

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Sarang Semut**

Sarang Semut merupakan salah satu tumbuhan epifit dari Rubiaceae yang dapat berasosiasi dengan semut. Secara ekologi, tumbuhan sarang semut tersebar dari hutan bakau dan pohon-pohon di pinggir pantai hingga ketinggian 2.400 m di atas permukaan laut. Sekilas taksonomi dari tumbuhan sarang semut dapat dijelaskan sebagai berikut :<sup>17</sup>

Divisi : tracheophyta

Kelas : magnoliopsida

Subkelas : lamiidae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : Myrmecodia

Species : Myrmecodia pendens Merr. & Perry

Penelitian in vitro yang dikerjakan oleh Qui Kim Tran dari University National of Hochiminch City, Yasuhiro Tezuka, Yuko Harimaya, dan Arjun Hari Banskota dengan menumbuhkan 3 sel kanker yaitu kanker serviks, kanker paru dan kanker usus dalam ekstrak sarang semut dengan berbagai pelarut seperti air, methanol, dan campuran methanol-air. Hasilnya sarang semut mempunyai aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker. Peneliti tersebut menuturkan bahwa

seluruh ekstrak sarang semut menekan proliferasi sel tumor manusia. Hasil dalam penelitian itu terbukti tingkat efektivitas EC50 mencapai 9,97 mg/ml pada ekstrak methanol. Artinya hanya dengan dosis kecil, 9,97 mg/ml, ekstrak sarang semut mampu menekan 50% laju pertumbuhan sel kanker. Sedangkan EC50 pada ekstrak air 22,3 mg/ml; campuran methanol-air, 11,3 mg/ml.<sup>18</sup> Uji penapisan kimia dari tumbuhan sarang semut menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa aktif dari golongan flavonoid dan tanin.<sup>17</sup>

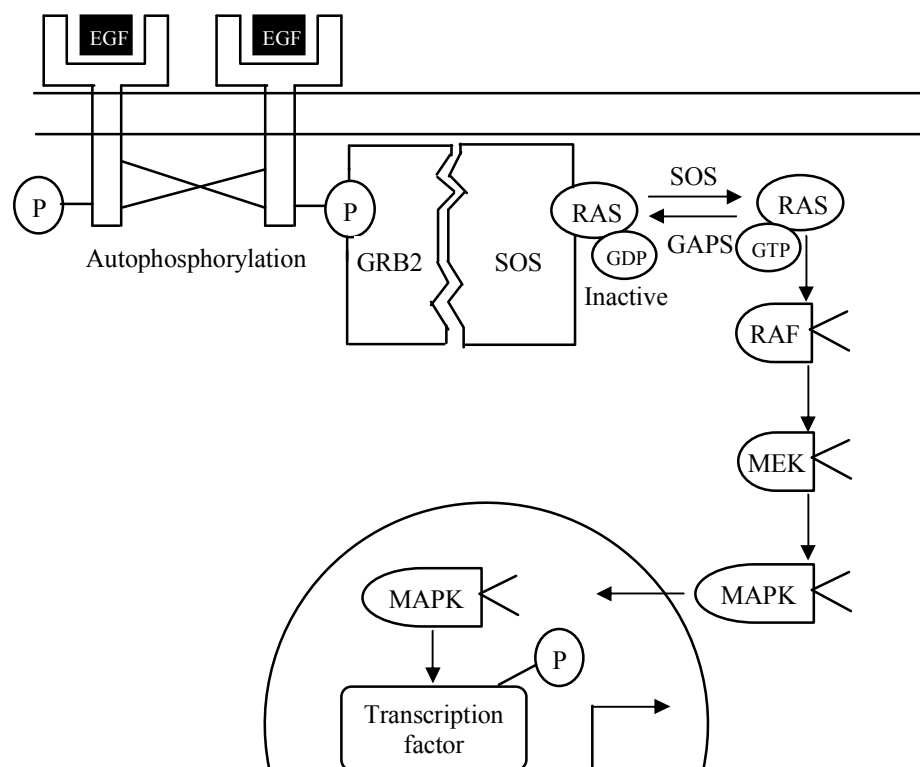
Senyawa flavonoid yang terkandung dalam herbal medicine mempunyai efek memblok reseptor growth factor, dan menghambat *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal *Receptor Tyrosin Kinase* (RTKs).<sup>16,19,20</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Hiroko Deguchi dkk, menyimpulkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam herbal medicine (teh hijau) mempunyai efek inhibisi pertumbuhan pada sel kanker payudara (sel T47D). Mekanisme inhibisi pertumbuhan tersebut terutama pada MAPK<sup>16</sup>, di mana MAPK akan memphosporilasi berbagai protein termasuk *transcription factor* yang dibutuhkan pada sintesa protein dalam differensiasi dan siklus sel.<sup>19</sup>

Flavonoid dalam Herbal medicine juga dilaporkan mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivasi *Nuclear Factor Kappa B* (NF-κB). Suatu *transcription factor* yang berperan penting dalam regulasi molekul pembentukan sitokin.<sup>16,19</sup> Pada penelitian yang dilakukan Tazulakhova dari Moscow, dilaporkan bahwa flavonoid alamiah dapat menstimulasi produksi

