

BAB VI

PEMBAHASAN

Studi ini dilakukan untuk meneliti pengaruh *escalating dose antigen specific immunotherapy* menggunakan *self antigen* dsDNA pada hewan coba model LES. Menurut Xie, (2014) pembentukan anti dsDNA berkurang setelah peningkatan *autoantigen uptake* yang menginduksi toleransi imun pada hewan coba model LES. Oleh sebab itu, dilakukan observasi pada mencit untuk melihat manifestasi klinis LES akibat induksi *self antigen* dsDNA.

6.1 Manifestasi Klinis LES

Anti nuklear antibodi adalah autoantibodi yang mampu untuk mengikat struktur-struktur didalam nukleus dari sel-sel lekosit. ANA merupakan immunglobulin (IgM, IgG, dan IgA) bereaksi dengan inti lekosit sehingga terbentuknya antibodi iaitu anti-DNA dan anti D-nukleoprotein (anti-DNP). Anti-DNA dan anti DNP hampir selalu dijumpai pada penderita LES. ANA membentuk autoantibodi yang mempunyai spesifikasi antigen yang berbeda-beda. Antigen nuklear meliputi *single stranded* dan *double stranded DNA*, *histone proteins*, *nucleosome (histone DNA complex)*, *centromere proteins*, dan *extractable nuclear antigens (ENA)* (*Smith antigen (Sm)*, *Ro*, *La*, *ribonucleoprotein*) dan lain-lain. (Wijaya dan Bahrun, 2017). Terjadi peningkatan kadar ANA yang tertinggi pada kelompok mencit kontrol positif diikuti dengan kelompok mencit kontrol negatif, perlakuan A, C dan B. Dapat disimpulkan bahwa pada kontrol positif mencit mengalami autoimun namun pada perlakuan injeksi *self antigen* dsDNA, perlakuan A adalah yang paling tinggi dibanding perlakuan B dan C. Menurut *American College of Rheumatology*, hanya sekitar 11-13% orang yang positif ANA

pada pasien LES dan 15% orang yang sehat juga bisa terjadinya positif ANA. Sehingga uji ANA positif tidak signifikan untuk mendiagnosis LES ataupun penyakit autoimun yang lain.

Selain itu, manifestasi penurunan berat badan juga tampak pada pasien LES. Terjadinya penurunan berat badan karena gangguan motilitas pada sistem gastrointestinal yang dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri dan menyebabkan beberapa gangguan gejala seperti dyspepsia, gangguan malabsorpsi, dan mual. (Manole, *et al.*, 2011). Pada penelitian ini tidak didapatkan perubahan berat badan yang signifikan. Hal ini disebabkan oleh banyak kemungkinan seperti usia mencit yang semakin bertambah atau mencit yang mempunyai manifestasi klinis yang berbeda-beda seperti sindroma nefrotik.

6.2 Perubahan Kadar TGF- β

TGF- β dihasilkan oleh berbagai sel diantaranya eosinofil, makrofag, endothel, chondrosit, dan sel Treg yang teraktivasi (Chen and Konkel, 2010). Namun, *downregulation* pada kadar TGF- β dikatakan paling konsisten dengan abnormalitas pada pasien LES. Hal ini demikian karena TGF- β merupakan *immune modulating* yang berfungsi pada homeostasis dengan memproduksi sel Treg. (Merok *et al.*, 2010). Kemampuan Treg menurun dalam melakukan diferensiasi dan berlaku abnormalitas pada sel CD4+ pada mencit model LES dan membuat sel cenderung melakukan diferensiasi menjadi sel Th17.

Pada kelompok kontrol positif kadar TGF- β mengalami penurunan karena induksi pristane mengakibatkan aktivasi sel T autoreaktif dan produksi

autoantibodi. TGF- β mempunyai potensi pada immunosupresi dan berperan penting untuk proliferasi dan apoptosis sel. (Metawie *et al.*, 2015). Pada penelitian sebelumnya, didapatkan penurunan yang signifikan pada fungsi sel Treg karena telah terjadinya defek pada fungsi sel Treg berbanding jumlah sel Treg pada *multiple sclerosis* (mirip dengan penyakit autoimun yang lain). Defek pada sel Treg terganggu karena terjadi netralisasi toksin seperti TGF- β yang dipercayai dapat memperbaiki karakteristik lesi inflamasi pada MS. (Mirshafiey dan Mohsenzadegan, 2009).

