

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 .Kanker Payudara

2.1.1. Etiologi dan Patogenesis

Etiologi kanker payudara sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Penyebab terjadinya kanker payudara bersifat multifaktorial yang terkait satu dengan yang lain. Beberapa faktor yang diperkirakan mempunyai pengaruh besar dalam terjadinya kanker payudara adalah riwayat keluarga (faktor genetik), hormonal dan faktor lain yang bersifat eksogen.^{13,14,17}

Proto-onkogen yang berperan pada terjadinya kanker payudara adalah C-erb-B2 (neu) yang merupakan reseptor faktor pertumbuhan, dimana oleh karena berbagai sebab yang tidak diketahui akan mengalami amplifikasi dimana pita dari suatu kromosom akan mengalami penggandaan. Bila daerah yang terganggu tersebut merupakan lokasi dari suatu proto-onkogen (misalnya C-erb B2), maka proto-onkogen tersebut akan ikut terganggu sehingga terjadi ekspresi yang berlebihan. Kanker payudara dapat terjadi bila suatu anti-onkogen yang berfungsi untuk memperbaiki suatu kerusakan DNA, karena suatu mutasi kehilangan fungsinya, maka mutasi gen lain menjadi tak dapat dicegah, termasuk mutasi pada gen-gen penyebab kanker.³²

Anti-onkogen yang berperan pada kanker payudara adalah BRCA-1 (pada kromosom 17) dan BRCA-2 (pada kromosom 13) (BRCA= *breast cancer*). Juga

pada keadaan mutasi homozigot pada gen p53, apoptosis tak dapat terjadi dan mutasi tak dapat dicegah. Dalam hal ini gen p53 dengan peran gandanya berfungsi sebagai anti-onkogen yaitu mencegah replikasi sel dengan cara menahan sel tetap berada pada fase G1 (atau G2) dan memicu apoptosis untuk mengeliminasi sel yang mengandung DNA yang rusak. Hilangnya p53 atau mutasi p53 akan menyebabkan hilangnya kendali *check point* ini, sehingga sel-sel dengan kerusakan DNA lolos masuk ke fase S dengan segala akibatnya. Autoantibodi dari p53 telah ditemukan di dalam serum penderita kanker payudara.^{12,32}

Berbagai faktor resiko berperan penting pada timbulnya kanker payudara.^{14,31,32}

1. Faktor Usia

Terjadi peningkatan dari 1:5900 menjadi 1:290 untuk terjadinya kanker payudara antara usia dekade tiga dan delapan. Wanita pada usia sekitar 60-79 tahun memiliki resiko 1:14 untuk terjadinya kanker payudara invasif dibandingkan dengan usia kurang dari 39 tahun (1:225)

2. Faktor mutasi genetik

5-10% kanker payudara berhubungan dengan faktor keturunan. Dua gen autosomal dominan, yaitu BRCA1 dan BRCA2 dihubungkan dengan terjadinya kanker payudara dalam suatu keluarga atau keturunan. Mutasi gen tersebut dalam suatu keluarga menyebabkan 60-80% resiko terkena kanker payudara.

3. Faktor Hormonal

Beberapa faktor yang berhubungan dengan estrogen endogen, seperti usia menarche, menopause, riwayat melahirkan anak pertama dan pemberian terapi pengganti hormon meningkatkan resiko kejadian 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. Pengaruh hormon ovarium terhadap perkembangan kanker payudara pada suatu penelitian setelah ablasi ovarium, didapatkan penurunan hingga 75% untuk menderita kanker payudara. Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa estrogen endogen dan androgen ditemukan lebih tinggi pada wanita yang menderita kanker payudara.

4. Faktor Lingkungan dan gaya hidup

Alkoholisme, diet tinggi lemak, perokok, perokok pasif dan riwayat radiasi ionisasi pada dada meningkatkan resiko terkena kanker payudara.

2.1.2. Klasifikasi

WHO membuat klasifikasi kanker payudara berdasarkan gambaran histologisnya baik lesi jinak maupun ganas, termasuk papiloma intraduktus, adenoma, karsinoma *in-situ* (duktus dan lobulus), karsinoma invasif (duktus dan lobulus) dan *Paget's disease of the nipple*.^{14,15}

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

2.1.3 Stadium klinik kanker payudara

Klasifikasi kanker payudara berdasarkan *International Classification of Staging* atau berdasarkan klasifikasi TNM (*Tumour, Node, Metastasis*) *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* atau *International Union Against Cancer (UICC)* ^{14,15,17,33}

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. Kemoterapi

Kemoterapi berarti menggunakan obat – obat untuk membunuh sel kanker.^{21,23} Penggunaan kemoterapi secara modern mulai diperkenalkan pada awal tahun 1940an. Kemoterapi dapat diberikan secara intravena ataupun peroral. Bagi penderita kanker, kemoterapi dapat diberikan dengan tujuan :^{20,21,23,27}

1. Terapi induksi, yaitu kemoterapi merupakan satu – satunya pilihan terapi untuk keganasan yang telah menyebar atau keganasan dimana tidak ada pilihan terapi lainnya.
2. Sebelum pembedahan, untuk mengecilkan ukuran tumor (neoadjuvan terapi)
3. Setelah pembedahan, untuk mengurangi penyebaran atau kekambuhan (adjuvan terapi).
4. Sebagai pengobatan setempat, yaitu obat kemoterapi disuntikkan langsung ke dalam tumor, misal pada kanker hati.

