

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Leukemia Akut

##### 2.1.1 Definisi

Leukemia merupakan kanker yang berasal dari sumsum tulang. Pada keadaan normal, sumsum tulang mengandung sel darah immatur dalam jumlah kecil yang disebut sel blas. Sel blas tersebut akan berkembang dan matur menjadi limfosit, eritrosit, leukosit, dan trombosit yang kemudian diedarkan ke pembuluh darah (American Cancer Society, 2012).

Leukemia dibedakan menjadi leukemia akut dan kronik. Terminologi akut yang dimaksud menunjukkan bahwa sel leukemia yang meningkat masih berada di fase *undifferentiated* atau sel blas. Leukemia akut sendiri terdiri atas dua macam seri, yakni seri mieloblas yang akan membentuk granulosit, dan seri limfoblas yang akan membentuk limfosit (Seiter, 2010).

Leukemia Limfoblasik Akut (LLA) adalah tipe kanker yang menyerang perkembangan limfoblas pada sumsum tulang. Pada kondisi normal sel limfoblas tersebut akan matur menjadi leukosit spesifik yaitu sel B dan sel T. Sedangkan tipe lain adalah Leukemia Mielogenus Akut (LMA) yang menyerang perkembangan sel mieloid yang merupakan progenitor leukosit, eritrosit, dan trombosit (American Cancer Society, 2012). Maturasi sel yang terhambat akan digantikan oleh multiplikasi berlebihan dan memenuhi sumsum tulang. Hal tersebut menyebabkan sumsum tulang tidak mampu menyediakan jumlah

eritrosit, limfosit, trombosit, granulosit, dan monosit matur dalam jumlah normal sehingga anak dengan leukemia akut cenderung anemia dan mengalami infeksi berulang serta mudah mengalami perdarahan (Greaves M, 2010).

### 2.1.2 Epidemiologi dan Etiologi Leukemia Akut

Berdasarkan data epidemiologi WHO didapatkan insiden leukemia akut pada dewasa terjadi sekitar 3,4 kasus setiap 100.000 populasi per tahun. Untuk Leukemia Myeloblastik Akut (LMA) insiden terendah terdapat pada anak kurang lebih 1 kasus setiap 100.000 populasi per tahun, dan pada dewasa insiden LMA meningkat tajam sampai 10 kasus setiap 100.000 populasi pertahun dan puncaknya di usia 65 tahun hampir mencapai 12,6 kasus setiap 100.000 populasi per tahun. Untuk Leukemia Limfoblastik Akut (LLA), insiden tertinggi terjadi pada anak sekitar 30% dari keseluruhan kanker yang menyerang anak-anak (chandrayani, 2009).

Estimasi dari WHO, setidaknya ada 5200 kasus yang terjadi setiap tahunnya pada negara-negara maju dan 75 persen diantaranya berusia kurang dari 15 tahun (Conter *et al.*, 2004). Penyebab pasti leukemia akut masih belum diketahui hingga saat ini, namun faktor risiko yang dapat meningkatkan terjadinya leukemia akut telah teridentifikasi. Salah satu faktor risiko leukemia akut adalah kelainan genetika (Alderton *et al.*, 2006).

### 2.1.3 Patogenesis Leukemia Akut

Secara umum, terjadinya keganasan dapat disebabkan gangguan keseimbangan antara aktivitas pro-onkogen dan gen supresor tumor. Anti onkogen yang sudah dikenal secara umum adalah p53. P53 merupakan sebuah protein pro-apoptosis yang bekerja sebagai protein penekan tumor dengan cara

mendorong sel untuk mengalami apoptosis. Keberadaan molekul p53 penting pada sel kanker karena fungsinya yang dapat menekan proliferasi sel dan memicu apoptosis (Polyak K, 1997). Apabila p53 gagal mengikat DNA, maka kemampuan mengontrol proliferasi menjadi hilang dan proliferasi sel berjalan terus menerus dan tidak terkendali (Chrestella, 2009).