*Interferon- $\gamma$*  (IFN- $\gamma$ ) dalam suatu populasi immunosit.<sup>14</sup>

## 2.2. Aktifitas Proliferasi sel

Perubahan yang terjadi pada awal progresifitas sel normal menjadi sel kanker adalah peningkatan proliferasi sel.<sup>21</sup> Progresifitas sel neoplastik merupakan cermin dari sifat dan perangai sel yang telah berubah menjadi maligna. Sel sel kanker yang tumbuh berlebihan terjadi akibat proses aktifitas proliferasi sel yang berlebih-lebihan.<sup>22</sup> Kenaikan aktifitas proliferasi pada jaringan yang terinisiasi adalah perubahan yang sangat penting pada stadium awal dari promosi tumor yang merupakan tanda khas lesi prakanker.<sup>23</sup>



Gambar 2.1 Jalur Transduksi Sinyal EGF<sup>24</sup>

Aktifitas proliferasi sel pada lesi sel jinak maupun ganas dapat diteliti dengan thymidin uptake, pemberian label bromodeoxy-uridine, sitometrik alur maupun imunohistokimia misalnya Ki-67, *Proliferation Cell Nuclear Antigen* (PCNA) maupun *Monoclonal Antibody 1* (MIB-1).<sup>23</sup>

*Nucleolar Organizer Regions* (NOR) akhir-akhir ini banyak dipakai untuk mengukur aktifitas proliferasi sel. Cara pewarnaan AgNOR mudah dan biayanya murah sehingga dapat dilakukan secara rutin dengan blok parafin.<sup>23</sup>

NOR merupakan metode dengan menggunakan reaksi Ag dengan NOR (AgNOR).<sup>25</sup> NOR adalah lengkung *Deoxyribo Nucleotida Acid* (DNA) yang menempati area khusus dalam kromosom 13, 14, 15, 21, dan 22 yang diketahui sebagai tempat gen DNA ribosomal (rDNA). NOR penting dalam sintesis protein, membantu menjaga perpanjangan konfigurasi DNA dan mengatur transkripsinya. NORs mempunyai struktur nukleoprotein yang khas yang dipakai sebagai identifikasinya. Protein tersebut selama transkripsi bersifat argirofilik, sehingga dapat dipulas dengan perak. Pada sediaan blok parafin dengan pewarnaan perak koloid NOR tampak sebagai bercak-bercak gelap intranukleus pada mikroskop cahaya. Bercak-bercak itu disebut agregat argirofilik (AgNOR). Hasil pewarnaan AgNOR mempunyai korelasi yang tinggi dengan sitometrik alur dan pewarnaan amunohistokimia misalnya Ki-67. variasi dalam jumlah AgNOR dapat membantu menegakkan diagnosis dan dapat membedakan berbagai tingkatan lesi. Menurut Schwint et al yang dikutip dari Ahmad Ghozali dkk (1997) jumlah AgNOR dapat menegakkan

antara epitel mulut yang normal dengan epitel mulut di dekat karsinoma epidermoid yang masih terlihat normal dan belum menunjukkan tanda-tanda displasia. Pada penelitian tersebut jumlah AgNOR dianggap dapat mendeteksi adanya perubahan seluler sebelum perubahan morfologi terjadi, yaitu peningkatan aktifitas proliferasi sel pada mukosa mulut di dekat karsinoma epidermoid.<sup>23</sup>

### **2.3. Respon imunologik terhadap sel tumor**

Antigen tumor biasanya diekspresikan bersama *Major Histocompatibility Complex* kelas I (MHC kelas I) yang akan dikenali oleh sel limfosit T CD8. Jadi sel tumor sendiri dapat menjadi *Antigen Presenting Cells (APCs)* dari antigennya sendiri. Apabila protein antigen ini terlepas ke medium ekstraseluler bersama sel tumor yang mati atau sel tumor yang utuh akan diendositososis oleh APCs dan diekspresikan sebagai MHC tipe II yang akan dikenali oleh limfosit T Helper CD4.<sup>7,15,25</sup>

Antigen tumor yang diekspresikan bisa berasal dari anomali sintesa protein maupun anomali dari sintesa protein tumor supresor pada sel maligna. Beberapa tumor antigen yang menstimulasi respon sel-T antara lain:

Tabel 2.1 Tumor antigen yang menstimulasi respon sel-T <sup>15</sup>

Kategori	Contoh
Produk Onkogen	p21 <sup>ras</sup> protein (10% karsinoma pada manusia) p210 (chronic myelogenous leukemia) HER-2/neu, merupakan over ekspresi dari gen normal (berbagai karsinoma)
Produk dari gen tumor-supressor yang mengalami mutasi	p53 (~= 50% tumor-tumor pada manusia)
Produk dari gen virus yang berkaitan dengan keganasan	SV40T antigen IIPV E6 dan E7 (karsinoma serviks pada manusia) EBNA-1(limphoma Burkitt's dan karsinoma nasofaring)