Kemoterapi dapat diberikan sebagai neoadjuvan ataupun adjuvan terapi pada penderita kanker payudara.^{24,25}

2.2.1. Mekanisme kerja kemoterapi

Obat – obat kemoterapi bekerja pada DNA yang merupakan komponen utama gen yang mengatur pertumbuhan dan differensiasi sel, dengan cara menghambat pembelahan dan proliferasi sel. ^{20,21} dengan tujuan meningkatkan apoptosis sel. Kebanyakan obat – obat kemoterapi mempengaruhi satu atau beberapa komponen pada siklus sel. Mekanisme kerjanya adalah sebagai berikut : ^{19,21}

1. Menghambat atau mengganggu sintesa DNA dan atau RNA dengan cara menghambat ketersediaan purin dan pirimidin.
2. Merusak replikasi DNA dengan adanya grup alkil yang tidak stabil
3. Mengganggu transkripsi DNA dengan cara ikatan langsung obat dengan DNA
4. Mencegah mitosis dengan cara mengikat tubulin dan mencegah pembentukan *spindle* mitosis.

Obat – obat kemoterapi ini ada yang bekerja secara spesifik non siklus sel dan spesifik siklus sel (fase M, S, G1, G2).^{22,23} Obat – obat kemoterapi berdasarkan cara kerja obat pada fase siklus sel dibedakan menjadi :^{20,21,27}

- a. *Alkylating Agent*, merupakan spesifik non siklus sel. Bekerja dengan cara memberikan gugus alkyl yang tidak stabil untuk berikatan dengan DNA, sehingga merusak replikasi DNA. Umumnya bekerja pada fase G1 atau mitosis namun pada dosis tinggi dapat bekerja pada G0. Termasuk dalam golongan ini adalah Cisplatin dan Cyclophosphamide.
- b. Golongan antimetabolit, bekerja secara spesifik pada fase sintesis DNA dan RNA. Termasuk dalam golongan ini adalah : fluorouracil, methotrexate.
- c. Obat kemoterapi yang membunuh sel kanker dengan cara menghalangi mitosis, secara inhibisi fungsi chromatin. Ada 2 golongan, yang pertama adalah golongan topoisomerase inhibitors, yaitu : Bleomycin, Doxorubicin. Golongan kedua adalah penghambat microtubulus, yaitu : Doxetacel, Vincristin.
- d. Sebagai antibiotika yang mengikat DNA secara ikatan kompleks, yang dikenal sebagai golongan Antracycline, yaitu : Mytociin C.

- e. Sebagai hormon (estrogen, progesterin, anti estrogen, androgen).
- f. Golongan yang belum jelas kerjanya (Nitrosurea).

Akibat penggunaan obat – obat kemoterapi ini maka akan menimbulkan kerusakan pada sel tumor maupun sel sehat. Kerusakan yang terjadi pada sel tumor merupakan tujuan penggunaan obat kemoterapi. Kerusakan yang terjadi pada sel sehat memberikan manifestasi efek samping.

2.2.2. Obat kemoterapi

Pemberian kemoterapi membutuhkan waktu yang cukup lama. Biasanya dinamakan dengan istilah siklus. Satu siklus terdiri dari masa pemberian obat, yang biasanya bervariasi antara 1 – 5 hari, yang setelah itu dilanjutkan dengan masa istirahat. Masa istirahat ditentukan berdasarkan lamanya kejadian efek samping. Efek samping yang paling ditakutkan adalah mielosupresi, akan pulih dalam waktu 21 – 28 hari paska kemoterapi. Oleh karena itu, biasanya lama interval istirahat adalah 3 – 4 minggu.²⁷ Pemberian kemoterapi dapat dilakukan sebanyak 4 – 8 siklus, sesuai dengan tujuan pemberian kemoterapi tersebut.²⁸

Kemoterapi yang diberikan biasanya merupakan suatu kombinasi. Salah satu tujuan utama pemberian kemoterapi kombinasi adalah untuk mencegah timbulnya sel kanker yang resisten.²⁰⁻²³ Sampai saat ini tidak ada kemoterapi yang dapat menghancurkan sel kanker secara tuntas atau 100%. Setiap kali obat kemoterapi diberikan, paling banyak 99,9% sel kanker yang mati. Dengan menggunakan kemoterapi kombinasi, diharapkan semakin banyak sel kanker yang dapat mati. Pemberian kemoterapi kombinasi akan menyebabkan bertambahnya kejadian dan kualitas efek samping.

Kemoterapi kombinasi yang biasa digunakan untuk keganasan payudara adalah .^{20,28}

1. CMF (cyclofosfamide, methotrexate dan 5 – FU)
2. FEC (Epirubicin, cyclofosfamide dan 5 – FU)
3. E-CMF (Epirubicin, yang digabung dengan CMF)
4. AC (doxorubicin (adriamycin), Cyclofosfamide)
5. MMM (methotrexate, mitozantrone, mitomycin)
6. MM (methotrexate dan mitozantrone)

Regimen kombinasi kemoterapi yang digunakan di bagian Bedah Onkologi RSUP dr. Kariadi Semarang adalah CAF / CEF (Cyclofosfamide, Adryamicin / Epirubicin, Flurouracil) sebagai terapi lini pertama.

