

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit kanker yang tertua pada manusia. Penyakit kanker payudara telah dikenali sejak jaman mesir kuno ± 1600 SM, walaupun pada saat itu belum ada definisi mengenai kanker.¹⁴ Edwin Smith Papyrus melaporkan ada 8 kasus tumor yang disertai ulkus pada daerah payudara yang diterapi dengan cara dibakar dengan api.¹⁵ Selang beberapa abad lamanya penderita dengan tumor payudara tidak mendapatkan terapi, baru kemudian muncul pada abad 17 seorang ahli bedah Perancis Jean Louis Petit (1674 – 1750) menemukan kasus kanker payudara yang disertai pembesaran limfonodi didaerah aksila. Ahli bedah dari skotlandia Benjamin Bell (1749 – 1806) melakukan operasi pengangkatan kelenjar payudara beserta otot – otot dada dan limfonodi aksila, baru kemudian dipopulerkan oleh William Stewart Halsted (1882) melakukan Halsted Radikal Mastectomy dan prosedur ini tetap populer sampai tahun 1970.¹⁵

2.1.1. Etiologi dan patogenesis

Ada 3 pengaruh penting pada kanker payudara :

1. 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 dilokus kecil di kromosom 17q21 pada kanker payudara yang timbul saat usia muda.^{16,17}

2. Hormon

Kelebihan hormon estrogen endogen atau lebih tepatnya terjadi ketidakseimbangan 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 pada

sel kanker dan GF autokrin merangsang sel tumor menjadi lebih progresif.¹⁶

3. Faktor lingkungan dan gaya hidup

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.¹⁷

2.1.2. Klasifikasi

Berdasarkan gambaran histologis, WHO membuat klasifikasi kanker payudara sebagai berikut.^{18,19}

a. Kanker Payudara Non Invasif

1. Karsinoma intraduktus non invasif

Karsinoma intraduktus adalah karsinoma yang mengenai duktus disertai infiltrasi jaringan stroma sekitar. Terdapat 5 sub tipe dari karsinoma intraduktus, yaitu komedokarsinoma, solid, kribriiformis, papiler dan mikrokapiler. Komedokarsinoma ditandai dengan sel-sel yang berproliferasi cepat dan memiliki derajat keganasan tinggi. Karsinoma jenis ini dapat meluas ke duktus ekskretorius utama, kemudian menginfiltrasi *papilla* dan *areola*, sehingga dapat menyebabkan penyakit Paget pada payudara.

2. Karsinoma lobular insitu

Karsinoma ini ditandai dengan pelebaran satu atau lebih duktus terminal dan atau tubulus, tanpa disertai infiltrasi ke dalam stroma.

Sel-sel berukuran lebih besar dari normal, inti bulat kecil dan jarang disertai mitosis.

b. Kanker Payudara Invasif

1. Karsinoma duktus invasif

Karsinoma jenis ini merupakan bentuk paling umum dari kanker payudara. Karsinoma duktus infiltratif merupakan 65-80% dari karsinoma payudara. Secara histologis, jaringan ikat padat tersebar berbentuk sarang atau beralur-alur. Sel berbentuk bulat sampai poligonal, bentuk inti kecil dengan sedikit gambaran mitosis. Pada tepi tumor, tampak sel kanker mengadakan infiltrasi ke jaringan sekitar seperti sarang, kawat atau seperti kelenjar. Jenis ini disebut juga sebagai *infiltrating ductus carcinoma not otherwiser specified (NOS)*, *scirrhou carcinoma*, *infiltrating carcinoma*, atau *carcinoma simplex*.

2. Karsinoma lobular invasif

Jenis ini merupakan karsinoma infiltratif yang tersusun atas sel-sel berukuran kecil dan seragam dengan sedikit pleimorfisme. Karsinoma lobular invasif biasanya memiliki tingkat mitosis rendah. Sel infiltratif biasanya tersusun konsentris disekitar duktus berbentuk seperti target. Sel tumor dapat berbentuk *signet-ring*, *tubuloalveolar*, atau *solid*.

3. Karsinoma musinosum

Pada karsinoma musinosum ini didapatkan sejumlah besar mucus intra dan ekstraseluler yang dapat dilihat secara makroskopis maupun mikroskopis. Secara histologis, terdapat 3 bentuk sel kanker. Bentuk pertama, sel tampak seperti pulau-pulau kecil yang mengambang dalam cairan musin basofilik. Bentuk kedua, sel tumbuh dalam susunan kelenjar berbatas jelas dan lumennya mengandung musin. Bentuk ketiga terdiri dari susunan jaringan yang tidak teratur berisi sel tumor tanpa diferensiasi, sebagian besar sel berbentuk *signet-ring*.

4. Karsinoma meduler

Sel berukuran besar berbentuk polygonal/lonjong dengan batas sitoplasma tidak jelas. Diferensiasi dari jenis ini buruk, tetapi memiliki prognosis lebih baik daripada karsinoma duktus infiltratif. Biasanya terdapat infiltrasi limfosit yang nyata dalam jumlah sedang diantara sel kanker, terutama dibagian tepi jaringan kanker.

5. Karsinoma papiler invasif

Komponen invasif dari jenis karsinoma ini berbentuk papiler.

6. Karsinoma tubuler

Pada karsinoma tubuler, bentuk sel teratur dan tersusun secara tubuler selapis, dikelilingi oleh stroma fibrous. Jenis ini merupakan karsinoma dengan diferensiasi tinggi.