Sel hematopoietik secara normal terbagi menjadi dua yaitu mieloblas yang merupakan derivat dari leukosit; serta limfoblas adalah derivat dari limfosit dan monosit (National Cancer Institute, 2012). Leukemia akut berasal dari proliferasi neoplastik sel hemopoietik akibat mutasi dari sel stem limfoblas dan mieloblas sehingga keduanya didapatkan kondisi abnormal dari leukosit. Mutasi tersebut melibatkan adanya translokasi resiprokal pada kromosom dan menyebabkan munculnya fusi gen baru. Translokasi kromosom ini melibatkan gen yang normalnya memegang peranan penting pada maturasi, proliferasi dan diferensiasi tidak dapat bekerja dengan baik sehingga kemampuannya dalam mengontrol maturasi dan diferensiasi menjadi hilang dan proliferasi berjalan terus-menerus tidak terkendali (Chrestella, 2009).

#### 2.1.4 Terapi Leukemia Saat Ini

Terapi yang ada saat ini berupa kemoterapi, terapi steroid, pengobatan sistem saraf pusat dan profilaksis, dan *testicular radiotherapy*. Protokol kemoterapi yang digunakan terdiri atas 4 fase yaitu, fase induksi remisi, profilaksis sistem saraf pusat, konsolidasi, dan *maintenance* (WHO, 2008). Pengobatan kombinasi tersebut bertujuan menginduksi remisi, intensifikasi atau konsolidasi, profilaksis SSP dan pemeliharaan jangka panjang. Namun, angka relaps setelah terapi tersebut masih cukup tinggi. Sehingga untuk menurunkan risiko kekambuhan diperlukan peningkatan dosis. Efek samping dari kemoterapi

dosis tinggi menyebabkan gangguan pada sel-sel sehat yang memiliki proliferasi cepat misalnya rambut akan ikut terganggu (Evans *et al.*, 2008).

## 2.2 Aspirin

### 2.2.1 Informasi Obat

Nama aspirin dikenal juga sebagai *acetylsalicylic acid*, sering digunakan sebagai analgesik untuk meredakan nyeri ringan dan sebagai antipiretik untuk menurunkan demam, sekaligus berfungsi sebagai anti-inflamasi (FKUI, 2007).

#### Data kimiawi :

Nama IUPAC	: 2-acetoxybenzoic acid
Formula	: $C_9H_8O_4$
Massa	: 180,157 g/mol
Sinonim	: 2-acetyloxybenzoic acid, Acetylsalisilat, Acetylsalicylic acid, O-acetylsalicylic acid

#### Data fisik :

Kepadatan	: 1,40 g/cm <sup>3</sup>
Titik leleh	: 135 0C (275 °F)
Titik didih	: 140 0C (284 °F)
Kelarutan air	: 3 mg/mL (20 °C)

#### Farmakokinetik :

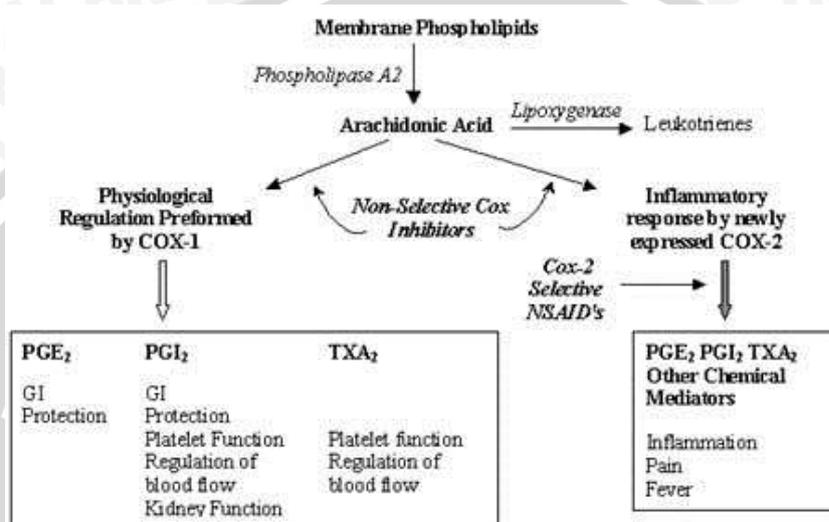
Bioavaibility	: cepat dan terabsorpsi sempurna
Ikatan protein	: 99,6%
Metabolisme	: hepar
Waktu paruh	: 300-650 mg dosis: 3,1-3,2 jam 1 g dosis: 5 jam 2 g dosis: 9 jam