Respon Imun pada dasarnya terdiri dari tiga fase :

a. Fase Kognitif

Fase Kognitif dari respon imun terdiri dari pengikatan imunogen ke reseptor spesifik dari limfosit mature yang terjadi sebelum stimulasi imunogenik. Limfosit B memiliki molekul antibodi pada permukaannya yang dapat mengikat protein, polisakarida, atau lipid. Sedangkan limfosit T hanya mengenal peptida yang berikatan dengan MHC pada permukaan sel penyaji. Respon imun diawali dengan peristiwa masuknya imunogen dan penyajian imunogen tersebut ke reseptor dari limfosit.<sup>7,15,27,28,29.</sup>

b. Fase Aktivasi

Fase aktivasi dari respon imun merupakan rangkaian kejadian dimana limfosit terinduksi sebagai konsekuensi dan pengenalan terhadap *imunogen* spesifik. Limfosit mengalami dua perubahan utama dalam respons terhadap *imunogen*. Pertama, limfosit spesifik berproliferasi sehingga jumlahnya bertambah. Kedua, limfosit tersebut berdiferensiasi menjadi sel yang berfungsi mengeliminasi imunogen asing<sup>12</sup>. Interaksi makrofag yang menyajikan imunogen dengan limfosit T spesifik mengakibatkan makrofag mensekresikan *Interleukin-1* (IL-1) yang menstimulasi limfosit *T helper* sehingga menghasilkan IL-2. Limfosit *T helper* berproliferasi sebagai respons terhadap IL-2 tersebut<sup>29</sup>. Limfosit *T helper* tersebut juga menghasilkan *interleukin* lain yang dapat menginduksi berbagai sel lain seperti limfosit B, makrofag, *prekursor* limfosit T sitotoksik, dan sel endotelial.<sup>7,15,27,28,29</sup>

c. Fase Efektor

Fase Efektor dari respons imun adalah tahap pada waktu limfosit telah teraktifkan oleh Imunogen dan dalam keadaan yang dapat berfungsi mengeliminasi imunogen tersebut. Pada fase Efektor, imunogen tidak lagi berperan kecuali sebagai suatu target untuk dihancurkan.<sup>7,15,20,28</sup>

Fungsi sistem imun adalah fungsi protektif dengan mengenal dan menghancurkan sel-sel abnormal itu sebelum berkembang menjadi tumor atau membunuhnya kalau tumor itu sudah tumbuh. Peran sistem imun ini disebut

*immune surveillance*, oleh karena itu maka sel-sel Efektor seperti limfosit B, *T-sitotoksik* dan sel NK harus mampu mengenal antigen-tumor dan memperantarai/menyebabkan kematian sel-sel tumor.<sup>15,25,26</sup>

Beberapa bukti yang mendukung bahwa ada peran sistem imun dalam melawan tumor ganas diperoleh dari beberapa penelitian, diantaranya yang mendukung teori itu adalah: 1) Banyak tumor mengandung infiltrasi sel-sel mononuklear yang terdiri atas sel T, Sel NK dan Makrofag; 2) tumor dapat mengalami regresi secara spontan; 3) tumor lebih sering berkembang pada individu dengan *imunodefisiensi* atau bila fungsi sistem imun tidak efektif; bahkan *imunosupresi* seringkali mendahului pertumbuhan tumor; 4) dilain pihak tumor seringkali menyebabkan *imunosupresi* pada penderita. Bukti lain yang juga mendukung bahwa tumor dapat merangsang *sistem* imun adalah ditemukannya limfosit berproliferasi dalam kelenjar getah bening yang merupakan *draining sites* dari pertumbuhan tumor disertai peningkatan ekspresi MHC dan *Interseluler- adhesion molecule* (ICAM) yang mengindikasikan sistem imun yang aktif.<sup>7,15,27,28,29.</sup>

Sebaran limfosit disekitar sel kanker secara histologik mempunyai nilai *prognostik* yang baik karena kecepatan pertumbuhan sel kanker akan menurun. Secara *invitro*, beberapa sel imun disekitar sel kanker terbukti dapat membunuh sel kanker disekelilingnya.<sup>26</sup> Hubungan antara banyaknya limfosit yang ditemukan diantara kelompok sel kanker secara histologi dengan prognosis penderita telah ditunjukkan pada kanker leher rahim.<sup>26</sup>



Sel imun yang berada disekitar sel kanker yang berperan dalam perondaan terhadap kanker adalah limfosit T sitotoksik (CTL), Sel NK (*Natural Killer*) dan makrofag. Setelah mengenal sel kanker sebagai sel asing, ketiga sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker.<sup>7,15,20,27,30</sup>

Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan perforin, sedangkan makrofag menggunakan cara fagositosis. Dalam memproses antigen tumor *in vivo* akan melibatkan baik respon imun humoral maupun seluler. Sampai saat ini belum ada bukti antibodi secara sendiri dapat menghambat perkembangan / pertumbuhan sel tumor. Dengan demikian respon imun humoral dalam bentuk antibodi terhadap tumor selalu memerlukan bantuan efektor imun seluler.<sup>15,20,28</sup>

