brenner, 2005). Saat rangsangan hilang, maka proses fibrogenesis akan berhenti dan terjadi proses resolusi sehingga jaringan akan kembali normal. Namun jika rangsangan terjadi terus menerus, maka fibrogenesis tetap terjadi sehingga pembentukan jaringan fibrotik akan berlangsung terus hingga sampai tahap sirosis.

Distribusi bahan fibrosis tergantung pada penyebab awal kerusakan hati. Pada infeksi virus hepatitis kronik dan gangguan kolestasis kronik, jaringan fibrosis akan terlokalisasi pada traktus portal, sedangkan pada penyakit hati yang dipicu oleh alkohol akan terakumulasi pada daerah perisentral dan perisinusoid (Bataller dan Brenner, 2005).



Gambar 1. Mekanisme fibrosis hati (Bataller dan Brenner, 2005)

Klasifikasi derajat fibrosis

Fibrosis diklasifikasikan dalam beberapa derajat, berdasarkan pemeriksaan histopatologi jaringan hati yang didapatkan dari biopsi. Terdapat beberapa macam klasifikasi. Klasifikasi menurut Knodell *et al.* (1981) berdasarkan skor yang disebut *histology activity index* (HAI). Cara penilaian lain adalah dengan sistem Ishak (1994) yang melihat derajat aktivitas hepatitis kronik berdasar penilaian inflamasi di daerah portal, nekrosis *piecemeal*, nekrosis *spotty bridging* dan/ nekrosis multi-acinar. Sistem penilaian lain yang banyak digunakan adalah sistem Metavir yang dibuat oleh *The French METAVIR Corporative Study Group*, yang menilai berdasarkan kombinasi dari fokal lobular nekrosis, inflamasi portal, nekrosis *piecemeal*, dan *bridging necrosis* (Brunt, 2000). Klasifikasi derajat fibrosis seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Skoring fibrosis menurut beberapa klasifikasi (Ghany *et al.*, 2009)

Derajat	IASL	Batts-Ludwig	Metavir	Ishak
0	No fibrosis	No fibrosis	No fibrosis	No fibrosis
1	Mild fibrosis	Fibrous portal expansion	Periportal fibrotic expansion	Fibrous expansion of same portal areas with or without short fibrous septa
2	Moderate fibrosis	Rare bridges or septae	Periportalseptae 1 (septum)	Fibrous expansion of most portal areas with or without short fibrous septa
3	Severe fibrosis	Numerous bridges or septae	Porto-central septae	Fibrous expansion of most portal areas with occasional portal to portal bridging
4	Cirrhosis	Cirrhosis	Cirrhosis	Fibrous expansion of most portal areas with marked bridging (portal to portal and portal to central)
5				Marked bridging (portal to portal and portal to central) with occasional nodules (incomplete cirrhosis)
6				Cirrhosis

IASL: International Association for the Study of the Liver

Pemeriksaan Laboratorium Pada Fibrosis Hati

Biomarker direk dan indirek

Pemeriksaan laboratorium pada fibrosis hati termasuk pemeriksaan noninvasif. Biomarker noninvasif terbagi dua yaitu direk dan indirek marker. Direk marker digunakan

untuk menilai tingkat fibrosis didasarkan pada mekanisme seluler dan molekuler dari proses fibrogenesis, sedangkan indirek marker mengukur biokimia tes fungsi hati yang muncul akibat kerusakan seluler dari proses fibrosis hati (Cequera, 2014; Saad, 2014; Ghaleb and Salah, 2011; Plebani dan Basso, 2007; Gressner *et al.*, 2007; Nurdjanah, 2006; Sulaiman 2006). Biomarker direk dan indirek seperti terlihat pada Tabel 2. Pemeriksaan lain yang saat ini berkembang adalah glikobiomarker yang berbasis glikoprotein, antara lain fucosylatedhaptoglobin, vitronectin, antithrombin III dan salah satunya adalah Mac-2 Binding Protein (M2BP) (Zhang *et al*, 2016).

