

BAB VI

PEMBAHASAN

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) atau lebih dikenal dengan *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) merupakan penyakit autoimun kronis dan kompleks (Zhu, 2007). Etiologi dan patofisiologi penyakit ini masih belum jelas. Terdapat banyak bukti bahwa patogenesis LES bersifat multifaktor yang melibatkan faktor lingkungan, genetik, dan hormonal (Mok dan Lau, 2003). Untuk melakukan penelitian tentang LES ini di perlukan limpa dari hewan coba. Terdapat beberapa jenis hewan model lupus yang dikembangkan oleh peneliti, yaitu hewan model lupus spontan dan terinduksi (Perry, et al., 2011).

Hewan coba model spontan didapatkan dengan cara rekayasa genetika. Strain umum yang digunakan pada hewan coba model spontan adalah perkawinan silang antara mencit F1 dan New Zealand Black and New Zealand White (NZB/W), mencit BMR dan *lpr*, mencit BXSB dan *Yaa*. Manifestasi klinis dan imunologis pada 3 strain ini meliputi hioeraktivitas sel limfosit B dan T dimana interaksi satu sama lain dari kedua sel tersebut diperlukan untuk timbulnya LES, titer tinggi beberapa autoantibodi terhadap antigen inti sel, gangguan pembersihan imun kompleks, dan glomerulonephritis yang paling parah. Hampir semua strain hewan coba model lupus memiliki persamaan dalam perkembangan autoantibodi. Karena membutuhkan waktu, sumberdaya, dan biaya yang lebih banyak, maka penelitian ini memanfaatkan penggunaan hewan

coba lupus model induksi. Pengembangan hewan coba model lupus dari strain mencit normal ini dapat dicapai dengan injeksi serum autoimun atau limfosit mencit rentan LES, vaksinasi dengan debris apoptosis sel dendritic, imunisasi dengan antigen lupus prototipikal seperti DNA dan kompleks RNA-protein atau antigen lain yang dikenal untuk menginduksi lupus, atau injeksi *pristane* (Rottman dan Willis, 2010). Salah satu metode induksi hewan coba LES adalah dengan menginjeksikan *pristane*. Pada penelitian ini hewan coba diinduksi *pristane* karena mampu menyebabkan manifestasi seperti penyakit lupus pada mencit. Induksi Lupus dengan suntikan tunggal *pristane* menghasilkan penyakit dengan sebagian besar fitur lupus pada manusia. Hal ini mampu dimanfaatkan untuk menguji agen farmakologis secara *in vivo*. Selain itu, injeksi *pristane* dalam model lupus spontan dapat digunakan untuk memperluas respon antibodi (Perry, et al., 2011).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa induksi *pristane* pada mencit Balb/c dapat menginduksi autoantibodi dengan karakteristik lupus seperti antiribonucleoprotein (RNP) antibody (anti-su, anti-sm, dan anti-U1RNP), anti-DNA, dan anti histon pada tingkat yang sebanding dengan yang ditemukan pada hewan model MRL/lpr (Perry, et al., 2011). Pada penelitian ini mencit diinduksi *pristane* pada bulan ke-2, 4, 6, dan 8. Di setiap pembedahan tiap bulan tersebut, limpa mencit diambil untuk mengetahui persentase sel Th1 dan darah mencit diambil melalui aspirasi dari jantung untuk dilakukan tes ANA.

Anti nuklear antibodi (juga dikenal sebagai *anti-nuclear factor* atau ANF) adalah autoantibodi yang mempunyai kemampuan mengikat pada struktur-struktur tertentu didalam inti (nukleus) dari sel-sel lekosit. ANA yang merupakan imunoglobulin (IgM, IgG, dan IgA) bereaksi dengan inti lekosit menyebabkan

terbentuknya antibodi, yaitu anti-DNA dan anti-D-nukleoprotein (anti-DNP) (www.rheumathology.org). Anti-DNA dan anti-DNP hampir selalu dijumpai pada penderita SLE. Pada bulan ke-2 sampel darah tidak dapat dilakukan tes ANA dikarenakan kurangnya sampel dan lisis saat perlakuan. Pada bulan ke 4 tes ANA pada mencit yang diinduksi pristane belum mengalami perubahan yang signifikan, tetapi pada bulan ke 6 dan 8 tes ANA pada mencit menunjukkan hasil yang signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa mencit tersebut mengalami autoimunitas. Menurut *American College of Rheumatology*, tes ANA akan ditemukan positif pada lebih dari 95% pasien penderita LES. Tes ANA sensitif terhadap diagnosis SLE (>99%).

