

Hubungan Subtipe Sel Limfosit dengan Tingkat Remisi Pascakemoterapi Fase Induksi Leukemia Limfoblastik Akut

Nur Suryawan, Ponpon Idjradinata, Lelani Reniarti

Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RSUP Dr. Hasan Sadikin, Bandung

Latar belakang. Angka remisi pascakemoterapi LLA masih belum memuaskan, banyak faktor yang memengaruhi belum optimalnya luaran terapi LLA, salah satunya adalah faktor subtipe sel limfosit LLA.

Tujuan. Melihat hubungan subtipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi LLA.

Metode. Penelitian kohort prospektif dilakukan di RS dr. Hasan Sadikin Bandung dari bulan Februari-September 2016. Subyek adalah anak <14 tahun yang baru didiagnosis LLA berdasarkan hasil aspirasi sumsum tulang. Diambil sampel darah perifer untuk dilakukan pemeriksaan *immunophenotyping* agar dapat diketahui subtipe sel limfositnya, dilakukan kemoterapi fase induksi selama 6 minggu berdasarkan protokol terapi. Dilakukan aspirasi sumsum tulang evaluasi untuk melihat tingkat remisinya. Analisis statistik dilakukan dengan uji *Fisher-exact*.

Hasil. Terdapat 40 subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan menjalani kemoterapi fase induksi. Dari 40 subjek, 26 menyelesaikan kemoterapi fase induksi, dan dari 26 subjek yang dilakukan evaluasi aspirasi sumsum tulang, 20/26 mengalami remisi lengkap dan 6/26 tidak remisi. Terdapat 18/24 subjek sel B-LLA yang mengalami remisi lengkap dan 6/24 tidak remisi, sedangkan penderita sel T-LLA yang mengalami remisi lengkap 2/2 subjek. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara subtipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi ($p=0,585$).

Kesimpulan. Subtipe sel limfosit tidak berpengaruh terhadap tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi. **Sari Pediatri** 2017;18(6):448-52

Kata kunci: LLA, remisi lengkap fase induksi, subtipe sel limfosit

Correlation of Lymphocyte Cell Subtype with Remission after Induction Phase Chemotherapy in Acute Lymphoblastic Leukemia

Nur Suryawan, Ponpon Idjradinata, Lelani Reniarti

Background. The remission rate after chemotherapy is still unsatisfactory. Many factors cause the outcome of the therapy not optimally, one of which is the lymphocyte cell subtype of the patient.

Objective. To find out the correlation of lymphocyte cell subtype with remission after induction phase chemotherapy in ALL.

Methods. This prospective cohort study was done in the in-patient ward of Child Health Department, Hasan Sadikin Hospital during February-September 2016. The subject were <14 years old children, newly diagnosed as ALL children according to the bone marrow aspiration. Peripheral blood sample were taken for immunophenotyping examination for lymphocyte cell subtype. Based on the therapy protocol, induction phase chemotherapy was done for 6 weeks, and afterwards bone marrow aspiration was done again to find out the remission grade. Statistical analysis using Fisher-exact test.

Results. There were 40 subjects who fulfilled the inclusion criteria and had the induction phase chemotherapy. Only 26 of 40 subjects completed the induction phase chemotherapy, and of the 26 subjects who had bone marrow aspiration, 20/26 got complete remission; 6/26 got no remission. Of 24 subjects in this study, 18/24 with B-ALL cell had completed remission, and 6/24 got no remission, while 2/2 patients with T-ALL cell got completed remission. There was no significant difference between the lymphocyte cell subtype with remission grade after induction phase chemotherapy ($p=0.585$).

Conclusion. In this study, lymphocyte cell subtype has no significance influence on the remission after induction phase chemotherapy.

Sari Pediatri 2017;18(6):448-52

Key words: acute lymphoblastic leukemia, induction phase complete remission, lymphocyte cell subtype