2.2.3. Respon kemoterapi

WHO membedakan respon kemoterapi menjadi :²⁸

- a. *Complete Remission* (CR) : tumor menghilang, yang ditentukan melalui dua penilaian dengan selang waktu yang tidak kurang dari 4 minggu.
- b. *Partial Remission* (PR): ukuran tumor berkurang $\geq 50\%$, yang ditentukan melalui 2 penilaian dengan selang waktu yang tidak kurang dari 4 minggu, dan tidak ada pertumbuhan tumor baru atau peningkatan lesi yang telah ada.
- c. *No Change* (NC) : ukuran tumor berkurang $< 50 \%$ atau ada pertumbuhan sebanyak 25 %.
- d. *Progression* (P) : ukuran tumor bertambah besar $> 25 \%$ atau ada pertumbuhan tumor baru.

2.3. Peranan sistem imun terhadap sel kanker

2.3.1. *Immunosurveillance* kanker

Immunosurveillance adalah mekanisme yang terjadi didalam tubuh sebagai reaksi untuk melawan setiap antigen yang diekspresikan oleh neoplasma. Fungsi utama sistem imun adalah untuk mengenal dan mendegradasi antigen asing (nonself) yang timbul dalam tubuh. Dalam *immunosurveillance*, sel mutan dianggap akan mengekspresikan satu atau lebih antigen yang dapat dikenal sebagai *nonself*. Sel mutan sering timbul dalam tubuh manusia dan secara cepat dihancurkan oleh mekanisme imunologis. Sel NK, limfosit T sitotoksik dan makrofag paling berperan dalam *immunosurveillance* tumor.^{10,34,35}

2.3.2. *Immunological escape*

Immunological escape adalah suatu keadaan dimana sel kanker luput dari *immunosurveillance*. Hal ini terjadi bila faktor-faktor yang menunjang pertumbuhan tumor lebih berpengaruh daripada faktor-faktor yang menekan tumor, yaitu :³⁵

1) Tidak adanya antigen yang sesuai

Antigen baru mungkin tidak disintesis oleh semua tumor, mungkin tidak diekspresikan pada semua permukaan sel atau tidak dipresentasikan dalam bentuk yang sesuai sehingga respon imun gagal mengenal antigen tersebut.

2) Kinetik tumor (*sneaking through*)

Pemberian sel tumor dalam dosis kecil pada binatang yang diimunisasi akan menyebabkan tumor tersebut dapat menyelinap (*sneak through*) yang tidak diketahui tubuh dan baru diketahui bila tumor sudah berkembang lanjut dan di

luar kemampuan sistem imun untuk menghancurkannya. Mekanisme terjadinya tidak diketahui tapi diduga berhubungan dengan vaskularisasi neoplasma tersebut.

3) Modulasi antigenik

Antibodi dapat mengubah atau memodulasi permukaan sel tanpa menghilangkan determinan permukaan.

4) *Masking antigen*

Molekul tertentu, seperti sialomucin, yang sering diikat permukaan sel tumor dapat menutupi antigen dan mencegah ikatan dengan limfosit.

5) *Shedding antigen/pelepasan antigen*

Antigen tumor yang dilepas dan larut dalam sirkulasi, dapat mengganggu fungsi sel T dengan mengambil tempat pada reseptor antigen. Hal itu dapat pula terjadi dengan kompleks imun antigen antibodi.

6) Toleransi

sel ganas payudara pada tikus disekresi dalam air susunya, tetapi bayi tikus yang disusuiinya toleran terhadap tumor tersebut.

7) Limfosit yang terperangkap

Limfosit spesifik terhadap tumor dapat terperangkap didalam kelenjar limfe. Antigen tumor yang terkumpul dalam kelenjar limfe yang letaknya berdekatan dengan lokasi tumor, dapat menjadi toleran terhadap limfosit setempat, tetapi tidak terhadap limfosit kelenjar limfe yang letaknya jauh dari tumor.

8) Produk tumor

Prostaglandin yang dihasilkan tumor sendiri dapat mengganggu fungsi sel NK dan sel K. Faktor humoral lain dapat mengganggu respon inflamasi, kemotaksis, aktivasi komplemen secara nonspesifik dan menambah kebutuhan darah yang diperlukan tumor pada

9) Faktor pertumbuhan

Respons sel T bergantung pada interleukin. Gangguan makrofag untuk memproduksi IL-1, kurangnya kerjasama di antara subset-subset sel T dan produksi IL-2 yang menurun akan mengurangi respon imun terhadap tumor.

10) Vaskularisasi

Tumor mungkin mencapai diameter 1-2 mm sebelum terbentuk vaskularisasi. Pertumbuhan vaskuler merupakan pertumbuhan sel pejamu sendiri, sehingga endotel tumor dikenal sebagai self dan tidak ditolak, sehingga pada beberapa keganasan terus berproliferasi dengan antigen tersembunyi dibalik endotel vaskuler.

