

BAB 6

PEMBAHASAN

Leukemia akut merupakan keganasan klonal pada sumsum tulang yang ditandai dengan terjadinya perkembangan yang berhenti (*arrest of development*) seri limfoid atau seri myeloid pada tahap awal perkembangannya (sel blas). Hal ini disebabkan karena ekspresi gen tertentu yang abnormal sebagai akibat dari translokasi kromosom. Akibatnya, terjadi kelainan proliferasi dan apoptosis yang ditandai dengan tingginya ekspresi NFkB (Shimizu *et al*, 2009).

NFkB merupakan faktor transkripsi yang mengontrol berbagai macam respon biologis. NFkB memerankan fungsi regulasi dari respon imun, inflamasi dan onkogenesis dengan meregulasi ekspresi gen yang terlibat dalam pembentukan dan progresifitas kanker seperti proliferasi, migrasi, dan apoptosis. Pada beberapa kanker NFkB mengalami mutasi sehingga menyebabkan kegagalan apoptosis pada sel yang mengalami keganasan tersebut (Gilmore, 2007).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh *Unitat de Bioquímica* pada kultur sel kanker colon, menyatakan bahwa aspirin bekerja dengan menghambat aktivasi enzim inhibitor kappa β kinase yang merupakan enzim pendegradasi inhibitor kappa B (I κ B) di sitoplasma. Dengan terhambatnya enzim inhibitor kappa β kinase tersebut, I κ B tidak terdegradasi sehingga NFkB tetap pada bentuk inaktif. Dengan menekan aktivasi NFkB maka aktivitas gen supresor tumor p53 yang mengalami mutasi juga terhambat. Hal tersebut pada akhirnya

menghasilkan suatu regulasi proliferasi dan meningkatkan apoptosis yang ditandai dengan penurunan jumlah sel yang mengalami keganasan tersebut (Shimizu *et al.*, 2009).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Bellosillo (1996) menggunakan dosis aspirin 1 sampai 10 mmol/L untuk menginduksi apoptosis dan aktivasi kaspase pada *B-CLL lymphocyte* menunjukkan bahwa efek yang dapat diobservasi yaitu pada dosis aspirin 2,5 sampai 15 mmol/L (Bellosillo *et al.*, 1998). Sedangkan pada penelitian ini menggunakan kombinasi antara elektroporasi dengan menggunakan paparan listrik yang bersifat assistif dan aspirin yang terbagi dalam tiga dosis didapatkan rata-rata prosentase ekspresi NFkB sebesar K + : 49,12% PA1: 24,62% (dosis aspirin 2,5 mmol) PA2: 12,46% (dosis aspirin 5 mmol) dan PA3: 4,96% (dosis aspirin 10 mmol). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat penurunan prosentase ekspresi NFkB dengan penambahan dosis. Dan penambahan paparan listrik disini sebesar 200 Hz selama 5 detik menyebabkan perubahan medan listrik yang diinduksi oleh elektroda sehingga membuka pori membran akibat induksi listrik atau biasa disebut elektroporasi sehingga dapat meningkatkan uptake obat-obatan ke dalam sel dan obat dapat bekerja dengan maksimal tanpa melalui membran barrier sel. Secara otomatis pada akhirnya diperlukan dosis obat yang lebih sedikit untuk mendapatkan efektifitas yang sama dengan pemberian tanpa paparan pulsasi listrik (Andre *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini terbukti di dapatkan penurunan ekspresi NFkB sebagai faktor transkripsi yang meregulasi COX-2 dan gen supresor tumor p53 yang bermakna antar kelompok. Ekspresi NFkB paling rendah berada pada perlakuan

PA3 dengan dosis aspirin 10 mmol/L dan pulsasi listrik 200Hz selama 5 detik ($p = 0,000$).