Leukemia limfoblastik akut (LLA) merupakan penyakit keganasan yang berciri khas infiltrasi progresif sel limfoid imatur (limfoblas) pada sumsum tulang dan organ limfatik. Insiden LLA di dunia cenderung mengalami peningkatan. Puncak kejadian pada usia 2-5 tahun.¹⁻⁴ Diagnosis LLA di RS. Hasan Sadikin ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang, berupa pemeriksaan darah lengkap, hitung jenis, serta apus darah tepi. Diagnosis dilakukan dengan pemeriksaan apus sumsum tulang melalui aspirasi sumsum tulang atau biopsi sumsum tulang, lalu dilakukan pemeriksaan morfologi serta sitokimia.¹⁻⁵ Namun, pemeriksaan tersebut belum memenuhi standar kriteria WHO dalam penegakan kasus leukemia, WHO mensyaratkan pemeriksaan *immunophenotyping* serta pemeriksaan sitogenetik.^{6,7} Pemeriksaan morfologi berdasarkan kriteria *French American British* (FAB) sangat bergantung kepada keterampilan serta pengalaman individu yang membaca sehingga apabila tidak dikonfirmasi dengan pemeriksaan yang lebih objektif akan berpotensi terjadi kesalahan dalam diagnosis yang berisiko kesalahan dalam pemakaian protokol terapi dan pada akhirnya dapat menurunkan angka keberhasilan terapi pasien leukemia akut.⁸ Kesepakatan Unit Kerja Koordinasi (UKK) Hematologi-Onkologi Anak Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) membagi pasien LLA menjadi 2 jenis kelompok, yaitu risiko tinggi/ *high risk* (HR) dan risiko biasa/ *standard risk* (SR). Pemeriksaan *immunophenotyping* diperlukan untuk mendiagnosis leukemia sel T dan mixed leukemia.

Pemeriksaan *immunophenotyping* merupakan suatu pemeriksaan dengan menggunakan teknik petanda imunologi pada permukaan sel yang dikenal sebagai kelompok antigen diferensiasi (*clusters of differentiation antigens*, CD) yang menggunakan antibodi monoklonal. Pemeriksaan ini sangat berguna untuk mengklasifikasikan leukemia berdasarkan pengenalan berbagai stadium diferensiasi sel leukemia.^{7,9} Secara garis besar penanda spesifik untuk *B-cell precursor* adalah adanya CD 19, CD 22, CD 79, CD 34, HLA-DR, dan TdT, sedangkan untuk *T-cell precursor* adalah adanya CD 3, CD 7, CD 5, dan CD 2. Untuk petanda spesifik sel mieloid adalah CD 13, CD 14, dan CD 33.^{7,9}

Banyak faktor yang berperan dalam keberhasilan terapi LLA anak khususnya di negara berkembang, di antaranya faktor infeksi, malnutrisi, biaya berobat, kepatuhan terhadap pengobatan, pengobatan suportif

yang minimal, dan status sosioekonomi orang tua pasien.¹⁰⁻¹² Terdapat beberapa faktor prognostik yang sudah diketahui menjadi faktor yang sangat berpengaruh terhadap luaran terapi pasien LLA anak, di antaranya faktor usia saat diagnosis, jenis kelamin, jumlah leukosit awal dan subtipe sel limfosit.¹⁻⁵ Penelitian mengenai prognosis LLA yang dihubungkan dengan subtipe sel limfosit, belum pernah dilakukan di RS. Hasan Sadikin sehingga dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mencoba melihat hubungan subtipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi LLA.

Metode

Penelitian kohort prospektif dilakukan pada Februari-September 2016 di Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung. Subyek penelitian adalah pasien berusia <14 tahun yang baru terdiagnosis LLA berdasarkan hasil morfologi sumsum tulang dan mendapat persetujuan tertulis dari orang tua. Subyek dengan hasil *immunophenotyping* leukemia mieloblastik akut (LMA), atau tidak ada marker yang dominan akan dikeluarkan dari penelitian. Data demografi dan karakteristik klinis dicatat dalam lembar pengumpul data. Pengambilan darah vena sebanyak 3 cc dilakukan untuk pemeriksaan *immunophenotyping*. Sampel darah dikirim ke laboratorium Patologi Klinik RS Kanker Dharmas Jakarta. Pasien dilakukan kemoterapi fase induksi selama 6 minggu berdasarkan protokol terapi sesuai konsensus UKK Hematologi Onkologi Anak, yaitu protokol LLA *high risk* (HR) atau *standar risk* (SR). Subjek Subtipe T-LLA diberikan protokol LLA HR, sedangkan subjek subtipe B-LLA pemberian protokolnya tergantung hasil penentuan kriteria diagnostik, termasuk ke dalam kriteria HR atau SR. Setelah selesai fase induksi dilakukan aspirasi sumsum tulang ulang untuk melihat tingkat remisi setelah kemoterapi fase induksi. Analisis statistik dilakukan dengan uji *Fisher-exact*. Penelitian telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian RSUP. Dr. Hasan Sadikin Bandung.