2.3.3. Respon Imun Seluler dan Humoral 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.^{10,36} Limfosit T 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. Limfosit T-helper (Th) dan T-supresor (Ts) mempengaruhi produksi imunoglobulin oleh limfosit B. Setelah limfosit B berkontak dengan antigen kemudian berproliferasi, sebagian berdiferensiasi menjadi sel plasma yang berfungsi mensintesis serta mensekresi imunoglobulin, dan sebagian lagi menjadi limfosit B memori.³⁷

Induksi limfosit T dalam respon imun hampir selalu bersifat makrofag - dependent. Makrofag berfungsi untuk memproses imunogen dan menyajikannya ke limfosit T spesifik (immune-T cells).³⁷

Respon Imun pada dasarnya terdiri dari tiga fase :¹⁰

a. Fase Kognitif

Dimulai dengan 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.

b. Fase Aktivasi

Fase ini limfosit terinduksi sebagai konsekuensi dari pengenalan terhadap imunogen spesifik. Limfosit mengalami dua perubahan utama. Pertama, limfosit spesifik berproliferasi sehingga jumlahnya bertambah. Kedua, limfosit berdiferensiasi menjadi sel yang berfungsi mengeliminasi imunogen asing. 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 respon terhadap IL-2 tersebut. Limfosit T helper juga menghasilkan interleukin lain yang dapat menginduksi berbagai sel lain seperti limfosit B, makrofag, prekursor limfosit T sitotoksik, dan sel endothelial.

c. Fase Efektor

Fase ini imunogen tidak lagi berperan kecuali sebagai suatu target untuk dihancurkan oleh limfosit..

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.^{10,11} Hubungan antara banyaknya limfosit yang ditemukan diantara kelompok sel kanker secara histopatologi dengan prognosis penderita telah ditunjukkan pada kanker leher rahim.³⁸

Sel imun yang berada disekitar sel kanker yang berperan dalam perondaan imun 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.¹⁰⁻¹² Setelah mengenal sel tumor dengan caranya masing-masing, makrofag akan melakukan fagositosis, sedangkan sel CTL dan sel NK melepas granula azurofilik, yang mengandung perforin, sitotoksin, serine esterase (granzyme) dan proteoglikan.^{10,11} Perforin akan menimbulkan lubang pada membran sel target (sel tumor). Lubang tersebut

merupakan pintu masuk bagi molekul sitotoksik lainnya untuk masuk ke dalam sitoplasma dan inti sel.³⁹

Proses antigen tumor *in vivo* akan melibatkan baik respon imun humoral maupun seluler. Sampai saat ini belum ada bukti antibodi secara sendirian dapat menghambat pertumbuhan sel tumor. Dengan demikian respon imun humoral dalam bentuk antibodi terhadap tumor selalu memerlukan bantuan efektor imun seluler.¹⁰⁻¹²

Komponen efektor pada sistem imun yang memiliki kemampuan bereaksi dengan sel tumor ialah limfosit T, *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC), sel NK dan makrofag.^{10,12}

1. 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), mengaktifasi 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 mengaktifasi 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).^{10,12} Konsep ini diaplikasikan dalam

pengobatan tumor menggunakan TIL(*Tumor-infiltrating Lymphocytes*), yaitu sel-sel mononuklear yang berinfiltrasi menuju ke sekitar jaringan tumor padat karena adanya reaksi inflamasi, sel tersebut diperbanyak secara kultur in vitro dengan penambahan IL-2.¹⁰

2. Antibodi yang diproduksi limfosit B berperan dalam sitotoksitas sel tumor

Limfosit B selain berperan 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. Oleh karena itu, limfosit B juga berperan sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC).¹⁰ Antibodi yang dihasilkan limfosit B dapat menghancurkan sel tumor secara langsung atau dengan bantuan komplemen, atau melalui sel efektor ADCC yang memiliki reseptor Fc misalnya sel NK dan makrofag (opsonisasi) atau dengan jalan mencegah adhesi sel tumor.

Antibodi diduga lebih berperan terhadap sel yang bebas (leukemia, metastase tumor) dibanding terhadap tumor yang padat, mungkin dengan membentuk kompleks imun dan dengan demikian mencegah sitotoksitas sel T.¹⁰

3. Sel Natural Killer sebagai efektor anti tumor

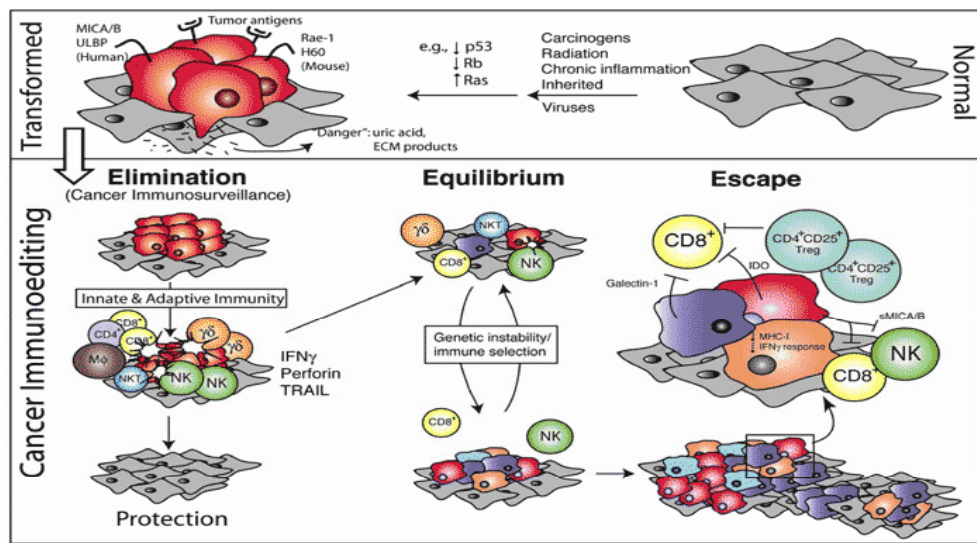
Sel NK merupakan komponen utama dari perondaan imun, yang dapat bekerja sebagai sel efektor dari imunitas natural maupun spesifik / adaptif. Mekanisme efektor sel NK mirip dengan sel T-sitotoksik (CD8), yang membedakannya adalah bahwa sel NK melakukan sitotoksitas terhadap sel tumor tanpa melalui ekspresi 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 Fc γ RIII 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.^{10,40}