Komponen efektor pada sistem imun yang memiliki kemampuan bereaksi dengan sel tumor ialah limfosit T, *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC), sel NK dan makrofag.<sup>7,15,20,26,31</sup>

## **2.4. Mekanisme efektor dalam melawan tumor**

### **2.4.1. Limfosit T sebagai efektor anti tumor**

Subpopulasi limfosit T, limfosit *T helper* dan T sitotoksik mempunyai peranan yang sama dalam mengeliminasi antigen tumor. Sel yang mengandung antigen tumor akan mengekspresikan antigennya bersama molekul MHC kelas I yang kemudian membentuk kompleks melalui *TCR (T-cell Receptor)* dari sel T-

sitotoksik (CD8), mengaktivasi sel T-sitotoksik untuk menghancurkan sel tumor tersebut. Sebagian kecil dari sel tumor juga mengekspresikan antigen tumor bersama molekul MHC kelas II, sehingga dapat dikenali dan membentuk kompleks dengan limfosit *T-helper* (CD4) dan mengaktivasi sel *T-helper* terutama *subset* Th1 untuk mensekresi limfokin IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  di mana keduanya akan merangsang sel tumor untuk lebih banyak lagi mengekspresikan molekul MHC kelas I, sehingga akan lebih mengoptimalkan sitotoksisitas dari sel T-sitotoksik (CD8) <sup>7,15,20,26,31</sup>.

Pada banyak penelitian terbukti bahwa sebagian besar sel efektor yang berperan dalam mekanisme anti tumor adalah sel T CD8, yang secara fenotip dan fungsional identik dengan CTL yang berperan dalam pembunuhan sel yang terinfeksi virus atau sel *alogenik* CTL dapat melakukan fungsi *surveillance* dengan mengenal dan membunuh sel-sel potensial ganas yang mengekspresikan peptida yang berasal dari protein seluler mutant atau protein virus onkogenik yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I. Limfosit T yang menginfiltrasi jaringan tumor (*Tumor Infiltrating Lymphocyte* = TIL) juga mengandung sel CTL yang memiliki kemampuan melisiskan sel tumor. Walaupun respon CTL mungkin tidak efektif untuk menghancurkan tumor, peningkatan respon CTL merupakan cara pendekatan terapi antitumor yang

menjanjikan dimasa mendatang. Sel T CD4<sup>+</sup> pada umumnya tidak bersifat sitotoksik bagi tumor, tetapi sel-sel itu dapat berperan dalam respon antitumor dengan memproduksi berbagai *sitokin* yang diperlukan untuk perkembangan sel sel CTL menjadi sel efektor. Di samping itu sel T CD4<sup>+</sup> yang diaktifasi oleh antigen tumor dapat mensekresi TNF dan IFN $\gamma$  yang mampu meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I dan sensitivitas tumor terhadap lisis oleh sel CTL. Sebagian kecil tumor yang mengekspresikan MHC kelas II dapat mengaktifasi sel CD4<sup>+</sup> spesifik tumor secara langsung, yang lebih sering terjadi adalah bahwa *Antigen Presenting Cell* (APC) profesional yang mengekspresikan molekul MHC kelas II memfagositosis, memproses dan menampilkan protein yang berasal dari se-sel tumor yang mati kepada sel T CD4<sup>+</sup>, sehingga terjadi aktivasi sel-sel tersebut<sup>15</sup>. Proses sitolitik CTLs terhadap sel target dengan mengaktifkan penggunaan enzim Perforin dan Granzym, ada beberapa langkah proses sitolitik CTLs terhadap sel target<sup>7,15,20,26,31</sup>.

#### 2.4.2. Antibodi yang diproduksi limfosit B berperan dalam sitotoksitas sel tumor

Selain limfosit B berperan dalam membentuk antibodi spesifik terhadap antigen tumor juga berperan dalam mengikat, memproses dan mempresentasikan antigen tumor untuk menginduksi sel Th agar menghasilkan respon pada sel tumor. Fungsi yang terakhir

disebutkan adalah kapasitas limfosit B sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC). Meskipun pada tumor, imunitas selular lebih banyak berperan daripada imunitas humoral, tetapi tubuh membentuk juga antibodi terhadap antigen tumor. Antibodi tersebut ternyata dapat menghancurkan sel tumor secara langsung atau dengan bantuan komplemen, atau melalui sel efektor *Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity* (ADCC) yang memiliki reseptor Fc misalnya sel K dan makrofag (opsonisasi) atau dengan jalan mencegah adhesi sel tumor. Pada penderita kanker sering ditemukan kompleks imun, tetapi pada kebanyakan kanker sifatnya masih belum jelas.

Antibodi diduga lebih berperan terhadap sel yang bebas (leukemia, metastase tumor) dibanding terhadap tumor yang padat, mungkin dengan membentuk kompleks imun, dengan demikian mencegah sitotoksitas sel T<sup>7,15,20,26,31</sup>.