Ekskresi : ginjal

Rute : per oral, per rectal, Lysine acetylsalisilat (i.v. atau i.m)

OAINS dikenal luas sebagai pereda gejala suatu penyakit seperti nyeri dan demam. OAINS merupakan agen anti inflamasi yang bekerja pada dua jalur, yaitu jalur *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxigenase* (LOX). Aspirin bekerja

dengan menghambat jalur COX2; dimana jalur ini dapat terinduksi dengan adanya stimulus sitokin proinflamasi (TNF, IL-1), hormon, polisakarida bakteri, dan faktor pertumbuhan (FKUI, 2007). Untuk lebih jelas mekanisme kerja OAINS dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Mekanisme Kerja OAINS

Keterangan: Aspirin bekerja dengan menghambat jalur COX2; dimana jalur ini dapat terinduksi dengan adanya stimulus sitokin proinflamasi (TNF, IL-1), hormon, polisakarida bakteri, dan faktor pertumbuhan

### 2.2.2 Aspirin sebagai Anti Kanker

Secara umum terdapat dua tahap kritis pada transformasi keganasan sel. Pertama, DNA rusak melalui berbagai mekanisme, bisa karena terjadi spontan atau terpapar karsinogen. Sel yang terinisiasi ini akan bertahan dalam jangka panjang dan terakumulasi seumur hidup. Pada tahap kedua, stimulasi ulangan berperan sebagai promotor menyebabkan proliferasi. Inisiator selalu mengawali promotor, selanjutnya promotor bereaksi terus-menerus hingga terbentuk tumor.

Aspirin dan OAINS lain bertindak sebagai penghambat COX, dengan menghambat sintesis prostaglandin dan imunitas seluler *prostaglandin-induced*. COX-1 bertanggung jawab untuk biosintesis *eicosanoid* sebagai proteksi mukosa lambung dan memelihara fungsi trombosit. COX-2 sebagai *up-regulated*

sebagai respon terhadap peradangan dan luka (Kasum, 2003). Dari hasil uji laboratorium Rose pada 2005, menunjukkan bahwa aspirin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara, kolon, pankreas, paru, prostat, dan berbagai tipe leukemia tanpa merusak sel normal melalui mekanisme apoptosis (Blanchard, 2012).

Selain penelitian Rose (2005), terdapat beberapa penelitian lain tentang OAINS. Penelitian aspirin dan OAINS lain mempunyai aktivitas *chemopreventive* kanker sebagai penghambat pertumbuhan dan/atau pembentukan tumor melalui penurunan produksi prostaglandin jalur COX-2 (Paula Sali dan Andrew Paul Jewell). Pada penelitian yang lain didapatkan bahwa OAINS mampu memicu apoptosis pada sel kanker payudara pada hewan coba sebagai upaya memproteksi perkembangan sel kanker. Aspirin juga diketahui dapat mereduksi protein Bcl-2 pada kanker esofagus. Penelitian lain menyebutkan bahwa pasien kanker colorectal yang mengkonsumsi aspirin secara teratur dapat menurunkan risiko komplikasi dan kematian dibandingkan dengan pasien yang tidak mengkonsumsi aspirin (Blanchard, 2012)..