4. Peran makrofag dalam respon antitumor.

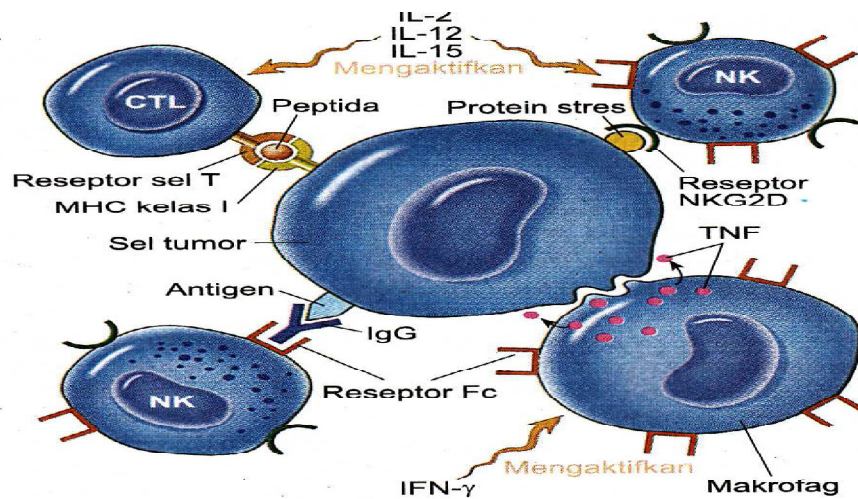
Makrofag selain berperan sebagai APC dalam mengolah dan mempresentasikan antigen tumor kepada sel Th, juga bertindak langsung sebagai efektor dengan melisis sel tumor.^{10,37} Makrofag yang berperan dalam mekanisme tersebut adalah makrofag aktif yaitu makrofag yang telah diaktifasi oleh MAF, suatu sitokin yang dihasilkan limfosit T yang distimulasi antigen. Makrofag yang tidak aktif tidak memiliki kemampuan melisis sel tumor.^{10,37} 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 yang dikenal dengan *Tumor Necrosis Factor* (TNF),

TNF mampu melisis sel tumor melalui cara TNF berikatan dengan reseptor permukaan dari sel tumor dan secara langsung melisis sel tumor dan TNF dapat menyebabkan nekrosis dari sel tumor dengan cara memobilisasi berbagai respon imun tubuh.^{10,37}



Gambar 1. Respon imun terhadap sel kanker.¹²

(Diambil dari : Contran RS, Kumar V, Robbins SL, Robin)¹²



Gambar 2. Peran makrofag, sel NK, CTL terhadap sel target¹²

(Diambil dari : Contran RS, Kumar V, Robbins SL, Robin)¹²

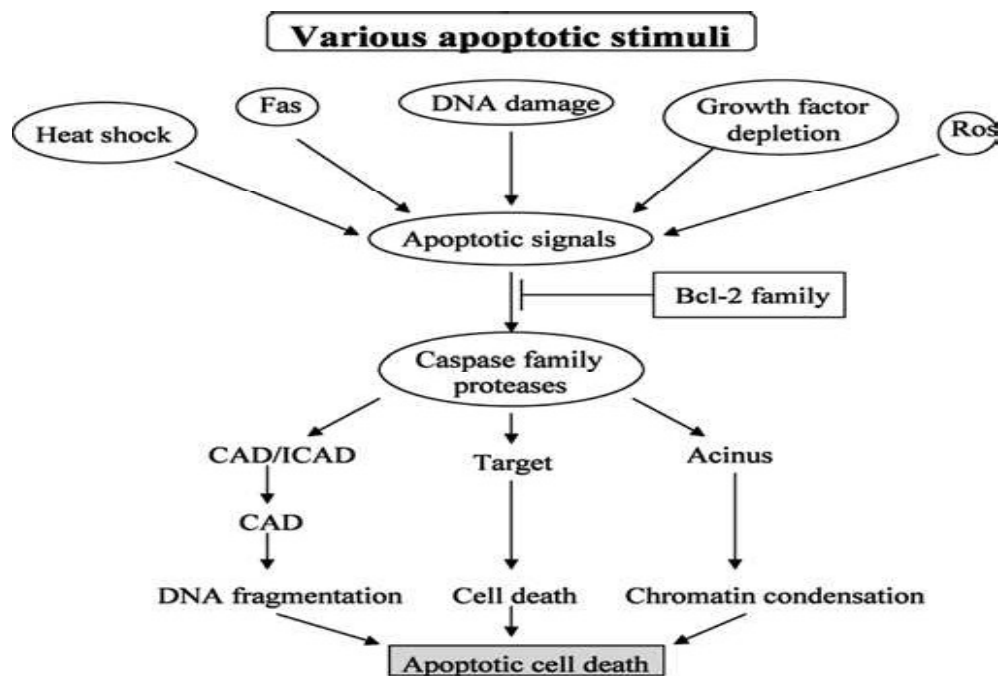
2.4. Apoptosis

Apoptosis adalah suatu kematian sel yang terprogram atau *programmed cell death*. Sekali terjadi aktivasi akan menyebabkan reaksi enzymatic intraseluler. Enzyme, protein, dan DNA akan terurai, dan tidak ada komponen intraseluler yang terdispersi ke ekstraseluler. Sel mengalami apoptosis akan mengeluarkan signal ke ekstraseluler berupa phosfolipid pada membran selnya yang dapat dikenali oleh sel-sel imun, terutama makrofag.⁴⁰⁻⁴²