Tabel 2. Biomarker direk dan indirek (Cequera, 2014)

Indirect markers	
Simple liver function tests	Aminotransferases (ALT, AST), γ -glutamyl transferase (GGT), bilirubin, albumin
Hematologic variables	Platelet count and prothrombin times
Others	Glucose, insulin, apolipoprotein, cholesterol, haptoglobin
Direct markers	
Collagen, ECM molecules and enzymes	Procollagen N-terminal peptide, hyaluronic acid, type IV collagen, laminin, fibronectin, YKL-40, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9
Cytokines	TGF β , TNF α , angiotensin-II
Proteomic markers	Galectina-3 binding protein (G3BP), microfibril-associated protein 4 (MFAP-4), tropomyosin
Genetic markers	SNP of AZIN1, TLR4, TRPM5, AQP2, STXBP5L
AQP2: aquaporin 2; AZIN1: ornithine decarboxylase antizyme inhibitor; STXBP5L: syntaxin-binding protein 5-like; TLR4: Toll-like receptor 4; TRPM5: long transient receptor potential channel 5.	
Modified from Adams <i>et al.</i> ³⁶	

Selain marker direk dan indirek, dikenal juga panel pemeriksaan yang banyak digunakan untuk diagnosis fibrosis, antara lain APRI, PGA, FibroTest, Hepascore, seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Panel pemeriksaan fibrosis (Cequera, 2014)

Study	Serologic test	Sensitivity (%) ^a	Specificity (%) ^a
APRI	AST/platelets	89	75
PGA	Prothrombin, GGT, apolipoprotein A1	91	81
PGAA	Prothrombin times, GGT, apolipoprotein A1, α2-macroglobulin	66	72
Forns	Age, platelets, GGT, cholesterol	94	51
FibroTest	Age, sex, GGT, bilirubin, α2-macroglobulin, apolipoprotein A1, haptoglobin	75	85
HepaScore	Age, sex, bilirubin, GGT, hyaluronic acid, γ2-macroglobulin	71	84
FIB-4	Platelets, ALT, AST, age	70	74
Fibroindex	Platelets, AST, GGT	78	74
FibroMeter	Platelets, AST, age, γ2-macroglobulin, prothrombin times, hyaluronic acid, urea	81	84

ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; GGT: γ-glutamyl transferase.
 Modified from Gressner²² and Adams.²⁶
^a Values correspond to comparisons made in F4 patients.

Mac-2 Binding Protein Glycosylation Isomer (M2BPGi)

Mac-2 adalah galactose-binding lectin yang disekresi oleh makrofag yang teraktivasi, serta sel epitel di ginjal dan usus. Pada awalnya, M2BP diketahui diproduksi dari sel adenokarsinoma kolon yang terbagi menjadi dua tipe glikoprotein yaitu M2BP-1 dan M2BP-2 (Rosenberget *al*, 1991). M2BP diduga berperan dalam embolisasi sel tumor selama proses metastasis melalui interaksi dengan galectin-3 (Inohara *et al*, 1996).

M2BPGi adalah isomer glikosilasi dari M2BP. Glikosilasi dihubungkan dengan fisiologi dan patologi transformasi keganasan dan metastasis. Glikan yang merupakan produk glikosilasi sangat dipengaruhi status penyakit daripada protein. Sehingga penggunaan glikoprotein yang mempunyai glikan spesifik merupakan marker yang menjanjikan untuk diagnosis penyakit (Zhang *et al*, 2016).

M2BP telah digunakan sebagai biomarker untuk beberapa penyakit antara lain karsinoma hepatoseluler, sirosis hati, fibrosis hati, fibrosis paru, seperti terlihat pada Tabel 4. Tampak bahwa M2BP mempunyai sensitivitas dan spesifitas yang cukup baik (Zhang *et al*, 2016; Tawara, 2016). Penelitian Yamasaki *et al* (2014) menggunakan M2BP yang digabung dengan Wisteria floribunda agglutinin-positive human (WAF⁺M2BP) mendapatkan hasil bahwa peningkatan kadar WAF⁺M2BP pada tiap derajat fibrosis akan meningkatkan risiko karsinoma hepatoseluler.

Tabel 4. Penggunaan glikobiomarker pada penyakit hati (Zhang *et al*, 2016)