7. Karsinoma adenokistik

Jenis ini merupakan karsinoma invasif dengan karakteristik sel yang berbentuk kribriiformis. Sangat jarang ditemukan pada payudara.

8. Karsinoma apokrin

Karsinoma ini didominasi dengan sel yang memiliki sitoplasma *eosinofilik*, sehingga menyerupai sel apokrin yang mengalami metaplasia. Bentuk karsinoma apokrin dapat ditemukan juga pada jenis karsinoma payudara yang lain.

Berdasarkan gambaran gejala klinik, *Klasifikasi TNM* menurut *International Union Against Cancer (UICC)* adalah :

T = Tumor Primer

Tx = Tumor primer tak dapat diperiksa

T0 = Tidak terdapat tumor primer

Tis = Karsinoma in situ

Tis (DCIS) Ductal carcinoma in situ

Tis (LCIS) Lobular carcinoma in situ

Tis (Paget) Paget disease

T1 = Ukuran tumor 2 cm atau kurang

T1a = Ukuran tumor lebih dari 0,1 cm dan tidak lebih dari 0,5 cm

T1b = Ukuran tumor lebih dari 0,5 cm dan tidak lebih dari 1 cm

T1c = Ukuran tumor lebih dari 1 cm dan tidak lebih dari 2 cm

T2 = Ukuran tumor lebih dari 2 cm dan tidak lebih dari 5 cm

T3 = Ukuran tumor lebih dari 5 cm

T4 = Semua ukuran tumor dengan ekstensi ke dinding dada atau kulit.

T4a = Ekstensi ke dinding dada.
 T4b = Edem (termasuk peau d'orange), atau ulserasi kulit payudara, atau satelit nodul pada payudara ipsilateral.
 T4c = T4a dan T4b
 T4d = Inflammatory carcinoma

N = Limfonodi Regional

Nx = Limfonodi Regional tak dapat diperiksa
 N0 = Tak ada metastasis di Limfonodi Regional
 N1 = Metastasis di Limfonodi aksila ipsilateral mobile
 N2 = Metastasis di Limfonodi aksila ipsilateral fixed
 N2a = Metastasis di Limfonodi aksila ipsilateral fixed antar limfonodi atau fixed ke struktur jaringan sekitarnya
 N2b = Metastasis di Limfonodi mamaria interna
 N3a = Metastasis di Limfonodi infraklavikuler ipsilateral
 N3b = Metastasis di Limfonodi mamaria interna dan aksila ipsilateral
 N3c = Metastasis di Limfonodi supraklavikuler

M = Metastasis jauh

Mx = Metastasis jauh tak dapat diperiksa
 M0 = Tak ada Metastasis jauh
 M1 = Metastasis Jauh

Stadium Kanker Payudara :

Stadium 0	=	Tis	N0	M0
Stadium I	=	T1	N0	M0
Stadium IIA	=	T0	N1	M0
		T1	N1	M0
		T2	N0	M0
Stadium IIB	=	T2	N1	M0
		T3	N0	M0

Stadium IIIA	=	T0	N2	M0
		T1	N2	M0
		T2	N2	M0
		T3	N1,N2	M0
Stadium IIIB	=	T4	N0,N1,N2	M0
Stadium IIIC	=	Setiap T	N3	M0
Stadium IV	=	Setiap T	Setiap N	M1

2.2. Respon imunologik terhadap sel tumor

Respon imun merupakan hasil Interaksi antara antigen dengan sel-sel *imunokompeten*, termasuk mediator-mediator yang dihasilkannya. Limfosit merupakan unit dasar terbentuknya respon imun karena mampu berdiferensiasi menjadi seri lainnya, juga karena berperan dalam mengenal sekaligus bereaksi dengan antigen. Limfosit T sitotoksik dan sel NK dapat bertindak sebagai *efektor* dalam respon imun, tetapi dapat pula bertindak sebagai regulator respon imun karena kemampuannya dalam mempengaruhi aktivitas sel *imunokompeten* lainnya melalui limfokin yang dilepaskannya. ^{7,}

18,19,20

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 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.^{7, 20,21,22,23.}

b. Fase Aktivasi

Fase aktivasi dari respon imun merupakan rangkaian kejadian dimana limfosit terinduksi sebagai konsekuensi dari 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.⁷ Interaksi makrofag yang menyajikan imunogen dengan limfosit T spesifik mengakibatkan makrofag mensekresikan IL-1 yang menstimulasi limfosit T *helper* sehingga menghasilkan IL-2. Limfosit T *helper* berproliferasi sebagai respons terhadap IL-2 tersebut. Limfosit T *helper* tersebut juga menghasilkan *interleukin* lain seperti IL-12 yang dapat menginduksi berbagai sel lain seperti, sel NK.^{7,10,24-25}

b. 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.⁷ Pada fase efektor, imunogen merupakan suatu target untuk dihancurkan seperti sel-sel tumor.^{7,21,22}

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 T-sitotoksik dan sel NK harus mampu mengenal antigen tumor dan menyebabkan kematian sel-sel tumor.^{7,26,27,28}

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) Di lain pihak tumor seringkali menyebabkan imunosupresi pada penderita.