6.1 Manifestasi klinis LES

Pada penelitian terdahulu telah dijelaskan bahwa gejala klinis artritis mulai tampak pada bulan ke-3 setelah injeksi pristane intraperitoneal (Leiss, et al., 2013). Hasil penelitian tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian yang saat ini dilakukan. Pada penelitian ini, gejala klinis artritis mulai tampak pada bulan ke-2 setelah injeksi pristane dan mengalami peningkatan yang signifikan sampai bulan ke-8. Pengamatan artritis pada mencit dapat dilakukan dengan metode visual artritis skor, dengan total skor 60 untuk tiap mencitnya. Dengan rincian, skor 5 diberikan apabila sendi *wrist* dan *ankle* mengalami pembengkakan dan skor 1 diberikan di setiap interphalangeal yang mengalami pembengkakan (Duygu, et al., 2012). Jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu, gejala klinis artritis muncul lebih awal pada penelitian ini.

Selain artritis, manifestasi klinis lain yang nampak pada pasien LES adalah penurunan berat badan. Penurunan berat badan pada pasien LES aktif

dapat terjadi 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, mencit yang diinduksi pristane tidak mengalami perubahan pada berat badan secara signifikan. Banyak sekali kemungkinan yang dapat mempengaruhi hal ini, diantaranya adalah usia mencit yang bertambah sampai di akhir penelitian bulan ke-8 atau mencit mengalami gejala penyakit aktif sindrom nefrotik (Manole, et al., 2011).

6.2 Peningkatan persentase sel Th1

Pada bulan ke-2 Th1 mulai mengalami peningkatan yang signifikan, hal ini terjadi karena pristane dapat menginduksi apoptosis sel dendritik yang meningkat. Produk dari sel yang terapoptosis tersebut adalah ssRNA, dsDNA, dan ANA. Melalui jalur TLR7/8 dan TLR 9 hasil apoptosis tersebut menginduksi aktivasi dari NF- κ B. Aktivasi dari Nf- κ B dapat meningkatkan produksi dari IL-12. Dikarenakan IL-12 mengalami peningkatan, maka Th1 juga akan meningkat (Theophilopoulos, et al., 2001)

Pada bulan ke-4 sel Th1 mengalami penurunan dikarenakan toleransi dari kenaikan Treg. Sel Treg atau Th3 memproduksi sitokin immunosupresif IL-10 yang berperan terhadap toleransi, menghambat fungsi APC dan aktivasi makrofag serta TGF- β yang menghambat proliferasi sel T dan juga makrofag. Sel Treg dibentuk dari timosit selama seleksi negatif di timus. Sel Treg timbul dari subset sel T yang mengekspresikan reseptor dengan afinitas sedang untuk *selfantigen* dalam timus mungkin sebagian kecil timbul oleh pengenalan antigen di jaringan limfoid perifer (sel Treg adaptif). Perkembangan dan hidup sel Treg

memerlukan IL-2 dan factor transkripsi Fox3 di jaringan perifer. Sel Treg menekan aktivasi dan fungsi efektor lain (self reaktif) dan merupakan sel limfosit patogenik esensial (Imunologi Dasar, 2010).