Ada banyak stimulasi yang dapat menginduksi apoptosis. Stimulasi utama adalah agen kemoterapi, ultraviolet/radiasi, panas, ketidakseimbangan osmotik, dan *Nitric Oxide*. Menurut jenis pemicu dan tipe selnya, ada banyak jalur signal untuk mengaktifasi apoptosis, tapi 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.^{10,42}

Kerusakan DNA dipicu oleh *enzyme caspase* yang mengaktifkan DNase sehingga terjadi kerusakan DNA selama apoptosis. *Caspase* merupakan suatu molekul protein dengan berat 10 dan 20 kd, berupa protease cystein, ada 12 jenis *caspase*. Protein target dari *caspase* adalah DNA *repair system*. *Caspase* 8 dan 10 dapat diaktifkan oleh granzyme maupun oleh suatu katalisator protease yaitu FLICE (FADD-LIKE IL-1 Converting Enzyme) yang berikatan oleh *Fas Associated Death Domain* (FADD), pada reseptor CD95/Fas setelah kontak dengan Fas ligand. Fas ligand ini bisa berasal dari ekspresi protein antigen dari CTL, sitokin TNF, ataupun metabolit ligand pada Fas.^{10,42,43}

Secara mikroskopik apoptosis dapat diketahui dengan pengecatan HE, dengan melihat *apoptotic bodies* yang ada. *Apoptotic bodies* secara mikroskopik akan tampak sebagai sel tunggal bulat dengan gambaran kromatin yang terkondensasi berwarna basofilik, kadang gambaran kromatin yang terlihat pecah-pecah, dengan sitoplasma yang eosinofilik. Sering terlihat *apoptotic bodies* terpisah dari sel-sel di sekitarnya yang intak dengan gambaran halo yang jelas.^{10,42}



Gambar 3. Proses apoptosis¹⁰

2.5. VITAMIN C

2.5.1. Latar belakang

Vitamin C (L-ascorbic acid, L-xyloascorbic acid, 3-oxo-L-gulofuranolactone, L-3-ketothreohexuronic acid lactone, vitamin antiscorbut) adalah molekul dengan 6 karbon laktone yang berasal dari glukosa dan disintesis di

dalam hepar.^{44,45} Golongan mamalia dapat memproduksi sendiri vitamin C, tapi manusia tidak mampu, karena tidak memiliki enzim gulonolaktone oksidase.⁴⁴⁻⁴⁶ Untuk memenuhi kebutuhan akan vitamin C maka manusia harus mendapat asupan vitamin C dari makanannya.^{44,45}

Vitamin C pertama kali diisolasi dari buah lemon pada tahun 1932.⁴⁴ Selain itu, vitamin C juga terdapat dalam berbagai buah dan sayuran, terutama dalam keadaan segar. Vitamin C bersifat larut dalam air dan termasuk vitamin yang tidak stabil, karena mudah mengalami oksidasi karena oksigen, basa dan suhu tinggi.⁴⁵ Perlakuan saat memasak makanan dapat merusak kandungan vitamin C dalam material makanan. Memasak makanan dengan cara merebus sangat dianjurkan untuk mempertahankan kadar vitamin C dalam material makanan.^{44,45}

2.5.2. Farmakologi

Bioavailabilitas vitamin C dalam tubuh manusia, diatur oleh 3 mekanisme, yaitu mekanisme pengangkutan di jaringan, mekanisme absorpsi dan mekanisme ekskresi.⁴⁶⁻⁴⁸ Absorpsi vitamin C diatur oleh mekanisme yang tergantung pada dosis. Proses pengangkutan vitamin C ke dalam sel diatur oleh 2 mekanisme. Asam askorbat diangkut oleh *Sodium Vitamin C Transporter* (SVCT), sedangkan asam dehidroaskorbat diangkut oleh *Glukosa Transporter* (GLUT). Proses ekskresi ditentukan oleh mekanisme kerja ginjal untuk membuang askorbat yang tidak diabsorpsi.⁴⁹

Berdasarkan 3 mekanisme itu, Levine dkk⁴⁵ berkesimpulan bahwa bila diberikan per oral pada individu yang sehat, asam askorbat akan diabsorpsi

dengan baik pada dosis rendah, dan absorpsi akan berkurang bila dosis dinaikkan. Nilai tengah absorpsi pada dosis oral adalah sebanyak 87% untuk dosis 30 mg, 80% untuk dosis 100 mg, 72% untuk dosis 200 mg, 63% untuk dosis 500 mg, dan kurang dari 50% untuk dosis 1250 mg.

Asam askorbat akan diekskresikan melalui urine pada dosis lebih dari 100 mg per hari. Pada dosis 100 mg per hari maka kadar vitamin C dalam limfosit, monosit dan netrofil akan mencapai jenuh, sedangkan kadar vitamin C dalam plasma hanya mencapai 60 $\mu\text{mol/L}$. Penambahan dosis akan meningkatkan kadar vitamin C dalam plasma, tapi tidak merubah saturasi dalam sel darah putih. Kadar vitamin C dalam plasma akan mencapai maksimal sebesar 80 $\mu\text{mol/L}$ bila diberikan dosis oral 400 mg per hari. Bila mengkonsumsi lebih dari 500 mg / hari, maka absorpsi akan berkurang dan ekskresi urine akan meningkat. Ekskresi oksalat dan urat melalui urine akan meningkat bila mengkonsumsi 1000 mg / hari.