Pada hasil analisis korelasi, didapatkan hasil yang cukup kuat ($r = -0,948$) dan signifikan ($p = 0,000$) mengenai hubungan antara peningkatan dosis aspirin yang diberikan dengan prosentase ekspresi NFkB pada kultur sel mononuklear darah tepi pasien leukemia akut. Dapat disimpulkan bahwa semakin besar dosis aspirin, maka semakin kecil ekspresi NFkB yang menunjukkan semakin meningkatnya apoptosis pada sel yang mengalami keganasan tersebut. Sedangkan pada analisis regresi linier didapatkan hubungan negatif bermakna antara dosis aspirin dan ekspresi NFkB, dimana ekspresi NFkB dipengaruhi oleh pemberian dosis aspirin sebesar 95%. Apoptosis sel kultur mononuklear yang ditandai dengan penurunan ekspresi NFkB dapat diprediksi dengan rumus: Ekspresi NFkB = $58,950 - 14,464 \times (\text{dosis aspirin yang diwakili dengan kode})$. Namun, tampaknya penurunan jumlah sel ini dapat juga diperankan oleh faktor selain mempengaruhi ekspresi NFkB. Hal tersebut menunjukkan bahwa penghambatan apoptosis sel mononuklear pada leukemia akut tidak hanya diperankan oleh NFkB, tapi juga diperankan oleh beberapa faktor lain yang saling berinteraksi antara lain, peningkatan ekspresi pro-apoptosis Bax dan BCL-2, penurunan ekspresi anti-apoptosis kaspase 3, dan/atau faktor proliferasi NFkB.

Selain dari jalur apoptosisnya sendiri, terdapat pula berbagai faktor yang ikut mempengaruhi apoptosis sel mononuklear leukemia akut tersebut yang dapat disebabkan karena adanya respon individual pasien yang berbeda-beda seperti: staging kanker pasien, fenotipe dan genotipe pasien, status gizi, usia, jenis leukemia, dan sebagainya yang tidak mungkin diseragamkan pada penelitian ini. Penelitian ini mampu menunjukkan peran NFkB sebagai suatu

faktor transkripsi yang mampu memodulasi COX -2 dan gen supresor tumor p53 dalam meningkatkan sel mononuklear yang mengalami apoptosis sehingga dapat dipertimbangkan sebagai terapi leukemia akut melalui jalur penghambatan NFkB ini.

Terdapat keterbatasan pada penelitian ini, yaitu: (1) pemeriksaan hanya dilakukan sekali setelah dilakukan paparan kombinasi aspirin dan paparan listrik, (2) penentuan sel mononuklear berupa limfosit hanya berdasarkan morfologi (tidak menggunakan petanda/*marker* limfosit sehingga tidak diketahui subset limfosit yang diamati, (3) terdapat keterbatasan sampel sehingga tidak terdapat kelompok perlakuan aspirin atau pulsasi listrik saja, (4) pemberian paparan listrik pada penelitian ini masih bersifat asistif, dimana tidak terdapat perubahan frekuensi dan lama paparan, dan (5) faktor-faktor lain yang mempengaruhi apoptosis dan proliferasi sel mononuklear yang tidak diperiksa (6) terdapat respon individual, seperti usia pasien, staging kanker pasien, fenotipe dan genotipe pasien, status gizi, serta hal lain yang tidak mungkin diseragamkan pada penelitian ini. Dengan keterbatasan tersebut perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan: (1) penambahan kriteria inklusi dan eksklusi untuk mendapat sampel yang seragam, (2) pemeriksaan secara serial mulai dari sebelum paparan sampai dengan setelah paparan, (3) pemeriksaan petanda (*marker*) limfosit untuk menentukan subset limfosit (terutama sel T CD4+), (4) pemeriksaan dengan teknik western blot atau flowcytometry karena dapat diukur ekspresi Bcl-2 dan marker pro-apoptosis p53 beserta sel yang mengekspresikan, serta (5) pemeriksaan faktor-faktor lain yang kemungkinan mempengaruhi apoptosis limfosit, antara lain: IFN- γ , Fas/Fas-L, BCL-2 Bax, protein-protein pro- dan anti-apoptosis, serta protein proliferasi.