TGF- β mengalami peningkatan yang begitu signifikan pada mencit dengan perlakuan B disebabkan oleh toleransi sistem imun. Menurut Johnston *et al.*, 2016, TGF- β merupakan sitokin yang unik karena berfungsi baik induksi maupun fungsi sel Treg dan menginduksi toleransi melalui mekanisme *Foxp3-independent*. Sel Treg menghasilkan IL-10 yang berfungsi sebagai immunosupresif, menghambat fungsi makrofag yang berfungsi sebagai fagositosis dan paparan terhadap APC. Selain itu, menghasilkan TGF- β yang menghambat aktivitas sel T dan makrofag. Pada pemberian *self antigen* dsDNA dengan konsentrasi 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), 1 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), 10 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), sistem imun mengalami desensitasi yang mana terjadinya toleransi. Peningkatan aktivitas sel Treg secara teori adalah disebabkan oleh toleransi perifer yang diinduksi ketika *self antigen* dsDNA yang diekspresikan dikenali oleh sel T yang matur sehingga terjadinya inaktivasi fungsi ataupun *anergy* dan disupresi oleh sel Treg yang meningkat. (Abbas *et al.*, 2010).

Pada mencit perlakuan A dengan pemberian *self antigen* dsDNA konsentrasi 0.01 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), 1 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), TGF- β kembali mengalami penurunan sedikit berbanding perlakuan A. Hal ini mungkin disebabkan oleh induksi sel T perifer yang belum sepenuhnya teraktivasi sehingga

sel Treg yang dihasilkan tidak dapat memproduksi sitokin seperti IL-10 dan TGF- β . Kemudian tidak berlaku induksi sel T dengan melalui FoxP3 yang diperantarai oleh TGF- β yang diperlukan untuk supresi imun pada sel T (Akdis et al., 2015). Disregulasi dari sel Treg dan sel Th17 menyebabkan ketidakseimbangan antar sel. Hal yang mendasari abnormalitas ini mungkin disebabkan oleh ketidakseimbangan mediator seperti IL-6 dan TGF- β . (Omenetti.S et al., 2015) dan juga gangguan fungsi sel dendritik pada LES dalam menginduksi sel T yang naif. (Estrada-Capetillo, et al., 2013).

Penurunan TGF- β menyebabkan peningkatan aktivitas sel T, sel B dan penurunan Treg sehingga terjadi supresi dari toleransi sistem imun sentral maupun perifer. Hal ini berlaku pada perlakuan C yaitu mencit yang diinjeksi pristane dan dsDNA konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), 10 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml), 50 $\mu\text{g/ml}$ (0.5 ml) secara berurutan. Sitokin yang diproduksi oleh sel Treg seperti IL-10 dan TGF- β berkurang sehingga terjadi peningkatan aktivasi sel T. Tambahan pula, mekanisme kompensasi tubuh mencit yang sudah tidak mampu lagi mengatur dominasi sel Th17 menyebabkan penurunan yang signifikan. Dosis *self antigen* dsDNA yang terlalu tinggi menyebabkan kegagalan toleransi sistem imun. Menurut Harada et al., 2007 terjadi diferensiasi sel Th17 melalui faktor transkripsi STAT3 yang diaktivasi oleh ROR γ t meningkat pada LES. Pada penelitian terdahulu didapatkan bahwa adanya aktivasi sel T efektor dan memori yang berbeda dengan sel T naif. Kegagalan toleransi pada sel tersebut ketika dilakukan pemberian *antigen-based immunotherapy* (AIT) menyebabkan kegagalan sistem imun. (MacLeod M.K. et al., 2015)

Pada penelitian yang terdahulu didapatkan bahwa injeksi perbulan artificial peptide secara signifikan telah menunda onset terjadinya nefritis, induksi

sel Treg, penurunan level autoantibodi dan meningkatkan survival pada hewan coba model LES. Namun demikian dosis yang optimal dan waktu administrasi untuk pemberiannya tidak dapat dijelaskan. Sedangkan pada penelitian yang telah dilaksanakan, sel Treg mengalami peningkatan aktivitas yang signifikan pada dosis dsDNA konsentrasi I 0.01 µg/ml (0.5 ml), 0.1 µg/ml (0.5 ml), 1 µg/ml (0.5 ml) secara berurutan.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Kesimpulannya, penelitian ini masih memerlukan perbaikan untuk diperbetulkan pada penelitian yang akan datang. Sampel darah mencit mengalami kekurangan karena ada mencit yang mati sebelum dilakukan intervensi pembedahan. Selain itu, pengambilan sampel darah untuk dilakukan pengukuran kadar TGF-β mengalami lisis. Demikian juga, masih diperlukan penelitian untuk membahas efek samping secara klinis yang ditimbulkan ketika diberi intervensi *self antigen* dsDNA yang diberikan secara bertahap untuk mendapatkan standar dosis dsDNA yang diperlukan untuk terapi LES pada penelitian yang lebih lanjut.