Hasil

Terdapat 51 pasien LLA yang memenuhi kriteria penelitian dan dilakukan pemeriksaan *immunophenotyping*. Sebelas subjek dikeluarkan karena 5 terdiagnosis LMA dan 6 tidak terdapat *marker* yang

dominan sehingga tidak dapat ditentukan subtipe sel limfosit sehingga tersisa 40 subjek. Karakteristik subjek LLA tertera pada Tabel 1.

Setelah dilakukan kemoterapi fase induksi selama 6 minggu, dari 40 subjek, 26 yang dapat dilakukan aspirasi sumsum tulang ulang untuk evaluasi, 10 meninggal selama periode fase induksi dan 4 *drop out*. Penyebab kematian terbanyak adalah sepsis berat dan perdarahan. Dari 26 subjek yang dilakukan aspirasi sumsum tulang, 20 (76,9%) mengalami remisi lengkap dan 6 (23,1%) tidak remisi.

Di antara 36 subjek subtipe B-LLA, 4 *drop out* dan 32 bersedia terus mengikuti penelitian. Dari 32 subjek ini, 8 meninggal selama periode fase induksi dan sisanya 24 hidup sampai akhir fase induksi, sedangkan untuk subtipe T-LLA, dari 4 subjek yang mengikuti penelitian, 2 meninggal selama fase induksi dan 2 bertahan sampai akhir fase induksi. Untuk melihat hubungan antara subtipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi tertera pada Tabel 2.

Terdapat 18 (75%) pasien B-LLA yang mengalami remisi lengkap dan 6 (25%) tidak remisi, sedangkan pasien T-LLA yang mengalami remisi lengkap 2 (100%) subjek. Dari hasil penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara subtipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi LLA ($p=0,585$).

Pembahasan

Pada awal penelitian terdapat 51 subjek yang masuk kriteria inklusi, tetapi setelah keluar hasil *immunophenotyping*, 11 harus dieksklusi karena 5 di antaranya LMA berdasarkan hasil *immunophenotyping*. Ketidaktepatan dalam pembacaan morfologi apus sumsum tulang cukup tinggi, yaitu 5 kasus dari 51 (9,8%) subjek. Supriyadi dkk⁸ melaporkan bahwa 9 dari 239 kasus (3,8%) yang secara morfologi LLA, setelah dilakukan *immunophenotyping* ternyata LMA, lalu 12 dari 79 (15,2%) kasus yang secara

Tabel 1. Karakteristik subjek LLA

Karakteristik	Jumlah	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	30	75
Perempuan	10	25
Usia (tahun)		
<5	17	42,5
5-10	16	40
>10	7	17,5
Klasifikasi FAB		
L1	11	27,5
L2	28	70
L3	1	2,5
Subtipe sel limfosit		
Sel B	36	90
Sel T	4	10
Stratifikasi risiko		
Biasa	14	35
Tinggi	26	65

Tabel 2. Hubungan subtipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi

Subtipe sel limfosit	Remisi lengkap (%)	Tidak remisi (%)	Total (%)
<i>B-lineage</i>	18 (75)	6 (25)	24 (100)
<i>T-lineage</i>	2 (100)	0 (0)	2 (100)
Total	20 (77)	6 (23)	26 (100)

Nilai $p=0,585$ uji *Exact Fischer*

morfologi LMA, tetapi hasil *immunophenotyping* LLA. Ketidaktepatan diagnosis ini bisa berakibat kegagalan dalam tatalaksana leukemia karena pemberian protokol kemoterapi yang tidak sesuai dengan diagnosis. Sudah saatnya kombinasi pemeriksaan morfologi apus sumsum tulang dengan pemeriksaan *immunophenotyping* menjadi sesuatu yang rutin dikerjakan di rumah sakit pendidikan atau rumah sakit rujukan utama.

Enam subjek dieksklusi dari penelitian hasil aspirasi sumsum tulang LLA, tetapi tidak dapat diinterpretasi setelah dilakukan *immunophenotyping* karena tidak ada marker sel yang dominan. Setelah analisis dilakukan, ternyata jumlah sel blas darah tepi di bawah 10% . Jumlah sel blas untuk pemeriksaan *immunophenotyping* harus di atas 10%, bahkan Rezeie dkk¹³ menyarankan jumlah sel blas dalam darah perifer harus >30% apabila ingin menegakkan diagnosis leukemia dari darah perifer agar pembacaan oleh alat *flowcytometer* dapat lebih mudah dan tepat.