#### 2.4.3. Sel Natural Killer (NK) sebagai efektor anti tumor

Sel NK merupakan komponen utama dari *immune surveillance*, yang dapat bekerja sebagai sel efektor dari imunitas natural maupun spesifik / adaptif. Mekanisme efektor sel NK mirip dengan sel T- sitotoksik (CD8), yang membedakan adalah bahwa sel NK melakukan sitotoksitas terhadap sel tumor tanpa melalui ekspresi antigen tumor bersama molekul MHC kelas I "(MHC-unrestricted manner)". Secara *in vitro*, sel NK dapat melisis sel terinfeksi virus dan

*cell line* dari tumor terutama tumor hematopoetik. Sebagian dari populasi sel NK dapat melisis sel target yang diopsonisasi oleh antibodi, terutama dari kelas IgG karena sel NK memiliki reseptor FcγRIII atau CD16 untuk Fc dari IgG. Kapasitas tumorisidal dari sel NK akan ditingkatkan oleh berbagai *sitokin*, diantaranya IFN, TNF, IL-2 dan IL-12. Konsep ini diadaptasikan dalam imunoterapi tumor menggunakan LAK (*Lymphokine Activated Killer*), yaitu set mononuklear perifer yang dikultur secara *in vitro* dengan penambahan IL-2 dosis tinggi<sup>7,15,20,31,32</sup>.

Sitotoksitas alami yang diperankan oleh sel NK merupakan mekanisme efektor yang sangat penting dalam melawan tumor. Sel NK adalah sel efektor dengan sitotoksitas spontan terhadap berbagai jenis sel sasaran; sel-sel efektor ini tidak memiliki sifat-sifat klasik dari makrofag, granulosit maupun CTL, dan sitotoksitasnya tidak bergantung pada MHC<sup>7,15,20,31</sup>.

Sel NK dapat berperan baik dalam respons imun nonspesifik maupun spesifik terhadap tumor, dapat diaktivasi langsung melalui pengenalan antigen tumor atau sebagai akibat aktivitas sitokin yang diproduksi oleh limfosit T spesifik tumor. Mekanisme lisis yang digunakan sama dengan mekanisme yang digunakan oleh sel T CD8<sup>+</sup> untuk membunuh sel, tetapi sel NK tidak mengekspresikan TCR dan mempunyai rentang spesifisitas yang lebar. Sel NK dapat membunuh

sel terinfeksi virus dan sel-sel tumor tertentu, khususnya tumor hemopoetik, *in vitro*. Sel NK tidak dapat melisis sel yang mengekspresikan MHC, tetapi sebaliknya sel tumor yang tidak mengekspresikan MHC, yang biasanya terhindar dari lisis oleh CTL, justru merupakan sasaran yang baik untuk dilisis oleh sel NK. Sel NK dapat diarahkan untuk melisis sel yang dilapisi *immunoglobulin* karena ia mempunyai reseptor Fc (FcRIII atau CD 16) untuk molekul IgG<sup>15</sup>. Disamping itu penelitian-penelitian terakhir mengungkapkan bahwa pengikatan sel NK pada sel sasaran juga dapat terjadi melalui reseptor khusus yang berbeda dengan reseptor Fc, yaitu reseptor NKR-PI, yang mengikat molekul semacam lektin<sup>7,15,20,31,32</sup>.

Aktivitas sel NK dihambat oleh antigen HLA-G, apabila diekspresikan oleh sel tumor, mengakibatkan sel tumor terhindar dari upaya lisis oleh sel NK. Walaupun antigen HLA-G jarang diekspresikan pada tumor, transkripnya berupa mRNA cukup sering dijumpai pada berbagai jenis tumor, sehingga diduga ekspresi antigen HLA-G dikontrol ditingkat pasca transkripsi. Apabila tumor tidak mengekspresikan antigen HLA-G, sulit baginya untuk menghindarkan lisis oleh sel NK, sekalipun tumor telah berupaya menghindar dari lisis oleh sel T sitotoksik dengan tidak mengekspresikan antigen MHC yang lain.<sup>15,20,32</sup>

Kemampuan sel NK membunuh sel tumor ditingkatkan oleh sitokin, termasuk IFN, TNF, IL-2 dan IL-12. Karena itu peran sel NK dalam aktivitas anti tumor bergantung pada rangsangan yang terjadi secara bersamaan pada sel T dan makrofag yang memproduksi sitokin tersebut<sup>15</sup>.

Ketiga jenis IFN ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) dapat meningkatkan fungsi sel NK. IFN mengubah pre-NK menjadi sel NK yang mampu mempermudah interaksi dengan antigen tumor dan lisis sel sasaran<sup>15</sup>. Sel NK mungkin berperan dalam *immune surveillance* terhadap tumor yang sedang tumbuh, khususnya tumor yang mengekspresikan antigen virus<sup>15</sup>. Aktivitas sel NK sering dihubungkan dengan prognosis. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ada korelasi antara penurunan kemampuan sitotoksitas sel NK dengan peningkatan resiko metastasis. Dari penelitian-penelitian itu disimpulkan bahwa sitotoksitas alami dapat berperan dalam mencegah pertumbuhan kanker dan metastasis<sup>7,15,32,33</sup>.