Liver disease	Glycobiomarker	Specimen number	AUC	Cut-off	Sensitivity	Specificity	Application in the clinic	References
HCC	Fuc-Hp	50HCC 46LC	0.792	N.A	72.0%	75.0%	Early diagnosis of alcohol consumption-related HCC	Zhu, 2014
	Bifucosylated Hp	14N	0.834	N.A	N.A	N.A	Early diagnosis and monitoring of HCC	
	Fuc-Hp	92HCC 81LC 145CH 242N	0.840	1655.4U/ml	68.8%	87.5%	Early diagnosis and monitoring of HCC in long-term follow-up LC patients	Asazawa, 2015
			0.836	N.A	81.3%	43.8%	Combination with AFP for early diagnosis of HCC in long-term follow-up patients	
			0.750	4.98	50.0%	100.0%	Early diagnosis	
			0.618	375U/ml	50.0%	76.3%	Diagnosis of HCC in short-term LC-early HCC follow-up patients	
			0.672	N.A	83.3%	54.8%	Combination with AFP for early diagnosis	
	Fuc-hemopexin	≥300HCC	0.952	N.A	92.0%	92.0%	Diagnosis of HCC	Comunale, 2009
	Fuc-PON1	90LC 90HCC	0.803	1.69	80.0%	64.4%	Early diagnosis of HCC from LC	Zhang, 2015
			0.850	N.A	90.0%	75.0%	Diagnosis for AFP HCC	
	Fuc-GP73	54LC 54HCC	0.807	3.18	85.2%	63.0%	Early diagnosis of HCC from LC	Jiang, 2015
			0.953	N.A	94.4%	88.9%	Combination with AFP-L3 for early diagnosis	
LC	WFA ⁺ -M2BP	707HCV	0.762	N.A	N.A	N.A	Prediction of the development of HCC at 1 year	Yamasaki, 2014
			0.792	N.A	N.A	N.A	Prediction of the development of HCC at 2 years	
			0.832	N.A	N.A	N.A	Prediction of the development of HCC at 3 years	
			0.858	N.A	N.A	N.A	Prediction of the development of HCC at 5 years	
			0.821	N.A	N.A	N.A	Prediction of the development of HCC at 7 years	
			0.800	N.A	N.A	N.A	Prediction of the development of HCC at 10 years	
	WFA ⁺ -M2BP	303PBC	0.883	0.70	N.A	N.A	Prediction of liver fibrosis stage 1 (F _≥ 1)	Umemura, 2015
			0.979	1.00	N.A	N.A	Prediction of significant fibrosis (F _≥ 2)	
			0.933	1.40	N.A	N.A	Prediction of liver fibrosis stage 3 (F _≥ 3)	
			0.965	2.00	N.A	N.A	Prediction of severe fibrosis (F _≥ 4)	
	WFA ⁺ -M2BP	24CH 124LC	0.942	N.A	N.A	N.A	Fibrosis marker for CH diagnostics	Narimatsu, 2015
			0.875	N.A	N.A	N.A	Fibrosis marker for chronic cirrhosis	
	WFA ⁺ -M2BP	159HCV	0.740	2.17	78.4%	64.2%	Diagnosis of advanced fibrosis (F _≥ 3)	Ura, 2016
			0.830	2.14	83.6%	73.6%	Diagnosis of liver fibrosis (F _≥ 2)	
NASH	M2BP +Fuc-Hp	124NASH	0.854	N.A	81.1%	79.3%	Diagnosis of NASH from NAFLD	Kamada, 2015
		382NASH 803N	0.844	N.A	71.4%	82.3%	Diagnosis of NASH from NAFLD	

Tabel 5. Hubungan WFA+M2BP dengan risiko karsinoma hepatoseluler (Yamasaki *et al*, 2014)

Features	HR (95% CI)	P Value
Fibrosis	FO-F1	1
	F2	0.883 (0.411-1.897)
	F3	1.347 (0.624-2.906)
	F4	3.133 (1.536-6.390)
AFP	<6 ng/mL	1
	6-20 ng/mL	1.710 (0.983-3.038)
	≥20 ng/mL	3.417 (1.807-6.460)
Age	<57 years	1
	≥57 years	2.039 (1.278-3.252)
IFN therapy	No therapy	1
	Non-SVR	0.729 (0.467-1.137)
	SVR	0.089 (0.027-0.288)
WFA ⁺ -M2BP	<1	1
	1-4	5.155 (1.180 - 22.500)
	≥4	8.318 (1.784 - 38.791)

Abbreviations: HR, hazard ratio; CI, confidence interval.

*Determined by multivariate analysis.

Pemeriksaan M2BP maupun M2BPGi menggunakan metode sandwich ELISA. Spesimen yang digunakan adalah serum, plasma atau jaringan. Saat ini telah tersedia pemeriksaan M2BPGi secara otomatis.

Penutup

M2BPGi adalah glikobiomarker yang merupakan isomer dari modifikasi rantai gula yang terbentuk akibat perubahan kondisi sel. Penelitian menunjukkan bahwa M2BPGi berhubungan dengan derajat fibrosis, sehingga dapat digunakan sebagai marker diagnostik.