Oleh karena itu, Levine merekomendasikan untuk mengkonsumsi rata – rata 200 mg per hari pada orang sehat. Selain itu, Levine juga menyatakan bahwa konsumsi lebih dari 400 mg per hari pada individu sehat tidak memiliki manfaat. Sebaliknya, belum ada penelitian yang meneliti mengenai kebutuhan vitamin C pada individu yang sakit, terutama pada penderita keganasan payudara.

Bila asam askorbat diberikan secara intravena, mekanisme absorpsi yang terbatas menjadi tidak ada dan berakibat tingginya kadar dalam plasma. Pemberian 1,25 gr intravena, menyebabkan kadar plasma sebesar 1000 $\mu\text{mol/L}$, bila diberikan 5 – 10 gr intravena, kadar plasma mencapai 5000 $\mu\text{mol/L}$.^{20,46,47}

2.5.3. Mekanisme vitamin C pada pengobatan kanker

Manfaat vitamin C untuk pengobatan kanker pertama kali ditemukan oleh McMormick tahun 1959.²¹ Tahun 1970an, Linus Pauling, Cameron dan Campbell menggunakan vitamin C dosis tinggi intravena untuk mengobati pasien kanker stadium terminal, ternyata bermanfaat dan meningkatkan rata – rata kemampuan bertahan hidup (*survival rate*).²¹ Khaw, 2001, menyatakan bahwa vitamin C dapat digunakan sebagai suplemen untuk mencegah oksidatif stress yang diperantarai oleh penyakit kronis seperti proses keganasan.²² Padayatti, 2006, melaporkan manfaat vitamin C dosis tinggi intravena yang diberikan kepada 3 pasien kanker stadium lanjut, ternyata memberi kemampuan bertahan hidup yang lebih baik.²³ Vitamin C berperan dalam menghambat pertumbuhan sel tumor secara :

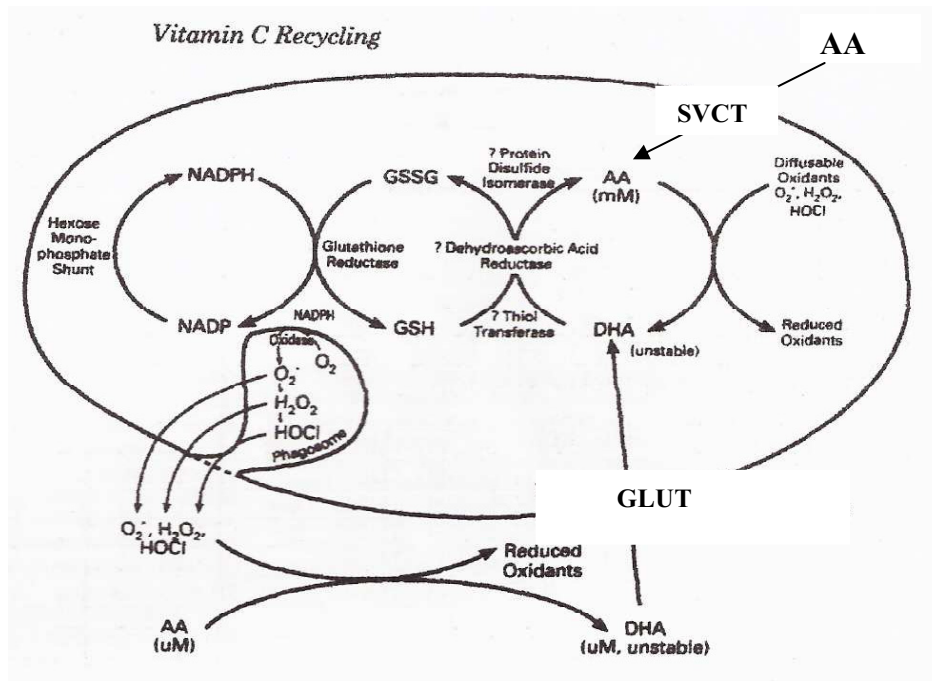
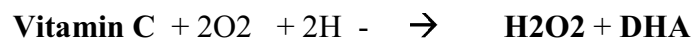
1. Sebagai pro-drug H₂O₂

Qi Chen²⁴ dalam penelitian *in vitro* untuk melihat aktivitas anti tumor vitamin C terhadap sel limfoma, mendapati bahwa konsentrasi askorbat dalam plasma sebesar 2 mM akan menyebabkan kematian sel limfoma sebanyak hampir 100%. Bila kadar askorbat dinaikkan, maka pola kematian berubah dari apoptosis menjadi piknosis atau nekrosis. Kematian ini, ternyata hanya terjadi pada sel limfoma saja, sedangkan sel normal tidak terjadi kematian. Piknosis atau nekrosis merupakan proses kematian sel yang diperantarai oleh H₂O₂. Kadar askorbat plasma sebesar 2 mM sangat mudah dicapai secara intravena.