Yang menarik adalah peran sel NK yang diaktifkan dengan stimulasi IL-2 dalam membunuh sel tumor. Sel-sel itu yang disebut *lymphokine activated killer cells* (LAK cells) dapat diperoleh in vitro dengan memberikan IL-2 dosis tinggi pada biakan sel-sel limfosit darah perifer atau sel-sel *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TIL) yang berasal dari penderita kanker. Sel-sel yang diaktifkan oleh limfokin

(LAK cells) menunjukkan peningkatan aktivitas sitotoksik yang sangat jelas. Besar kemungkinan, bahwa sel LAK dapat digunakan dikemudian hari dalam imunoterapi adaptif<sup>15,31,32</sup>.

Sel NK juga mempunyai peran penting dalam mencegah metastasis dengan mengeliminasi sel tumor yang terdapat dalam sirkulasi. Hal itu dibuktikan dengan berbagai penelitian. Salah satu diantaranya mengungkapkan bahwa 90-99% sel tumor yang dimasukkan intravena akan hilang dalam 24 jam pertama, dan hal ini mempunyai hubungan bermakna dengan jumlah dan aktivitas sel NK. Percobaan menggunakan NK yang di-aktivasi dengan cyclophosphamide (cy) menunjukkan bahwa sel-sel itu gagal mencegah metastasis<sup>7,15</sup>.

Setelah mengenal sel tumor dengan caranya masing-masing. CTL dan sel NK melepas granula azurofilik. Granula ini akan menyelubungi sel target, kemudian akan bersatu dengan membran sel target (*eksositosis*). Granula CTL dan sel NK mengandung *perforin*, *sitotoksin*, *serine esterase (granzyme)* dan *proteoglikan*. Perforin akan menimbulkan lubang pada membran sel target (sel tumor), dimana lubang tersebut merupakan pintu masuk bagi molekul sitotoksik lainnya dalam sitoplasma dan inti sel yang menyebabkan kematian dari sel target<sup>11,15,19,32,34,35</sup>.



Proses membunuh sel target ini melibatkan ekspresi permukaan FAS Ligan yang dipengaruhi reseptor, yang dapat mengakibatkan *cross link* sel target sehingga memicu kematian endogen (dikaitkan dengan apoptosis)<sup>7,14,19,28,34</sup> secara bersama-sama jalur granul (*eksosistosis* dan FASL). Granzym akan mengaktifkan procaspase endogen pada sel target. Aktifitas *caspase* merupakan bagian dari jalur kematian *apoptotic* pada umumnya. *Inhibitor caspase* akan menghambat *apoptosis* dari jalur rusaknya nucleus, tetapi tidak menghambat apoptosis karena kerusakan yang bukan dari kerusakan inti tetapi hilangnya mitokondria potensial<sup>15,19,33,34</sup>. CTL dan sel NK tidak akan terlisis oleh perforinnya sendiri yang lepas karena ikatan antara CTL dan NK lemah terhadap perforin (oleh karena histon H2B)

#### 2.4.4. Peran makrofag dalam respon antitumor.

Makrofag juga berperan dalam pertahanan melawan sel tumor baik bertindak sebagai APC dalam mengolah dan mempresentasikan antigen tumor kepada sel *T helper*, maupun bertindak langsung sebagai efektor dengan melisis sel tumor.

Makrofag yang berperan dalam mekanisme tersebut adalah makrofag aktif yaitu makrofag yang telah diaktifasi oleh Macrophage Activating Factors (MAF), suatu sitokin yang dihasilkan limfosit T yang distimulasi antigen. Makrofag yang tidak aktif telah dibuktikan tidak memiliki kemampuan melisis sel tumor.

Seperti juga pada sel NK, mekanisme pengenalan sel tumor sasaran oleh makrofag juga belum jelas. Sedangkan kemampuan untuk berikatan dengan sel tumor terjadi karena sel makrofag juga memiliki reseptor Fc dari IgG, sehingga dapat bekerja sama dengan IgG dalam melisiskan sel tumor. Penyebab terjadinya lisis sel tumor disebabkan oleh pengaruh enzim lisosomal, metabolit yang reaktif terhadap oksigen dan NO. Makrofag aktif juga mensekresi sitokin antara lain IL-12 dan Tumor *Necrosis* Factor (TNF). IL-12 berperan memacu proliferasi dan aktivasi sel T CD4+, sel T CD8+ serta sel NK. TNF sesuai namanya mampu melisis sel tumor melalui cara : 1) TNF berikatan dengan reseptor permukaan dari sel tumor dan secara langsung melisis sel tumor, 2) TNF dapat menyebabkan nekrosis dari sel tumor dengan cara memobilisasi berbagai respon imun tubuh

7,15,20,26,31,32

## **2.5. Apoptosis**

Apoptosis adalah suatu kematian sel yang terprogram atau *programmed cell death*. Sekali terjadi aktivasi akan menyebabkan reaksi enzimatik intraseluler. Enzim, protein, dan DNA akan terurai, dan tidak ada komponen intraseluler yang terdispersi ke ekstraseluler. Sel yang mengalami apoptosis akan mengeluarkan signal ke ekstraseluler berupa

phospholipid pada membran selnya yang dapat dikenali oleh sel-sel imun, terutama makrofag<sup>34</sup>.

