

BAB 2

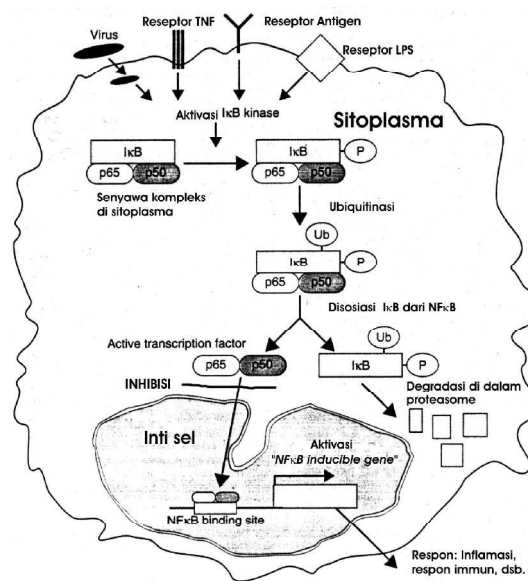
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Phaleria macrocarpa*

Phaleria macrocarpa dalam istilah Indonesia disebut Mahkota Dewa termasuk dalam familia Thymelaeaceae. Kajian pustaka yang telah ada menyebutkan bahwa genus phaleria umumnya memiliki aktifitas antimikroba, hal ini berkaitan dengan toksisitas tanaman yang cukup tinggi untuk pertahanan diri. Adanya aktifitas antimikroba ini berhubungan dengan potensi antikanker terhadap sel pada siklus tertentu⁸.

Ekstrak terhadap daging buah dan kulit biji *Phaleria macrocarpa* menunjukkan adanya zat aktif polyphenol, alkaloid, terpenoid, dan saponin^{8,9}. Pengujian dengan larva udang *Artemia salina* Leach memberikan hasil LC50 berkisar antara 0,1615 – 11,8351 µg/ml. Pengujian dengan sel Leukimia L1210. Dari hasil pengujian ekstrak, diketahui IC50nya sangat rendah yaitu <10 µg/ml (4,99 – 7,71 µg/ml), dengan batas IC50 suatu ekstrak tanaman untuk dapat dinyatakan berpotensi sebagai suatu antikanker adalah 10 µg/ml⁸.

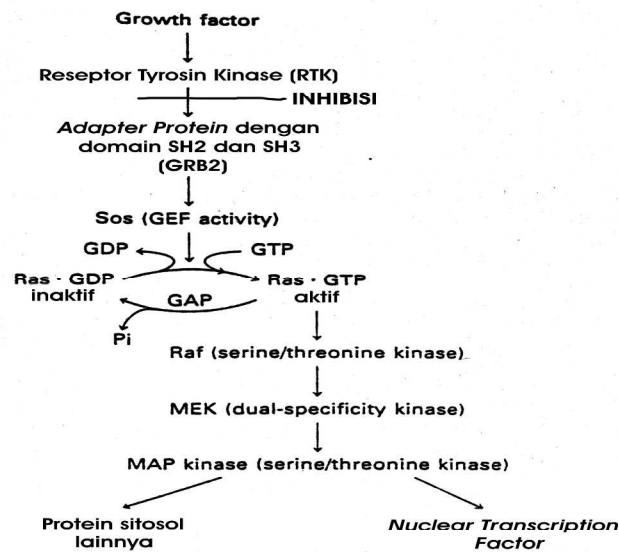
Polyphenol dalam Herbal medicine dilaporkan mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivasi *Nuclear Factor Kappa B* (NF-κB), suatu *transcription factor* yang berperan penting dalam regulasi molekul pembentukan sitokin.^{13,15}. (Gambar 1). Pada penelitian yang dilakukan Tazulakhova dari Moscow, dilaporkan bahwa poliphenol alamiah dapat menstimulasi produksi Interferon-γ (IFN-γ) dalam suatu populasi immunosit¹¹.



Gambar-1. Aktifitas seluler pada sintesa Nuclear Factor kappa-B (NF-κB)¹².

Senyawa polyphenol yang terkandung dalam herbal medicine akan juga mempunyai efek memblok reseptor *growth factor*, dan menghambat *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal *Receptor Tirosin Kinase* (RTKs)^{13,15,16}. (gambar-2)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Hiroko Deguchi dkk, menyimpulkan bahwa senyawa polyphenol yang terkandung dalam herbal medicine (teh hijau) mempunyai efek inhibisi pertumbuhan pada sel kanker payudara (sel T47D). Mekanisme inhibisi pertumbuhan tersebut terutama pada MAPK¹³, di mana MAPK akan mem-fosporilasi berbagai protein termasuk *transcription factor* yang dibutuhkan pada sintesa protein dalam differensiasi dan siklus sel¹⁵.