Kami mendapatkan 36 (90%) subjek sel B-LLA dan 4 (10%) sel T-LLA. Hal ini sedikit berbeda dengan literatur yang menunjukkan prevalensi sel B-LLA sekitar 72%-82% dan sel T-LLA sekitar 15-20%.¹⁴⁻¹⁵ Selama kemoterapi fase induksi, 4 subjek *drop out* dari penelitian, 10 meninggal. Penyebab kematian karena sepsis berat, perdarahan, dan hiperleukositosis. Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang menyebutkan penyebab kematian terbanyak pada LLA, terutama di negara sedang berkembang adalah karena infeksi dan perdarahan.¹⁶

Di antara 26 subjek yang berhasil menyelesaikan kemoterapi fase induksi dan dilakukan pemeriksaan aspirasi sumsum tulang untuk evaluasi terapi, 20 (76,9%) subjek mengalami remisi lengkap dan 6 (23,1%) tidak remisi. Angka ini hampir sama dengan penelitian lain di Indonesia yang berkisar antara 70%-80%, tetapi masih lebih rendah dibandingkan di negara maju yang mencapai lebih dari 90%.¹⁰

Untuk hubungan sub tipe sel limfosit, dalam hal ini sel B-LLA dan sel T-LLA dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi LLA, didapatkan 18 (75%) subjek sel B-LLA mengalami remisi lengkap, 6 (25%) tidak remisi, berbanding dengan 2 (100%) subjek sel T-LLA yang mengalami remisi lengkap. Setelah uji statistik dilakukan, ternyata tidak ditemukan hubungan antara sub tipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi. Hal ini berbeda dengan beberapa penelitian yang menyatakan sel B-LLA prognostiknya lebih baik dibandingkan sel T-LLA dalam hal remisi pascakemoterapi fase induksi

LLA. Pada penelitian di Iran, angka remisi fase induksi sel B-LLA mencapai 73,8%, sedangkan sel T-LLA hanya 28,6%.¹⁷ Begitu juga di Pakistan, angka remisi fase induksi sel B-LLA mencapai 85%, sedangkan sel T-LLA hanya 33%.¹⁸

Beberapa hal yang mungkin menjadi penyebab mengapa sub tipe sel limfosit tidak berpengaruh kepada tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi LLA. Pertama, jumlah subjek sel T-LLA sangat sedikit, hanya 4 subjek didapatkan selama periode penelitian, dan dikarenakan keterbatasan waktu dan biaya maka periode penelitian tidak diperpanjang untuk menambah jumlah sel T-LLA sehingga perhitungan secara statistik menjadi kurang bermakna hasilnya. Kedua, karena untuk keberhasilan terapi LLA, dalam hal ini keberhasilan remisi lengkap pada akhir fase induksi pascakemoterapi dipengaruhi oleh banyak faktor prognostik, tidak saja oleh sub tipe sel limfosit, tetapi juga usia, jenis kelamin, jumlah leukosit awal, sitogenetika, respon terhadap pemberian steroid pada minggu pertama.¹⁹⁻²² Faktor lain yang berperan dalam keberhasilan remisi, di antaranya infeksi, perawatan suportif yang kurang optimal sehingga banyak subjek penelitian yang menderita demam netropenia yang lama, sepsis, pneumonia yang akhirnya meninggal.²³ Faktor keterlambatan datang ke rumah sakit juga berperan penting, banyak subjek yang datang dengan kondisi yang sudah parah, dengan perdarahan hebat ataupun dengan hiperleukositosis sehingga luaran terapi yang dihasilkan tidak baik.

Keterbatasan pada penelitian kami adalah jumlah sampel yang sedikit, terutama subjek sel T-LLA. Disamping itu, selain faktor sub tipe sel limfosit juga terdapat banyak faktor yang berperan di dalam keberhasilan pengobatan LLA sehingga sulit untuk mengambil kesimpulan tentang hubungan sub tipe sel limfosit dengan tingkat remisi pascakemoterapi fase induksi LLA. Namun demikian, hasil penelitian kami dapat merekomendasikan bahwa pemeriksaan *immunophenotyping* tetap harus dijadikan pemeriksaan yang tersedia dan rutin dilakukan pada pasien tersangka leukemia akut di rumah sakit rujukan utama, untuk menghindari ketidaktepatan diagnosis leukemia.