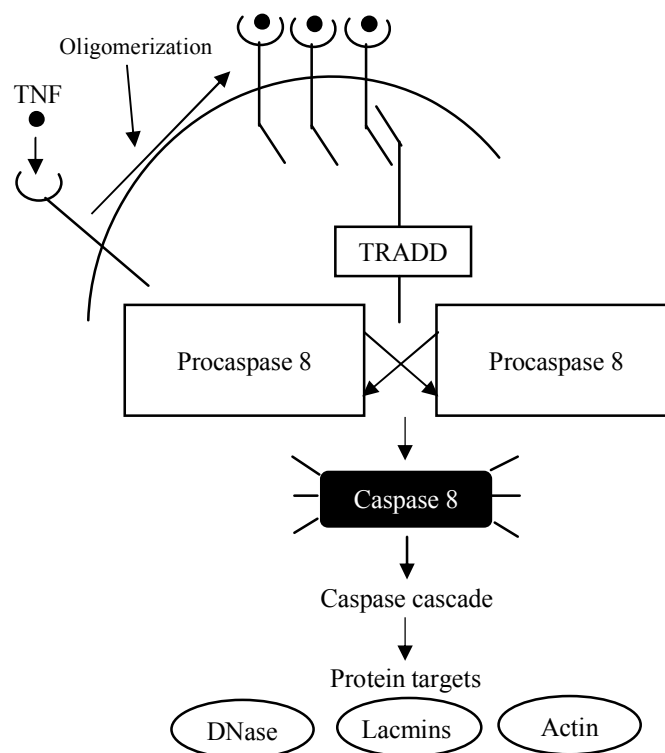
Ada banyak stimulasi yang dapat menginduksi apoptosis. Stimulasi utama adalah agent kemoterapi, ultraviolet/radiasi, panas, *osmotic imbalance*, dan *Nitric Oxide*. Menurut jenis triger dan tipe selnya, ada banyak jalur signal untuk mengaktifasi apoptosis. Yang akan kami sebutkan disini adalah apoptosis yang diinduksi oleh CTL dan sel-NK yang diinduksi baik oleh *nonsecretory induced*, *ligand -induced*, dan *secretory induced* dengan granzyme melalui perantaraan sekresi perforin.

Kerusakan DNA dipicu oleh enzym caspase aktif dimana caspase ini merupakan suatu molekul protein 10 dan 20 kD berupa protease cystein. Saat ini sudah dikenal 12 jenis caspase. Protein target dari caspase ini adalah protein *DNA repair system* [seperti (ADP-ribose)-polymerase], protein struktural/sitoskeletal (seperti lamin, actin, cytokeratin, dll) , dan onkoprotein (terutama Rb protein). Yang terakhir diketahui, caspase juga akan mengaktifkan DNAase yang menyebabkan kerusakan DNA selama apoptosis. Sehingga yang akan terjadi adalah melisutnya organel dan inti sel<sup>34,35</sup>.

Caspase (terutama caspase 8 dan 10) dapat diaktifkan oleh granzyme maupun suatu katalisator protease yaitu FLICE (FADD-Like IL-1 Converting Enzyme) yang berikatan oleh FADD (Fas-Associated Death Domain), pada reseptor CD95/Fas setelah kontak dengan Fas ligand.

Pengaktifan caspase melalui reseptor CD95/Fas terjadi bila kontak dengan Fas ligand. Fas ligand ini bisa berasal dari ekspresi protein antigen dari CTL, sitokin TNF, ataupun metabolit ligand pada Fas reseptor seperti polyphenol yang terkandung dalam *tanaman* obat<sup>15,34,35</sup>.

Aktifasi *secretory induce* caspase dilakukan oleh CTL dan sel-NK oleh granula sitotoksiknya yang berisi protein pore-forming perforin (cytolysin) dan enzim famili dari serine protease yang bernama granzyme sebagai senjata dari CTL/sel-NK.