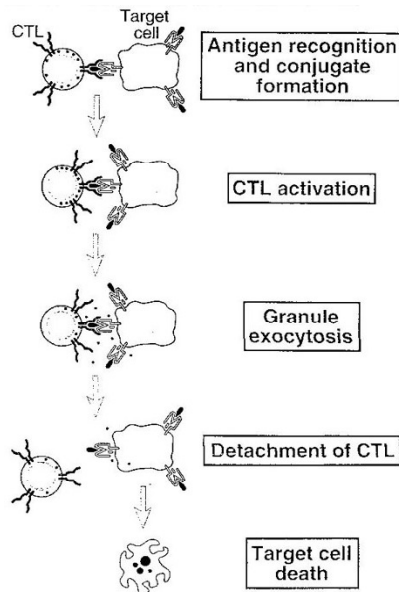
Bukti lain yang juga mendukung bahwa tumor dapat merangsang sistem imun adalah ditemukannya limfosit berproliferasi dalam kelenjar getah bening. Kelenjar getah bening ini merupakan *draining sites* dari pertumbuhan tumor disertai peningkatan ekspresi MHC dan *Interseuler adhesion molecule* (ICAM) yang mengindikasikan sistem imun yang aktif.^{7,29,30}

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. Hubungan antara banyaknya limfosit yang ditemukan

diantara kelompok sel kanker secara histologi dengan prognosis penderita telah ditunjukkan pada kanker leher rahim.²⁹

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.^{7,23,27,29}

Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan perforin dan granzym, 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. Komponen efektor pada sistem imun yang memiliki kemampuan bereaksi dengan sel tumor ialah limfosit T, *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC), sel NK dan makrofag^{7,9,22,26,28}



Gambar-1. Tahapan sitolitik sel target oleh CTLs. ⁷

Diambil dari :Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Shiv Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: WB Saunders Co. 2007: 20)

2.3. Mekanisme efektor dalam melawan tumor

2.3.1. Peran makrofag dalam respon antitumor.

Makrofag juga berperan dalam pertahanan melawan sel tumor baik bertindak sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC) dalam mengolah dan mempresentasikan antigen tumor kepada sel *T helper*, maupun bertindak langsung sebagai efektor dengan melisis sel tumor. ^{7,22}

Makrofag yang berperan dalam mekanisme tersebut adalah makrofag aktif yaitu makrofag yang telah diaktifasi oleh *Macrofag Activating Factors* (MAF), suatu sitokin yang dihasilkan limfosit T yang

distimulasi antigen. Makrofag yang tidak aktif telah dibuktikan tidak memiliki kemampuan melisis sel tumor.⁷

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 melisis 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.^{7,22,25,27,28,30}

2.3.2. 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 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. ^{7,22,25,27,28}

2.3.3. Limfosit T sebagai efektor anti tumor

Subpopulasi limfosit T, limfosit *T-helper* dan T- sitotoksik sama-sama berperan 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- γ dan TNF- α di mana keduanya akan merangsang sel tumor untuk lebih banyak lagi mengekspresikan molekul MHC kelas I,

sehingga akan lebih mengoptimalkan sitotoksitas dari sel T-sitotoksik (CD8). .^{7,22,25,27,28}

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 melisis sel tumor. Sel T CD4⁺ 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⁺ TH1 yang diaktifasi oleh antigen tumor dapat mensekresi TNF dan IFN γ yang mampu meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I dan sensitivitas tumor terhadap lisis oleh sel CTL. Tumor yang mengekspresikan MHC kelas II dapat mengaktifasi sel CD4⁺ spesifik tumor secara langsung, yang lebih sering terjadi adalah bahwa APC professional yang mengekspresikan molekul MHC kelas II memfagositosis, memproses dan menampilkan protein yang berasal dari sel-sel tumor yang mati kepada sel T CD4⁺, sehingga terjadi aktivasi sel-sel tersebut. Sel T CD4⁺ yang telah teraktivasi akan berdiferensiasi

tergantung tipe stimulan terutama adalah sitokin yang dihasilkan pada saat pengenalan antigen. Sitokin terpenting yang dihasilkan sel Th1 pada fase aktivasi adalah IFN- γ . IFN- γ akan memacu aktivitas pembunuhan mikroba sel-sel fagosit dengan meningkatkan destruksi intrasel pada mikroba yang difagositosis. Th1 juga mengeluarkan IL-2 yang berfungsi sebagai faktor pertumbuhan autokrin dan memacu proliferasi dan diferensiasi sel T CD8+. Th1 berfungsi sebagai pembantu (helper) untuk pertumbuhan sel limfosit T sitotoksik yang juga berperan dalam imunitas terhadap mikroba intrasel. Sel-sel Th1 memproduksi LT (limfotoksin T) yang meningkatkan pengambilan dan aktivasi netrofil.⁷

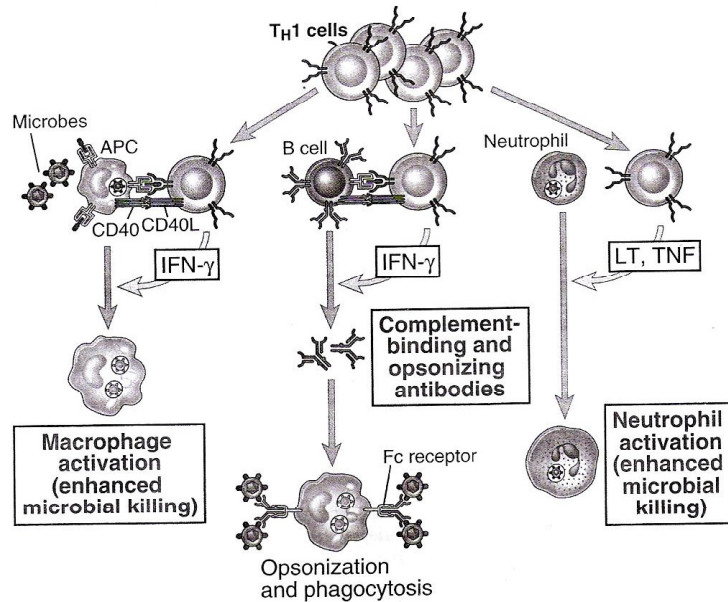
Th2 adalah sel T dengan CD4+ yang berfungsi membantu sel B untuk memproduksi antibodi. Th2 juga memproduksi sitokin seperti IL-4, IL-13 dan IL-10 yang bersifat antagonis terhadap IFN- γ dan menekan aktivasi makrofag.