Sel Treg menekan aktivitas sel Th1, Mekanisme supresi oleh sel Treg terjadi melalui sitokin yang diproduksi oleh rangsangan antigen yaitu IL-10 dan TGF- β yang merupakan supresor kuat aktivasi sel T. Pada bulan ke-6, persentase sel Th1 kembali meningkat dikarenakan telah berkurangnya supresi sel Treg. Hal ini dibuktikan dengan penurunan persentase sel Treg pada bulan ke-6. Penurunan tersebut akibat Treg mengalami penurunan kemampuan dalam melakukan diferensiasi dan terdapat abnormalitas sel CD4⁺ pada mencit model lupus yang mengakibatkan sel cenderung untuk lebih berdiferensiasi menjadi Th17. Menurut Estrada-Capetillo, et al., (2013) hal yang mendasari hal tersebut ditunjukkan karena adanya gangguan fungsi sel dendritik pada LES dalam menginduksi sel T naif. Sehingga, keseimbangan sel Treg dan sel Th17 mengalami ketidakseimbangan.

Pada bulan ke-8 persentase sel Th1 kembali mengalami peningkatan dari bulan ke-6. Peningkatan sel Th1 ini juga diikuti dengan kenaikan yang signifikan pada ANA tes bulan ke-6 dan 8 (Imunologi Dasar, 2010). Di dalam penelitian lain juga menyebutkan penurunan sel Treg yang signifikan dibulan ke-8. Penurunan yang terjadi kemungkinan karena mekanisme kompensasi tubuh mencit yang sudah tidak mampu lagi untuk mengatur dominasi dari sel Th17. Peningkatan jumlah sel Th17 diakibatkan oleh induksi pristane yang mempengaruhi jumlah makrofag intraperitoneal menjadi meningkat. Makrofag menghasilkan sitokin IL-6 yang berfungsi menghambat faktor transkripsi FOXP3

dan memicu diferensiasi sel T naive menjadi sel Th17 (Horwitz *et al.*, 2008).

Peningkatan kadar IL-6 telah diteliti oleh kelompok lain.

Penelitian lain yang mendukung sebab penurunan sel Treg, Harada, *et al.* (2007) menemukan bahwa diferensiasi sel Th17 melalui faktor transkripsi STAT3 yang diaktivasi oleh ROR γ t meningkat pada LES. Studi lain, Huang *et al.* (2011) menemukan bahwa diferensiasi sel Treg melalui STAT5 yang mengaktivasi FOXP3 Treg menurun pada LES. Adanya perubahan aktivasi dari kedua faktor transkripsi diduga menjadi penyebab menurunnya persentase sel Treg dan meningkatnya sel Th17 pada LES.

Pada penelitian terdahulu juga didapatkan peningkatan kunci mediator dari LES yaitu IFN-I. peningkatan IFN-1 merangsang perkembangan sel Th1. Persentase sel Th1 yang meningkat diikuti dengan peningkatan level TNF- α , IFN- γ , dan IL-12 dibandingkan dengan mencit tanpa induksi pristane (Elaine dan Antonio, 2009). Autoantibodi berkembang pada bulan ke-3-4 setelah injeksi *pristane* secara intraperitoneal (Reeves, *et al.*, 2009)

Jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu, peningkatan persentase sel Th1 tidak dijelaskan secara jelas pada bulan keberapa setelah injeksi *pristane*. Hanya terdapat penjelasan bahwa pristane mampu memodulasi peningkatan IFN-I. Dengan terjadinya peningkatan IFN-I, maka dapat merangsang perkembangan sel Th1. Sedangkan pada penelitian yang telah dilaksanakan, sel Th1 terjadi peningkatan yang signifikan pada bulan ke-2, 6 dan 8 pasca injeksi pristane.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Meskipun demikian, penelitian ini masih jauh dari sempurna. Masih terdapat beberapa kelemahan yang harapannya dapat diperbaiki pada penelitian selanjutnya. Seperti pada pengambilan sampel darah untuk dilakukan analisa antinuklear antibodi yang terlalu sedikit saat aspirasi, sehingga pada bulan ke-2 data tidak dapat diperoleh. Selain itu, masih diperlukan juga penelitian dan pembahasan mengenai efek samping lain secara klinis yang ditimbulkan setelah pemberian induksi pristane untuk mendapatkan standar hewan coba yang diinduksi pristane untuk penelitian lebih lanjut.