Mekanisme kerja aspirin dalam menurunkan aktivitas sel tumor dan proliferasi sel adalah melalui inhibisi COX2 yang dapat menyebabkan terjadinya apoptosis. Hal ini disebabkan asam salisilat dan derivatifnya mampu memodulasi sinyal NF- $\kappa$ B yang merupakan protein regulator apoptosis. Selain itu aspirin juga dapat menginduksi penurunan produksi prostaglandin. Penurunan produksi prostaglandin merupakan *eicosanoid* dapat mensupresi sistem imun melalui *down-regulation* limfokin, proliferasi sel T dan B, seperti aktivitas sitotoksik atau sel NK. Diketahui juga bahwa enzim COX2 dapat ditemukan pada jaringan inflamasi dan neoplasma dan dapat menginduksi respon terhadap stimulus faktor

pertumbuhan (VEGF, EGF, dan FGF) dan sitokin pro-inflamasi (IL-1, TNF) (Sali, 2006).

### **2.3 Mekanisme Pulsasi Listrik sebagai Anti Kanker**

#### **2.3.1 Mekanisme Listrik Pulsasi pada Induksi Apoptosis Mitokondria**

Membran sel dapat menjadi permeabel terhadap molekul-molekul yang normalnya tidak permeabel setelah mengalami induksi dari pulsasi listrik. Permeabilitas ini ditimbulkan dari pembentukan pore/lubang di membran tersebut akibat induksi elektrikal atau biasa disebut elektroporasi. Elektroporasi dapat digunakan untuk merusak dan menghancurkan sel-sel yang tidak diinginkan, melalui 2 jalur induksi kematian sel yakni nekrosis and apoptosis (Kennedy, 2008).

Dengan menggunakan listrik intensitas rendah (2 V/cm) serta frekuensi sedang (100–300 kHz), menyebabkan perubahan medan listrik yang diinduksi oleh elektroda sehingga menghasilkan efek penghambatan spesifik pada sel yang dikultur. Telah dibuktikan bahwa aplikasi medan listrik pada sel kanker menyebabkan penghambatan proliferasi dan penghancuran sel. Ketika medan listrik ini diaplikasikan pada model tikus didapatkan reduksi yang signifikan dari kecepatan pertumbuhan tumor tanpa efek samping yang signifikan. Hal ini dikarenakan efek penghambatan proliferasi bersifat spesifik terhadap sel yang sedang berproliferasi. Pada tingkat seluler medan listrik mengganggu proses polimerasi-depolimerasi normal dari mikrotubulus selama proses mitosis (Kirson, 2004).

#### **2.3.2 Mekanisme listrik meningkatkan penghantaran obat ke dalam sel**

Elektroporasi didesain dengan menggunakan sengatan listrik voltase dosis rendah yang diberikan secara singkat sehingga dapat melewati hambatan

membran sel. Dengan pemberian listrik dari luar yang dapat melampaui kapasitas dari membran sel secara sementara dan dapat menginduksi perpecahan dari membran sel yang sifatnya reversibel. Fase *permeabilized transient* dapat dimanfaatkan untuk memasukkan berbagai macam molekul dengan ukuran yang bervariasi. Hal ini tentunya sangat memudahkan proses terapi, mengingat pada umumnya pengiriman obat melalui proses difusi seringkali kurang maksimal dikarenakan batasan ukuran molekul dari obat tersebut. Dengan menggunakan elektroporasi, molekul obat yang berukuran relatif besar pun bisa dimasukkan melalui membran yang sedang tidak stabil (Gehl, 2003).