Th2 kemungkinan berfungsi sebagai regulator fisiologis pada respon imun dengan menghambat efek yang mungkin membahayakan dari respon Th1. Pertumbuhan yang berlebihan dan tak terkontrol dari Th2 berhubungan dengan berkurangnya imunitas seluler.^{7,31}

Diferensiasi Sel T CD4+ menjadi Th1 dan Th2 tergantung sitokin yang diproduksi pada saat merespon mikroba yang memacu reaksi imunitas beberapa bakteri intraseluler dan beberapa parasit seperti *Leishmania* menginfeksi makrofag dan makrofag merespon dengan mengeluarkan IL-12. Mikroba lain mungkin memacu produksi IL-12 secara tidak langsung.

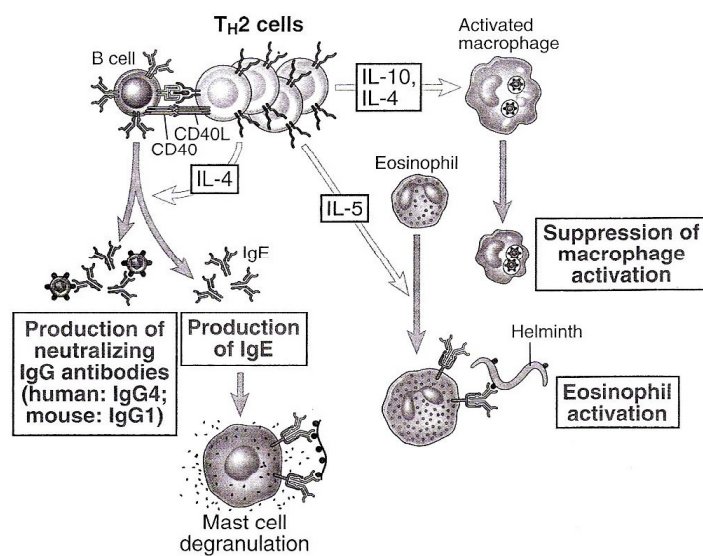
Misalnya virus dan beberapa parasit memacu sel NK untuk memproduksi IFN- γ yang memacu makrofag mengeluarkan IL-12. IL-12 berikatan dengan Sel T CD4⁺ sehingga memacu untuk menjadi sel Th1. IL-12 juga meningkatkan produksi IFN- γ dan aktivitas sitolitik yang dilakukan oleh sel T sitotoksik dan sel NK sehingga memacu imunitas seluler. IFN- γ yang diproduksi Th1 akan menghambat proliferasi sel Th2 sehingga meningkatkan dominasi sel Th1.⁷

Diferensiasi Sel T CD4⁺ menjadi Th2 dipacu oleh IL-4. Peranan IL-4 untuk memacu diferensiasi sel T CD4⁺ menjadi Th2 menimbulkan pertanyaan, darimana datangnya IL-4 sebelum Th2 dipacu karena sel Th2 adalah sumber utama IL-4. Ternyata Sel T CD4⁺ mengeluarkan IL-4 dalam jumlah kecil pada saat aktivasi inisial. Apabila antigen bersifat persisten dan berada dalam konsentrasi tinggi maka konsentrasi lokal IL-4 perlahan-lahan akan meningkat. Jika antigen tidak memicu inflamasi dengan mengeluarkan IL-12 maka hasilnya adalah peningkatan diferensiasi Sel T ke subset Th2 dan terjadi penumpukan efektor Th2. Jadi respon terhadap parasit cacing dan alergen lingkungan yang menyebabkan bergeser ke Th2 adalah stimulasi sel T yang persisten dan berulang-ulang dengan inflamasi yang kecil atau aktivasi makrofag. Keterangan lain yang diajukan adalah produksi IL-4 oleh tipe sel lain dan perbedaan struktur antigen atau signal yang melengkapi APC selain sitokin. Faktor genetik juga mempengaruhi apakah akan bergeser ke Sel Th1 atau Th2.⁷



Gambar 2. Fungsi sel-sel Th1

Diambil dari :Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Shiv Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: WB Saunders Co. 2007: 309-315)



Gambar 3. Fungsi sel-sel Th2

Diambil dari :Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Shiv Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: WB Saunders Co. 2007: 309-315)

2.3.4. 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 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 menginduksi apoptosis 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 sel mononuklear perifer yang dikultur secara *in vitro* dengan penambahan IL-2 dosis tinggi.^{7,22,25,28}

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⁺ 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 melisiskan 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 dilisiskan oleh sel NK. Sel NK dapat diarahkan untuk melisiskan sel yang dilapisi *imunoglobulin* karena ia mempunyai reseptor Fc (FcRIII atau CD 16) untuk molekul IgG. 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-K, yang mengikat molekul semacam lektin^{7, 23, 26, 31}

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, transkripsinya berupa mRNA cukup sering dijumpai pada berbagai jenis tumor, sehingga diduga ekspresi antigen HLA-G dikontrol di tingkat 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.^{7, 31}

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.