Gambar 2.2 Jalur Ekstrinsik Apoptosis<sup>24</sup>

Secara mikroskopik apoptosis dapat diketahui dengan pengecatan HE, dengan melihat *apoptotic body* yang ada. Apoptotic body secara mikroskopik dengan pengecatan HE akan tampak sebagai sel tunggal bulat dengan gambaran kromatin yang terkondensasi berwarna basofilik, kadang gambaran kromatinnya terlihat pecah-pecah, dengan sitoplasma yang eosinofilik. Sering terlihat apoptotic body terpisah dari sel-sel sekitarnya yang intak dengan gambaran halo yang jelas<sup>34,35</sup>. Sedangkan pemeriksaan dengan menggunakan metode TUNEL Assay adalah perpaduan antara reaksi molekuler dengan imunohistokimia, dimana reaksi molekuler ditandai adanya ligasi antar fragmentasi DNA dengan deoxigenin dengan bantuan enzim TdT (terminal deoxinucleotide transferase), dan reaksi imunohistokimia yang ditandai adanya reaksi imunologi yaitu reaksi antara antigen dengan antibody dan reaksi kimiawi yaitu adanya enzyme dengan substrat.<sup>36</sup>

## 2.6. Kanker payudara

### 2.6.1. Embriologi dan anatomi

Kelenjar ini khas untuk golongan mamalia. Jumlah kelenjar berbeda tergantung jenis spesies. Pada manusia terdapat satu pasang kelenjar. Secara embriologik, payudara manusia berasal dari penebalan ektodermal pada sisi dada dari ketiak ke arah vulva pada kedua sisinya. Penebalan bilateral ini (milk streak) timbul pada minggu keenam kehidupan mudigah. Pada minggu kesembilan,

penebalan ini menjadi atrofi, kecuali pada daerah dada dan puncak papilla nampak sebagai daerah proliferasi sel basal. Akhir bulan ketiga gestasi, sel skuamosa dari permukaan mulai invasi ke puncak papila. Saluran kelenjar payudara tumbuh berasal dari daerah ini dan berakhir pada puncak lobular yang mana proliferasi ke asini seiring dengan maturitas seksual. Kelenjar payudara dewasa terletak diantara lapisan luar dan dalam fascia pektoralis superfisialis dinding dada depan, berada pada celah iga depan ke dua sampai ke tujuh.<sup>37</sup>.

#### 2.6.2. Etiologi dan patogenesis

Ada 3 pengaruh penting pada kanker payudara :

##### a. Faktor genetik

Faktor genetik berpengaruh dalam peningkatan terjadinya kanker payudara. Pada percobaan tikus dengan galur sensitif kanker, melalui persilangan genetik didapatkan tikus yang terkena kanker. Ada faktor turunan pada suatu keluarga yang terkena kanker payudara. kelainan ini diketahui terletak di lokus kecil di kromosom 17q21 pada kanker payudara yang timbul saat usia muda<sup>14,20,37</sup>.

##### b. Hormon

Kelebihan hormon *estrogen endogen* atau lebih tepatnya terjadi ketidak seimbangan hormon terlihat sangat jelas pada kanker payudara. Banyak faktor resiko yang dapat disebutkan seperti masa

reproduksi yang lama. nulipara, dan usia tua saat mempunyai anak pertama akan meningkatkan estrogen pada siklus menstruasi. Wanita *pasca menopause* dengan tumor ovarium fungsional dapat terkena kanker payudara karena adanya hormon estrogen berlebihan. Suatu penelitian menyebutkan bahwa kelebihan jumlah *estrogen* di air seni, frekuensi ovulasi, dan umur saat menstruasi dihubungkan dengan meningkatnya resiko terkena kanker payudara. Epitel payudara normal memiliki reseptor estrogen dan progesteron. Kedua reseptor ditemukan pada sebagian besar kanker payudara. Berbagai bentuk *growth promoters* (*transforming growth factor-alpha / epithelial growth factor*, *platelet derived growth factor*), *fibroblast growth factor* dan *growth inhibitor* disekresi oleh sel kanker payudara manusia. Banyak penelitian menyatakan bahwa *growth promoters* terlibat dalam mekanisme *autokrin* dari tumor. Produksi GF tergantung pada hormon *estrogen*, sehingga interaksi antara hormon di sirkulasi, reseptor hormon di sel kanker dan GF autokrin merangsang sel tumor menjadi lebih progresif<sup>19,20,37</sup>.

c. Faktor lingkungan

Pengaruh lingkungan diduga karena berbagai faktor antara lain : alkohol, diet tinggi lemak, kecanduan minum kopi, dan

infeksi virus. Hal tersebut mungkin mempengaruhi onkogen dan gen supresi tumor dari kanker payudara<sup>15,38</sup>.

### 2.6.3. Klasifikasi

Berdasarkan gambaran histologis, WHO membuat klasifikasi kanker payudara sebagai berikut:

a. Kanker Payudara Non Invasif

1. Karsinoma intraduktus non invasif
2. Karsinoma lobular *in situ*

b. Kanker Payudara Invasif

1. Karsinoma duktus invasif
2. Karsinoma lobular invasif
3. Karsinoma musinosum
4. Karsinoma meduler
5. Karsinoma papiler invasif
6. Karsinoma tubuler
7. Karsinoma adenokistik
8. Karsinoma apokrin<sup>39</sup>.

Berdasarkan gambaran gejala klinik, Klasifikasi *TNM* menurut *International Union Against Cancer (UICC)*<sup>40</sup>.