Daftar pustaka

1. Permono B, Ugrasena IDG. Leukemia akut. Dalam: Buku ajar hematologi-onkologi anak. Edisi ke-3. Jakarta:

- IDAI;2010.h.234-45.
2. Lankowsky P. Leukemias. Dalam: Manual of pediatric hematology and oncology. Edisi ke-5. New York: Churchill Livingstone; 2011.h.518-49.
 3. Hutter JJ. Childhood leukemia. *Pediatr in Rev* 2010;31:234-241.
 4. Conter V, Rizzari C, Sala A, Chiesa R, Citterio M, Biondi A. Acute lymphoblastic leukemia. *Orphanet Encyclopedia* 2004;1-13.
 5. Pui CH, Robison LL, Cook AT. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2008;371:1030-43.
 6. Kresno SB, Haryanto SH, Kosasih AS, Muthalib A, Atmakusumah D. Immunophenotyping in leukemia and its diagnostic significance. *Med J Indones* 2004;13: 195-202.
 7. Kosasih AS, Setiawan L, Hartini S, Kresno SB, Indarini. Immunophenotyping in the diagnosis and classification of acute leukemia: "Dharmais" cancer hospital experience. *Indonesian J Cancer* 2011;5:3-8.
 8. Supriyadi E, Widjajanto PH, Veerman AP, Purwanto I, Nancy YM, Gunawan S, dkk. Immunophenotypic patterns of childhood acute leukemias in Indonesia. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2011;12:3381-7.
 9. Orfao A, Ortuno F, Santiago M, Lopez A, Miguel JS. Immunophenotyping of acute leukemias and myelodysplastic syndromes. *Cytometry* 2004;58A:62-71.
 10. Tehuteru ES. Gambaran tingkat remisi pada leukemia limfoblastik akut setelah fase induksi di bangsal kanker anak RS Kanker "Dharmais". *Indonesian J Cancer* 2011;5:159-62.
 11. Metzger ML, Howard SC, Fu LC, Pena A, Stefan R, Handcock ML, dkk. Outcome of childhood acute lymphoblastic leukaemia in resource-poor countries. *The Lancet* 2003; 362:706-8.
 12. Mostert S, Sitaresmi NM, Gundy CM, Sutaryo, Veerman AJP. Influence of socioeconomic status on childhood acute lymphoblastic leukemia treatment in Indonesia. *Pediatrics* 2006;118:1600-5.
 13. Rezaei A, Adib M, Mokarian F, Tebianian M, Nassiri R. Leukemia markers expression of peripheral blood vs bone marrow blasts using flow cytometry. *Med Sci Monit* 2003;9: CR359-62.
 14. Bachir F, Bennani S, Lahjouji A, Cherkaoui S, Harif M, Khattab M. Characterization of acute lymphoblastic leukemia subtypes in Moroccan children. *Int J Pediatr* 2009;67:1-7.
 15. Mirbehbahani NB, Rashidbaghan A, Nodehi H, Jahazi A, Behnampour N, Payab Z. Immunophenotyping of leukemia in children, Gorgan, Iran. *Iranian J Pediatr Hematol Oncol* 2011;1;115-20.
 16. Roganovic J. Acute lymphoblastic leukemia in children. Dalam : Guenova M, Bolatzenko G, penyunting. *Leukemia. Intech*;2013.h.39-74.
 17. Chavoshi SH, Ziaei JE, Akbari AM, Chavoshi SMR, Hamedfar H, Dolatkah R. A 10 years survey of acute lymphoblastic leukemia in Northwest of Iran : Immunophenotyping assessment and its relation to induction therapy. *Int J Curr Res Aca Rev* 2015;3:115-23.
 18. Khalid S, Moiz B, Adil SN, Khursid M. Retrospective review of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia: A single center experience. *Indian J Pathol Microbiol* 2010;53:704-9.
 19. Chan GCF, Pui CH. Current status of acute lymphoblastic leukaemia in children. *HK J Paediatr* 2003;8:170-83.
 20. Banihashem A, Ghasemi A, Tavasolian L. Association of cytogenetics and immunophenotype in prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia: Literature Review. *Rev Clin Med* 2014;1:2-6.
 21. Hossain MJ, Xie L, McCahan SM. Characterization of pediatric acute lymphoblastic leukemia survival patterns by age at diagnosis. *J Cancer Epidemiol* 2014;1:1-9.
 22. Horibe K, Hara J, Yagi K, Tawa A, Komada Y, Oda M, dkk. Prognostic factors in childhood acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Int J Hematol* 2000;72:61-8.
 23. Sayed HA, Mahallawy HA, Kaddah AM, Ismael HT, Talaat SM. Profile of infections in newly diagnosed patients with acute leukemia during the induction phase of treatment. *Je Egypt Nat. Cancer Inst* 2009;21:315-22.