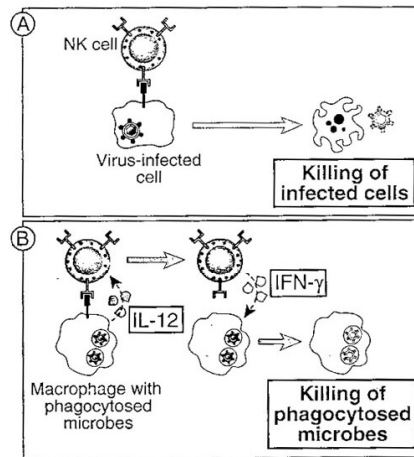
Ketiga jenis IFN (α, β, γ) dapat meningkatkan fungsi sel NK. IFN mengubah pre-NK menjadi sel NK yang mampu mempermudah interaksi dengan antigen tumor dan lisis sel sasaran. Sel NK mungkin berperan dalam *immune surveillance* terhadap tumor yang sedang tumbuh, khususnya tumor yang mengekspresikan antigen virus. 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.^{7,20,26,27}

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^{7,30}

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 ^{7,22} 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 membrane sel target (*eksosistosis*).^{12,20,27} 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.

Dalam 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) secara bersama-sama jalur granula (*eksosistosis* dan FASL). Granzyme akan mengaktifkan procaspase endogen pada sel target. Aktivitas *caspase* merupakan bagian dari jalur kematian *apoptotic* pada umumnya. *Inhibitor caspase* akan menghambat *apoptosis* dari jalur rusaknya nukleus; tetapi tidak menghambat apoptosis karena kerusakan yang bukan dari kerusakan inti tetapi hilangnya mitokondria potensial.^{7,16,17,29,30,31}



Gambar-4. Pengenalan sel target oleh sel-NK.⁷

Diambil dari :Abbas AK, Lichtman AH, Pilaai Shiv Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: WB Saunders Co. 2007: 38)

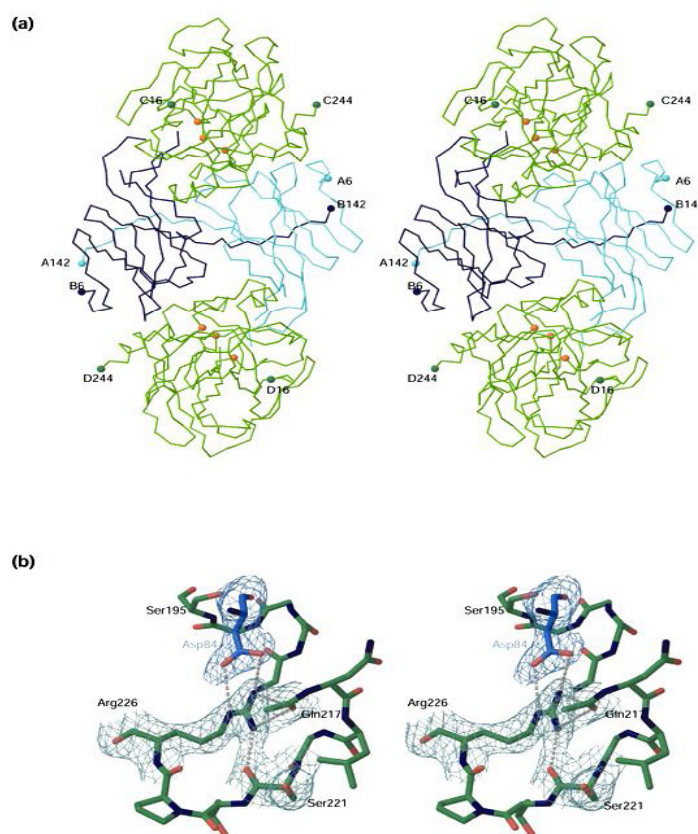
2.4. Granzyme

Granzyme merupakan molekul yang termasuk dalam famili serin protease, yang diekspresikan secara eksklusif oleh CTL dan sel-NK yang merupakan komponen sistem immune seluler. Granzyme ini terdiri dari granzyme B, granzyme A,C,D,E,F,G,H, dan M. Granzyme B merupakan pro-apoptosis yang paling kuat dibandingkan dengan anggota granzyme-granzyme yang lain. Granzyme telah diteliti dengan baik hanya pada manusia dan tikus. Pada tikus dan manusia, granzyme B teridentifikasi mempunyai level lebih dari 70% dari level keseluruhan granzyme-granzyme lain.^{25,32,34}

Granzyme merupakan 90% total massa granula sitolitik, khususnya *secretory lysosome* dari CTL dan sel NK. Secara struktur kimiawi sangat dekat dengan *chymotrypsin*, dengan tiga residu kunci pada *catalytic site*-nya yaitu histidin, asam aspartat dan serin. Pada tikus diidentifikasi 8 macam

granzym yaitu granzyme A-G dan M, sedangkan pada manusia diidentifikasi granzyme B, A, H, M dan granzyme-3 atau tryptase-2.^{32,33}

Gambar-5 menunjukkan struktur dari granzyme B. Gambar (a) menunjukkan 2 buah molekul kompleks granzyme (C46-C244,D244-D46) dengan sebuah dimer inhibitor *ecotin* (B6-B142,A142-A6). *Catalytic site* granzyme B terdapat pada daerah pertengahan (C46-C244,D244-D46). Pada (b) terlihat tempat-tempat *catalytic site* (Gln217,Ser221,Arg226,Ser195).^{25,33}



Gambar-5. Struktur kristal kimia dari granzyme B.³³

Granzyme dapat digolongkan menjadi tiga subfamili menurut spesifitas substratnya yaitu:

1. Golongan granzyme yang mempunyai aktifitas enzimatis menyerupai serin protease chymotrypsin dan secara genetik di *encoding* pada lokus *chymase*.
2. Golongan granzyme dengan aktifitas spesifik *trypsin-like* dan secara genetik di *encoding* pada lokus *trypase*.
3. Subfamili granzyme yang memecah residu hidrofobik, terutama methionin. Secara genetik di *encoding* pada lokus *Met-ase*.