Vitamin C di dalam darah teroksidasi menjadi asam dehidroaskorbat, yang akan melewati membran sel melalui transport glukosa. Ketika asam dehidroaskorbat masuk kedalam sel kanker, glutathion akan mereduksi asam

dehidroaskorbat kembali menjadi asam askorbat / vitamin C, yang tak dapat keluar dari sel kanker. Selanjutnya asam askorbat ini akan mengalami oksidasi lagi menjadi asam dehidroaskorbat dan akan menghasilkan H₂O₂.⁴⁷ H₂O₂ inilah yang selanjutnya akan berperan memicu kerusakan sel kanker secara selektif.²⁴ Proses siklus vitamin C dalam plasma darah dapat dilihat pada Gambar.4.

Reaksi kimia vitamin C: ³⁰



Gambar 4. Mekanisme Transport Vitamin C

Dikutip dari : Washko PW, Wang Y, Levine M. Ascorbic acid recycling in human neutrophils. J Biol Chem 268:15531-5, 1993

2. Berperan sebagai imunostimulator.

Tingginya kadar vitamin C dalam plasma, akan meningkatkan aktivitas limfosit dalam fagositosis; meningkatkan jumlah IgA, IgG, IgM; meningkatkan sintesis komplemen; sintesis interferon; dan sintesis prostaglandin PGE1.^{21,28-30} Penelitian Yonemoto pada National Cancer Institute, mendapatkan bahwa vitamin C dengan dosis 5 gram akan meningkatkan kemampuan produksi limfosit sebanyak 2 kali lipat, dan vitamin C 10 gram akan meningkatkan produksi sebanyak 3 kali lipat. Selain itu, juga didapatkan bahwa vitamin C akan meningkatkan kecepatan mobilisasi limfosit ke tempat infeksi dan melakukan aktivitas fagositosis secara lebih efektif. Vallance, mendapatkan bahwa jumlah IgG dan IgM akan meningkat bila konsumsi vitamin C juga meningkat. Prinz mendapatkan bahwa konsumsi vitamin C sebanyak 1 gram per hari akan meningkatkan kadar IgA, IgG dan IgM.²¹

3. Berperan dalam sintesis kolagen.

Untuk dapat melakukan infiltrasi dan merusak jaringan normal disekitarnya, sel kanker akan melepaskan enzim kolagenase. Enzim ini akan melarutkan membrana basalis, suatu organisasi kolagen dan matriks ekstraselular. Peningkatan sintesis kolagen akan meningkatkan integritas membran secara mekanis dan mencegah pertumbuhan sel kanker serta memicu terjadinya apoptosis dan nekrosis pada sel kanker.^{20,21,50}

4. Vitamin C dapat menurunkan kadar beberapa asam amino seperti lisin dan sistein yang diperlukan untuk berkembangnya sel tumor secara cepat.^{21,51}

2.5.4. Dosis

Rekomendasi kebutuhan harian minimal vitamin C pada wanita Indonesia dewasa sehat usia lebih dari 30 tahun adalah sebanyak 75 mg / hari.⁵² Sedangkan kebutuhan pada penderita keganasan payudara belum didapatkan data. Diketahui bahwa pada penderita keganasan payudara, terjadi perubahan status gizi akibat asupan diet nutrisi yang tidak adekuat karena :⁵³⁻⁵⁵

1. adanya perubahan terhadap rasa, yaitu setiap makanan terasa hambar (*taste alteration*).
2. Adanya ketidaksukaan pada makanan tertentu (*food aversion*).
3. adanya rasa cepat kenyang segera setelah makan (*early satiety*).
4. Pertumbuhan sel tumor menyebabkan terjadinya perubahan metabolisme terhadap nutrien dan vitamin.
5. Penggunaan obat kemoterapi yang mengakibatkan terjadinya : mual, muntah, diare, konstipasi, sariawan, nyeri saat menelan, yang menyebabkan asupan diet berkurang.

Untuk pengobatan penyakit keganasan, beberapa penelitian yang ada menggunakan vitamin C dosis tinggi secara intravena. Cameron menggunakan vitamin C dengan dosis 10 gr per hari sampai menjelang meninggalnya pasien, yang diberikan intravena pada penderita penyakit keganasan stadium terminal, dan terbukti memperpanjang kemampuan hidup penderita.²¹ Padayatti memberikan vitamin C 10 gr intravena yang diberikan kepada 3 pasien kanker stadium lanjut, ternyata memberi kemampuan bertahan hidup yang lebih baik²³ Yeom dkk²⁰, memberikan vitamin C injeksi intravena dosis tinggi (10 gr dua kali

sehari dengan interval 3 hari) yang dikombinasikan dengan vitamin C oral sebanyak 4 gr sekali sehari selama 1 minggu, mendapatkan adanya perbaikan kualitas hidup berdasarkan EORTC QLQ-C30 pada berbagai penyakit keganasan stadium terminal.

2.5.5. Efek samping vitamin C

Vitamin C dosis tinggi dapat mempengaruhi beberapa pemeriksaan laboratorium seperti kadar glukosa, asam urat, kreatinin dan fosfat anorganik serta mempengaruhi pemeriksaan darah samar pada feses,^{44,45} selain itu juga dapat mempengaruhi absorpsi antikoagulan, besi, vitamin B12 dan vitamin E.⁴⁵ Levine menyimpulkan bahwa vitamin C memiliki toksisitas minimal,⁴⁸ meskipun dikonsumsi dalam dosis tinggi (10.000 – 20.000 mg/hari) untuk jangka waktu yang lama.²¹ Efek samping sangat jarang terjadi, namun dapat berupa mual, diare, batu ginjal.⁴⁴