Awalnya elektroporasi dikembangkan untuk mempermudah transfer gen, akan tetapi pada perkembangan selanjutnya elektroporasi digunakan untuk menyampaikan berbagai macam jenis molekul, mulai dari ion, obat, antibodi, oligonucleotides sampai RNA dan DNA. Elektroporasi sudah terbukti berguna baik secara *in vitro*, *in vivo* maupun di pasien, dimana alat ini telah digunakan untuk memasukkan obat kemoterapi pada pasien kanker (Gehl, 2003). Dua obat yang sudah menggunakan elektroporasi dalam dunia klinis adalah bleomycin dan cisplatinum. Dengan penggunaan elektroporasi, bleomycin dapat secara langsung dimasukkan ke dalam sitosol sel, sehingga sitotoksitas dapat ditingkatkan hingga 300-5000-kali lipat. Dalam kasus cisplatinum, peningkatan sitotoksitas hanya dibatasi sampai 2-13-kali lipat namun sudah dapat memberikan efek yang cukup memadai (Gehl, 2003).

Peningkatan efektifitas anti tumor setelah aplikasi elektroporasi dapat menurunkan dosis obat yang digunakan secara drastis. Dengan pengurangan dosis obat maka didapatkan penurunan risiko efek samping yang ditimbulkan

(Miklavc *et al.*, 2006). Manfaat elektroporasi telah teruji pada beberapa jenis kanker. Hal ini terbukti dari beberapa penelitian kanker yang telah menggunakan elektroporasi sebagai perlakuan seperti melanoma ganas (2000), adenokarsinoma (1998.), karsinoma sel skuamosa (1993 dan 1998), transistocellular karsinoma (1998) dan yang terbaru karsinoma sel ginjal (2000). Hal tersebut menunjukkan bahwa *electrochemotherapy* terbukti efisien mengatasi semua jenis kanker dengan histologi yang berbeda-beda (Stephen *et al.*, 2003).

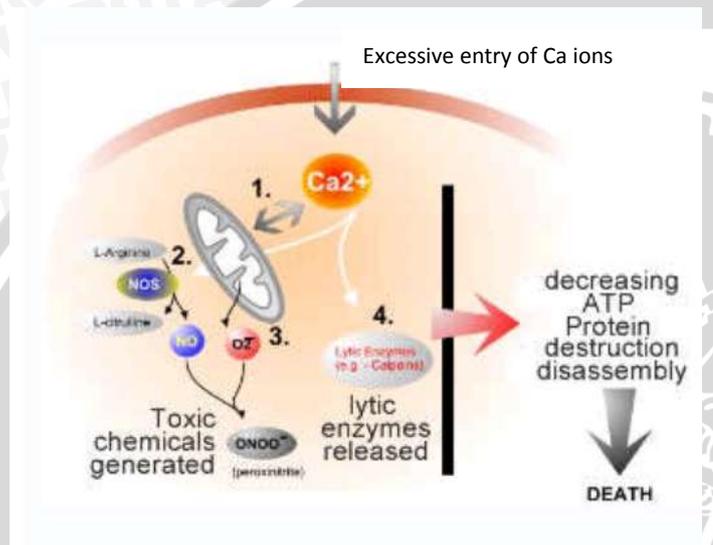
Selain efektifitas terapi yang baik, elektroporasi juga memiliki efek samping yang cukup ringan dan bisa diatasi dengan pemberian anestesi lokal yang memadai seperti lidokain. Metode elektroporasi sudah digunakan secara klinis dalam terapi tumor kulit. Akan tetapi metode elektroporasi masih terus dikembangkan untuk mengatasi tumor-tumor yang letaknya lebih profundus (Kennedy *et al.*, 2008.).

Elektroporasi juga dapat digunakan untuk memasukkan sejumlah zat penting, molekul biologis aktif untuk sel-sel seperti peptida, protein *full-length*, siRNA, mRNA, dan DNA (4,12,13) memberikan fleksibilitas yang besar dalam memodifikasi perilaku sel. Agar molekul-molekul tersebut tetap dapat mempertahankan potensi biologis mereka dan memberikan efek terapi, sel harus tetap dalam kondisi baik setelah paparan listrik yang berpotensi traumatis. Sehingga pemberian terapi elektroporasi harus bersifat reversibel (Stephen *et al.*, 2003).