Seluruh granzyme disintesis sebagai zymogen, dan setelah berikatan dengan peptida utama, aktifitas enzimatis maksimal diperoleh dengan lepasnya sebuah dipeptida amino terminal. Seluruh aktivitas granzym ini dapat dihambat oleh inhibitor serin protease, dan inhibitor yang terbaru diidentifikasi adalah *serpin* yang spesifik untuk granzyme. Ekspresi granzyme dapat diukur melalui plasma dengan metoda ELISA dan pengecatan immunohistokimia dengan monoklonal antibodi anti granzyme.^{24,33}

2.5. Perkembangan massa tumor

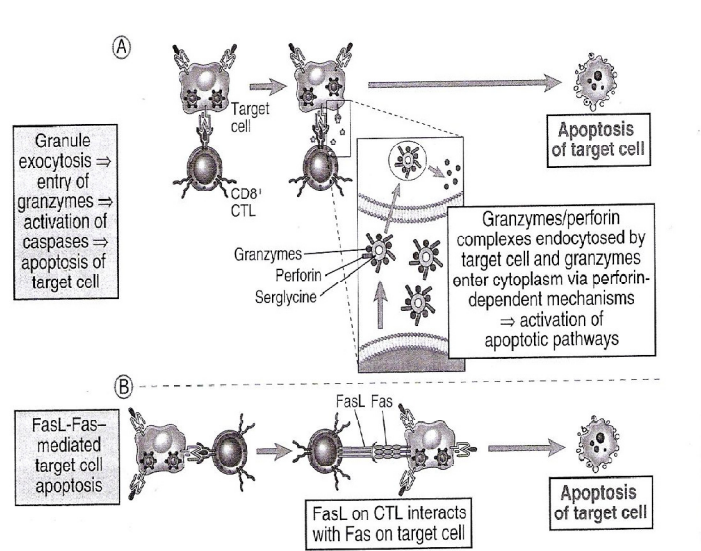
Sel secara terus-menerus dihadapkan pada pengambilan keputusan untuk membelah, diferensiasi atau menjalani proses apoptosis. Ketiganya memberi dampak pada jumlah sel sehingga jalur dimana proses pembelahan, diferensiasi dan apoptosis berlangsung merupakan sasaran aktifitas onkogen dan tumor suppressor genes. Mutasi proto-onkogen yang menghasilkan amplifikasi dan peningkatan fungsi onkogen mengakibatkan onkogen terus-

menerus mengaktifkan komponen-komponen lain dalam kaskade transduksi sinyal termasuk faktor transkripsi yang kemudian menghasilkan pembelahan sel. Di lain pihak mutasi pada tumor suppressor genes yang menyebabkan inaktivasi (loss of function mutation) akan berakibat hilangnya rem pengatur laju pertumbuhan.³⁵

Perkembangan massa tumor dengan dua cara yaitu secara eksponensial dari satu sel menjadi 2 sel, 4 sel, 8 sel dan seterusnya dan pertumbuhan gompertz yaitu pertumbuhan melambat dengan makin besarnya tumor, karena keterbatasan pasokan darah, ruang tumbuh dan daya imunitas tubuh.³⁶

Apoptosis adalah kematian sel yang terprogram di berbagai sel pada organisme. Pada apoptosis terjadi pelisutan sel dimana akan terjadi perubahan biokimia dan morfologi sel, dimana material intraseluler tidak terdispersi keluar dari sel. Hal ini berbeda dengan nekrosis sel dimana material intraseluler akan terdispersi keluar sel.^{7, 25}

Apoptosis dapat terjadi bila sebuah sel rusak, baik karena virus, stress, ionisasi radiasi, atau zat kimia toksik juga dapat menginduksi apoptosis melalui p-53. Apoptosis ini mempunyai fungsi menguntungkan terhadap organisme dalam mengeliminasi sel-sel yang rusak, terutama sel yang terinfeksi virus maupun sel maligna.³³

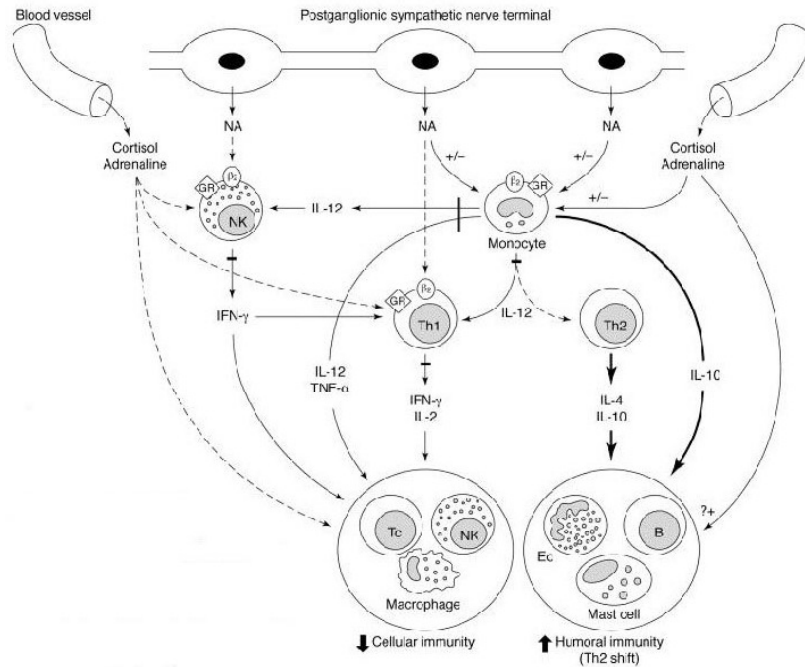


GAMBAR-6 Mekanisme CTL melisiskan sel target .⁷

Gambar 4 diambil dari :Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Shiv Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: WB Saunders Co. 2007: 118)