Gambar-2. Flowchart jalur sinyal RTK-Ras-MAPK, pada *receptor tyrosine kinase*¹⁴.

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 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.^{12, 17, 18, 19}

Induksi limfosit T dalam respon imun hampir selalu bersifat makrofag “dependent”. Makrofag berfungsi untuk memproses *imunogen* dan menyajikannya – sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC) – ke limfosit T spesifik (*immune T cells*). Pada penelitian *in vitro* dapat terjadi ikatan limfosit T dengan makrofag. Ikatan limfosit T dengan makrofag sangat dipengaruhi oleh *imunogen*.^{12, 17,18, 19,20}

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

Tabel-1. Tumor antigen yang menstimulasi respon sel-T¹².

Kategori	Contoh
Produk Onkogen	P11^{ras} protein (10% karsinoma pada manusia) P110 (chronic myelogenous leukemia) HER-2/neu , merupakan over ekspresi dari gen normal (berbagai karsinoma)
Produk dari gen tumor-supressor yang mengalami mutasi	p53 (\approx 50% tumor-tumor pada manusia)
Produk dari gen virus yang berkaitan dengan keganasan	SV40T antigen HPV 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.^{12,18,19,20,21.}

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 asing¹². 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 tersebut²⁰. 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^{12,18,19,20,21}.

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.¹ Pada fase Efektor, imunogen tidak lagi berperan kecuali sebagai suatu target untuk dihancurkan^{12,16,19,20}.

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^{12,16,17}.

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^{12,18,19,20,21}.

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 disekelilingnya¹⁷. Hubungan antara banyaknya limfosit yang ditemukan diantara kelompok sel kanker secara histologi dengan prognosis penderita telah ditunjukkan pada kanker leher rahim¹⁷.

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^{12,16,18,19-22}.

Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan perforin, sedangkan makrofag menggunakan cara fagositosis^{12,16,17}. 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^{12,16,20}.

Komponen efektor pada sistem imun yang memiliki kemampuan bereaksi dengan sel tumor ialah limfosit T, *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC), sel NK dan makrofag^{12,16,17,19,23}

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 APC dalam mengolah dan mempresentasikan antigen tumor kepada sel *T helper*, maupun bertindak langsung sebagai efektor dengan melisiskan sel tumor^{12,19}.

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 tumor¹².

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^{12,16,17,19,23,24}.

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

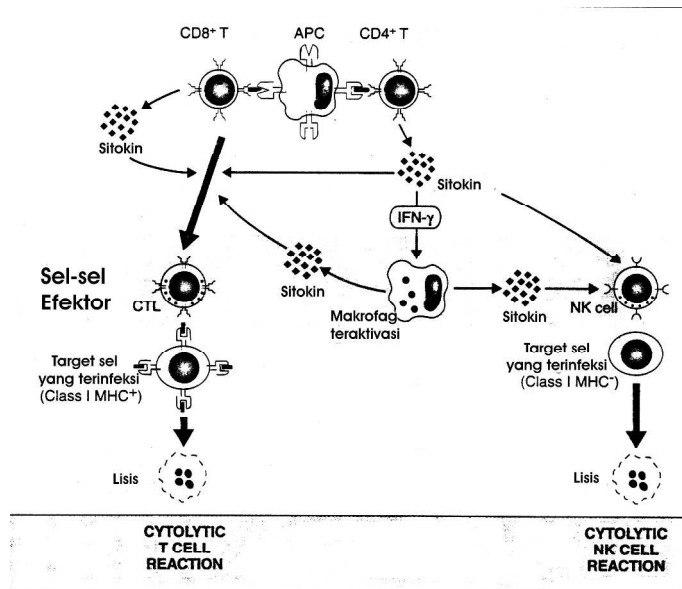
dapat menghancurkan sel tumor secara langsung atau dengan bantuan komplemen, atau melalui sel Efektor ADCC yang memiliki reseptor Fc misalnya sel K dan makrofag (opsonisasi) atau dengan jalan mencegah adhesi sel tumor. Pada penderita kanker sering ditemukan kompleks imun, tetapi pada kebanyakan kanker 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^{12,16,17,19,23}.

2.3.3. Limfosit T sebagai efektor anti tumor

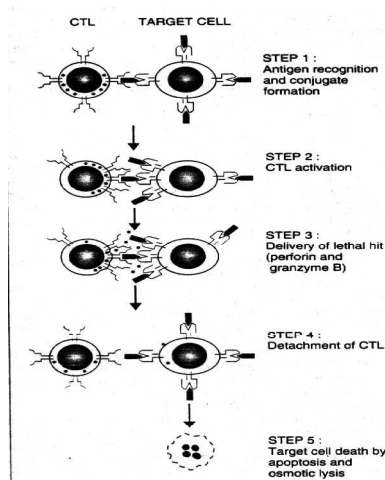
Subpopulasi limfosit T, limfosit *T-helper* dan T- sitotoksik sama-sama berperan dalam mengeliminasi antigen tumor. Sel yang mengandung antigen tumor akan mengekspresikan antigennya bersama molekul MHC kelas I yang kemudian membentuk kompleks melalui TCR (*T-cell Receptor*) dari sel T-sitotoksik (CD8), 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)^{12,16,17,19,23}.