#### 2.4 Mekanisme Kematian Sel

Kematian sel dapat disebabkan oleh dua proses yang berbeda yakni proses nekrosis dan apoptosis. Nekrosis merupakan kematian sel yang diakibatkan kecelakaan tak terduga yang menyebabkan kerusakan pada sel.

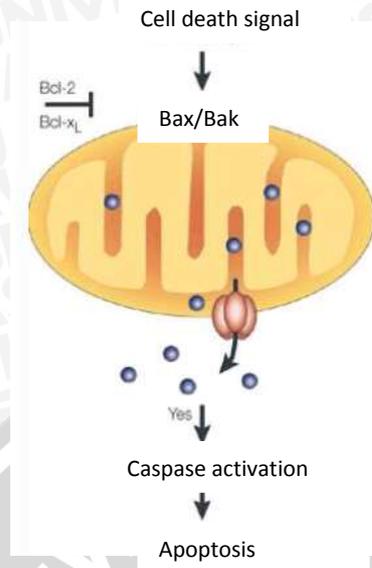
Beberapa racun kimiawi dan kejadian fisik dapat menyebabkan nekrosis yakni: racun, radiasi, panas, trauma, dan kekurangan oksigen akibat obstruksi aliran darah. Ketika sel mulai mati, akan muncul lubang-lubang pada membran plasma dan menyebabkan organ-organ intraseluler keluar dari sel. Mekanisme kematian sel melalui proses nekrosis dapat dilihat melalui gambar 2.2.



Gambar 2.2 Mekanisme Nekrosis Sel

Keterangan: Seiring dengan kematian sel, kemampuan sel dalam menjaga integritas membran plasma dan memompa ion akan hilang. Maka akan ada peningkatan jumlah ion Ca<sup>2+</sup> yang memasuki sel. Ca<sup>2+</sup> berperan sebagai efektor allosteric dari banyak protein, dan dapat merubah aktifitas protein secara drastis. Ca<sup>2+</sup> yang tidak teregulasi dapat menginduksi penghasilan racun kimiawi dan mengaktifasi enzim yang berujung kepada degenerasi molekul seluler (Colorado, 2006).

Apoptosis merupakan mekanisme regulasi fisiologis yang mengatur kematian sel terprogram dibawah suatu kondisi tertentu. Apoptosis memiliki peranan yang esensial dalam mengatur pertumbuhan, perkembangan dan respon imun, serta pembersihan sel-sel abnormal di dalam tubuh. Selain itu apoptosis merupakan jalur penting yang memungkinkan tubuh menjaga sel-sel dalam jumlah yang konstan (Guicciardi & Gores, 2009). Skema hubungan antar molekul pengatur apoptosis dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar. 2.3 Mekanisme Apoptosis Sel

Keterangan: Induksi dan eksekusi dari apoptosis membutuhkan kerja sama dari sekelompok molekul seperti molekul isyarat (*signal*), reseptor, enzim, dan protein pengatur gen. *Caspase-cascade* merupakan salah satu jenis sistem isyarat yang digunakan dalam tubuh manusia. Dalam proses apoptosis caspase diatur oleh beberapa molekul lainnya seperti *inhibitor of apoptosis protein (IAP)*, *Bcl-2 family proteins*, dan *calpain* (Colorado, 2006).

Proses apoptosis berbeda dengan proses nekrosis karena adanya sinyal-sinyal yang mendahului proses tersebut. Sinyal apoptosis dapat timbul dari membran plasma atau dari struktur intraseluler, termasuk inti, mitokondria, atau retikulum endoplasma, antara lain, yang mengaktifkan jalur yang berkumpul di aktivasi caspase. Sel apoptosis menunjukkan fitur karakteristik yang baik sehingga membedakan mereka dari sel nekrotik. Ini termasuk pemeliharaan integritas membran, eksternalisasi phosphatidylserine pada membran plasma, aktivasi caspase, kondensasi kromosom, dan perubahan morfologi. (Thornberry, 1998; Hengartner, 2000).