2.6. PENGARUH STRES TERHADAP RESPON IMUNITAS

Stress sangat berpengaruh terhadap imunitas tubuh melalui stimulasi sekresi kortisol dan adrenalin dari korteks dan medula adrenal. Juga berpengaruh terhadap pelepasan noradrenalin dari postganglion simpatik terminal saraf di pembuluh darah dan organ limfoid. Efek sistemik dari glukokortikoid dan katekolamin ini mempengaruhi pengaturan sitokin tipe TH1 dan TH 2. Stress akan menurunkan produksi sitokin TH 1 termasuk Interferon- γ (IFN- γ) yang dibutuhkan dalam respon imunitas seluler terhadap tumor. Penurunan IFN- γ , TNF alfa, IL-12 dan IL-2 akan menurunkan respon imun seluler terhadap tumor sehingga bergeser ke respon imun humoral.⁶ (Gambar 7)



Gambar 7. Mekanisme yang terjadi pada stress dan sistem imun

(Diambil dari : Elemkov IJ and Chrousos GP. Stress hormones, Th1/th2 patterns, Pro/Anti-inflammatory Cytokines and susceptibility to disease. TEM 1999;10(9):359-68).⁶

2.7. PERAN ECHINACEA sp.

2.7.1. Latar belakang echinacea

Suplemen diet *echinacea purpurea* berisi ekstrak segar bagian tumbuhan yang berada di atas tanah dan dipanen pada musim berbunga, meskipun bagian lain tumbuhan itu telah digunakan untuk kepentingan medis. Dari 9 spesies, *E.angustifolia*, *E.Purpurea* dan *E.Pallida* sudah biasa digunakan untuk mengobati *common cold* dan infeksi saluran pernafasan atas (ISPA). Meskipun sudah lama *E.angustifolia* diketahui mempunyai efek imunostimulasi yang besar tetapi sekarang tidak banyak

digunakan. *E.purpurea* lebih mudah dibudidayakan secara komersial, sehingga merupakan spesies yang paling banyak digunakan di Amerika.^{34,37}

Echinacea memegang peranan penting pada pengobatan tradisional di Amerika. Nama umumnya adalah *cone flower*, *black susan*, *black sampson*, *Rudbeckia*, *Missouri snakeroot*, *Red sunflower*, *coneflower* ungu dan *narrow-leafed coneflower*. Ekstrak *echinacea* sering diresepkan sampai diperkenalkan sulfa pada tahun 1930¹-an. Tanaman obat ini menjadi populer lagi pada tahun 1980-an.^{34,38}

Echinacea telah digunakan dengan aman selama berabad-abad. *Echinacea* dapat meningkatkan jumlah sel darah putih dan meningkatkan daya tahan tubuh, merangsang sel-sel *killer* dan menunjukkan aktivitas antiviral. Kegunaan *echinacea* adalah untuk terapi suportif *common cold*, infeksi traktus respiratorius kronik, pengobatan infeksi traktus urinarius bawah dan pengobatan luka superfisial bila diberikan secara eksternal. Pada percobaan manusia dan hewan, sediaan diberikan secara oral atau parenteral untuk menghasilkan efek imunostimulasi. Diantara aksi-aksi fisiologik yang lain, jumlah sel-sel darah putih meningkat, fagositosis granulosit manusia meningkat dan peningkatan temperatur tubuh. Aktivitas lainnya bisa bersifat antiviral, antiinflamasi, antibakterial yang secara terus-menerus dilaporkan pada percobaan-percobaan invitro.^{37,38,39,40}

2.7.2. Manfaat *echinacea*

Bahan aktif *echinacea* adalah *echinacoside*, polisakarida (*echinacin*), antibiotic *polyacetylenes*, *betaine*, *caffec acid glycosides*, *inulin*, *isobutyl amides*, minyak esensial (*humulene*, *caryophyllene*), *isobutyl+alkylamine*, *resin*, *flavonoid* (pada akar dan batang), ester *sesquiterpene* (*echinadiol*, *epoxyechinadiol*, *echinax-anthole* dan *dihydor-xynardole*).³⁷

Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan bahwa *echinacea* dapat meningkatkan produksi antibodi, jumlah dan aktivitas sel-sel darah putih sehingga dapat disimpulkan hal-hal inilah yang meningkatkan sistem kekebalan untuk mencegah sakit. Bahkan pada salah satu buku yang berjudul “*The AIDS Fighters*” menyebutkan bahwa *Echinacea* mungkin dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh yang menurun pada penderita AIDS.^{11,40,41}