Daftar Pustaka

- Amirudin, R. 2007. Fibrosis hati. Dalam: Sulaiman, A., Akbar, N., Lesmana, L.A., Noer, S., editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati*. Edisi I. Jayaabadi. Jakarta. 329-332.
- Bataller, R., Brenner, D A. 2005. Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 115:209–218
- Brunt, E.M. 2000. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: The Knodell Histology Activity Index and Beyond. *Hepatology*. 31 (1): 241 – 246.
- Cequera, A., Mendez, G. L. 2014. Biomarkers for liver fibrosis: Advances, advantages and disadvantages. *Revista de Gastroenterología de México*. 79(3):187-199
- Chen, C.H., Wang, M.H., Wang, J.H., Hung, C.H., Hu, T.H., Lee, S.H., Tung, H.D., Lee, C.M., Changchien, C.S., Chen, P.F., Hsu, M.C., Lu, S.N. 2007. Aflatoxin exposure and hepatitis C virus in advanced liver disease in a hepatitis C virus–endemic area in Taiwan. *American Journal of Tropical Medicine Hyg*. 77(4): 747 – 752.
- Dufour, R. 2005. Assessment of liver fibrosis: can serum become the sample of choice? *Clinical chemistry*. 10: 51- 57.
- Friedman, S.L. 2008. Mechanism of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 134:1655–1669.
- Ghaleb, H. A., Salah, S. 2011. A novel hypothesis for pathophysiology of hepatitis fibrosis in hepatitis C viral infection. *Hypothesis*. 9(1): e8.
- Gielsing, R.G., Burt, A.D., Mann, D.A. 2008. Fibrosis and cirrhosis reversibility molecular mechanisms. *Clinical Liver Disease*. 12: 915–937.
- Gish, R.G., Locarnini, S. 2003. Chronic Hepatitis B Viral Infection. In: *Yamada's Textbook of Gastroenterology*. 4th Ed. Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Philadelphia.

Gressner, O.A., Weiskirchen, R., Gressner, A.M. 2007. Biomarkers of liver fibrosis: Clinical translation of molecular pathogenesis orbased on liver-dependent malfunction tests. *Clinica Chimica Acta*. 381:107–113.

Inohara, H., Akahani, S., Kohts, K., Raz, A. 1996. Interactions Between Galectin-3 And Mac-2-Binding Protein Mediate Cell-Cell Adhesion. *Cancer Research*. 56: 4530-4534

Lelosutan, S. A. R. 2008. Peran Hepatoprotektor Pada Penyakit Hati Kronis. Diakses 16 Oktober 2009. Available at <http://forahmi.org>.

Moreno, M., Bataller, R. 2008. Cytokines and Renin-Angiotensin system signaling in hepatic fibrosis. *Clinical Liver Disease*. 12: 825–852

Nurdjanah, S. 2006. Sirosis Hepatis. Dalam: Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M. Setiati., editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I. Edisi IV. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam. FK UI. Jakarta.

Pinzani, M., Vizzutti, F. 2008. Fibrosis and cirrhosis reversibility: clinical features and implications. *Clinical Liver Disease*. 12: 901-913.

Plebani, M., Basso, D. 2007. Non-invasive assessment of chronic liver and gastric diseases. *Clinica Chimica Acta*. 381: 39–49.

Rosenberg, I., Cherayil, B., Isselbacher, K. 1991. Mac-2-binding glycoproteins: putative ligands for a cytosolic p-galactosidelectin. *The Journal Of Biological Chemistry*. 266(28): 18731-1873

Saad, E. A. 2014. Non-invasive Assessment of Liver Fibrosis Using Serum Markers. Sujono, H. 2002. Sirosis Hepatis. Dalam: *Gastroenterologi*. Edisi 7. Bandung.

Sulaiman, A. 2006. Pendekatan klinis pada pasien ikterus. Dalam: Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M. Setiati., editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I. Edisi IV. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI. Jakarta. P 422 – 425

Tawara, S., Tatsumi, T., Sakamori, R., Hiramatsu, N. 2016. Evaluation of Fucosylated Haptoglobin and Mac-2 Binding Protein as Serum Biomarkers to Estimate Liver Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C. *PLOS ONE*. DOI:10.1371.

Yamasaki, K., Tateyama, M., Abiru, S., Komori, A., Nagaoka, S., Saeki, A., *et al.* 2014. Elevated Serum Levels of Wisteria floribunda Agglutinin-Positive Human Mac-2 Binding Protein Predict the Development of Hepatocellular Carcinoma in Hepatitis C Patients. *Hepatology*. 60:1563-1570

Zhang, S., Shang, S., Liu, Y. 2016. Glycobiomarkers for precise diagnosis of liver diseases. *Precision Medicine*.; 2: e1194.