Penelitian *invivo* menggunakan tikus *sprague-dawley* didapatkan bahwa kandungan aktif *echinacea* yang meliputi *cichroid acid*, polisakarida dan alkylamid yang diberikan dalam dosis bertingkat sebanyak 2 kali sehari selama 4 hari akan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag alveoler. Disamping itu juga didapatkan peningkatan TNF- α dan pelepasan Nitric Oxide (NO) makrofag alveoler yang dirangsang dengan Lipopolisakarida (LPS). Selain itu juga didapatkan peningkatan produksi TNF- α dan IFN- γ pada makrofag liennya.¹¹

Penelitian efek protektif *Echinacea purpurea* terhadap radiasi dievaluasi dengan mengukur subset limfosit T pada darah perifer mencit setelah mendapatkan irradiasi seluruh tubuh. *Echinacea purpurea* mengaktifasi makrofag untuk memproduksi IFN- γ yang berhubungan dengan efek sekunder aktivasi limfosit T, sehingga terjadi penurunan produksi IgG dan IgM. Sitokin yang dihasilkan makrofag darah perifer mencit yang mendapat *Echinacea purpurea* akan mengaktifasi sel T helper untuk berproliferasi. Dilaporkan juga bahwa aktivasi makrofag yang berhubungan dengan aktivasi limfosit T sekunder akan meningkatkan produksi IFN- γ dan merangsang proliferasi sel-sel T sitotoksik dan sel-sel T supresor. Peneliti berpendapat bahwa *Echinacea purpurea* lebih meningkatkan sistem imunologis subset CD⁴⁺ dan CD⁸⁺ dibanding sel-sel T helper dan sel T supresor sebagaimana hasil penelitiannya dan ini menunjukkan adanya peningkatan respon imunitas seluler.⁹

Echinacea yang diberikan selama 10 hari sesaat orang mengalami gejala *common cold* dapat mengurangi gejala-gejala simptomatis yang dialami. Dalam penelitian *double blind* terhadap 120 orang yang mendapat *echinacea* dibanding plasebo didapatkan bahwa hanya 40% yang menjadi *common cold* pada kelompok yang mendapat *echinacea*, sementara 60% yang mendapat plasebo benar-benar mengalami sakit. Yang menarik dalam penelitian ini bahwa mereka yang benar-benar menjadi sakit, perbaikan klinisnya lebih cepat pada kelompok yang mendapatkan *echinacea*.^{39,41,42}

2.7.3. Keamanan *echinacea*

Meskipun sekolah farmasi di Richmond, Virginia sudah menyatakan bahwa *echinacea* aman, namun para peneliti dalam edisi *Pharmacotherapy* pada bulan Juni 2000 menegaskan lagi bahwa *echinacea* aman untuk digunakan. Pasien-pasien tanpa kontraindikasi tidak perlu dicegah bila akan menggunakan sediaan *echinacea* untuk mengobati *common cold*.³⁹

Penelitian *RCT double blinded* tahun 1999 juga mendukung kemanjuran dan keamanan *echinacea*. Para peneliti Jerman meneliti 238 kasus *common cold*. Pasien –pasien diberi *echinacea* atau plasebo selama 7 sampai 9 hari dan ditanya beratnya gejala *common cold* menggunakan skala yang berjumlah 10. Dokter juga memeriksa pasien di hari ke-4 dan ke-8. Pasien-pasien yang menderita sakit dalam skala sedang pada awalnya menunjukkan perbaikan sebesar 55% pada kelompok yang mendapat *echinacea* dibandingkan 27% pada kelompok plasebo. Pasien yang mendapat terapi lebih awal akan menunjukkan perbaikan yang lebih cepat, pada umumnya pada hari ke-2, dilanjutkan sampai akhir pengobatan. Semua perbaikan terlihat pada 3 hari pertama pada kelompok yang mendapat *echinacea* dan tidak ada efek serius yang dilaporkan. Para peneliti menyimpulkan bahwa *echinacea* adalah mujarab dan aman digunakan. Mereka juga menggarisbawahi bahwa kegunaan terapetikanya adalah cepatnya onset penyembuhan gejala *common cold* dan perlunya

menggunakan *echinacea* sesegera mungkin bila gejala-gejala *common cold* mulai dirasakan.⁴²

Pada penelitian terhadap 206 wanita hamil yang mengkonsumsi *Echinacea* selama masa hamil dan 112 diantaranya mengkonsumsi pada trimester pertama menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap bayi-bayi yang dilahirkan dalam hal kelainan kongenital. Penelitian prospektif ini menyimpulkan bahwa *echinacea* aman digunakan pada ibu hamil dan penggunaan *echinacea* pada saat organogenesis tidak berhubungan dengan meningkatnya resiko malformasi mayor. Efek stimulasinya berubah bila digunakan berkepanjangan, seharusnya jangan digunakan secara terus-menerus selama 8 minggu. Setelah penghentian obat, bisa di mulai lagi untuk pengobatan 8 minggu berikutnya.⁴³

2.7.4. Dosis

Preparat *echinacea* terdiri dari bermacam-macam bentuk sehingga dosisnya juga bervariasi. Dosis untuk berbagai jenis sediaan tersebut adalah:

Akar kering = 0.5 – 1.0 gram diberikan 3X sehari

Tincture (1:5) = $\frac{1}{2}$ - 1 sendok teh diberikan 3X sehari

Ekstrak bubuk kering (standarisasi 3.5% echinacoside) = 300 mg diberikan 3X sehari

Ekstrak cair (1:1) = $\frac{1}{4}$ sampai $\frac{1}{2}$ sendok teh diberikan 3X sehari

Freeze dried = 1 sampai 2 kapsul atau tablet diberikan 3X sehari³⁵