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. Walaupun respon CTL mungkin tidak efektif untuk menghancurkan tumor, peningkatan respon CTL merupakan cara pendekatan terapi antitumor yang menjanjikan dimasa mendatang. 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⁺ 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 (Gambar-3). Sebagian kecil tumor yang mengekspresikan MHC kelas II dapat mengaktivasi 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 tersebut¹². Proses

sitolitik CTLs terhadap sel target dengan mengaktifkan penggunaan enzim Perforin dan Granzym, ada beberapa langkah proses sitolitik CTLs terhadap sel target^{12,16,17,19,23}. (Gambar – 4)



Gambar 3. Reaksi immune *T-Cell mediated*¹².



Gambar-4. Tahapan sitolitik sel target oleh CTLs¹².

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 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 sel mononuklear perifer yang dikultur secara *in vitro* dengan penambahan IL-2 dosis tinggi^{12,16, 19,23,24}.

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^{12,16,19,23}.

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 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 IgG¹². 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^{12,16,19,23,24}.

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^{12,16,24}.

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 tersebut¹². 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 sasaran¹². Sel NK mungkin berperan dalam *immune surveillance* terhadap tumor yang sedang tumbuh, khususnya tumor yang mengekspresikan antigen virus¹². 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^{12,19,24,25}. (Gambar-5).

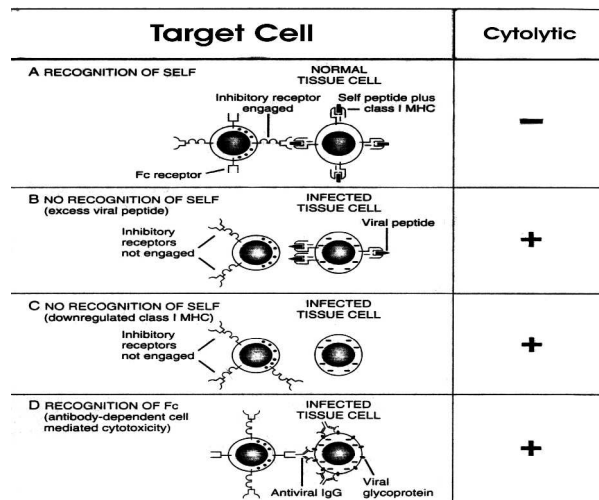
Yang menarik adalah peran sel NK yang diaktifkan dengan stimulasi IL-2 dalam membunuh sel tumor. Sel-sel itu yang disebut *lymphokine activated killer cells* (LAK cells) dapat diperoleh *in vitro* dengan memberikan IL-2 dosis tinggi pada biakan sel-sel limfosit darah perifer atau sel-sel *Tumor Infiltrating 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^{12,23,24}.

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 diaktivasi dengan cyclophosphamide (cy) menunjukkan bahwa sel-sel itu gagal mencegah metastasis^{12,19}.

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 (*eksositosi*)^{12,19,26}. Granula CTL dan sel NK mengandung *perforin*, *sitotoksin*, *serine esterase (granzyme)* dan *proteoglikan*¹². 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^{8,12,15,24,27,28}.

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)^{11,15,19,20,29} secara bersama-sama jalur granula (*eksositosi* dan FASL). Granzym akan mengaktifkan procaspase endogen pada sel target. Aktifitas *caspace* merupakan bagian dari jalur kematian *apoptotic* pada umumnya. *Inhibitor caspace* akan menghambat *apoptosis* dari jalur rusaknya nucleus; tetapi tidak menghambat apoptosis karena kerusakan yang bukan dari kerusakan inti tetapi hilangnya mitokondria potensial^{12,15,25,30}.



Gambar-5. Pengenalan sel target oleh sel-NK¹².

2.4. 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.³¹

Ada banyak stimulasi yang dapat menginduksi apoptosis. Stimulasi utama adalah agent kemoterapi, ultraviolet/radiasi, panas, *osmotic imbalance*, dan *Nitric Oxide*. Menurut jenis trigger dan tipe selnya, ada banyak jalur signal untuk mengaktifasi apoptosis (Gambar-7). 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 perantara sekresi perforin.

Kerusakan DNA dipicu oleh enzim caspase aktif, di mana caspase ini merupakan suatu molekul protein 10 dan 20 kD berupa protease cystein. Saat ini sudah dikenal \pm 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 Dnase yang menyebabkan kerusakan DNA selama apoptosis. Sehingga yang akan terjadi adalah melisutnya organel dan inti sel.^{30,31}

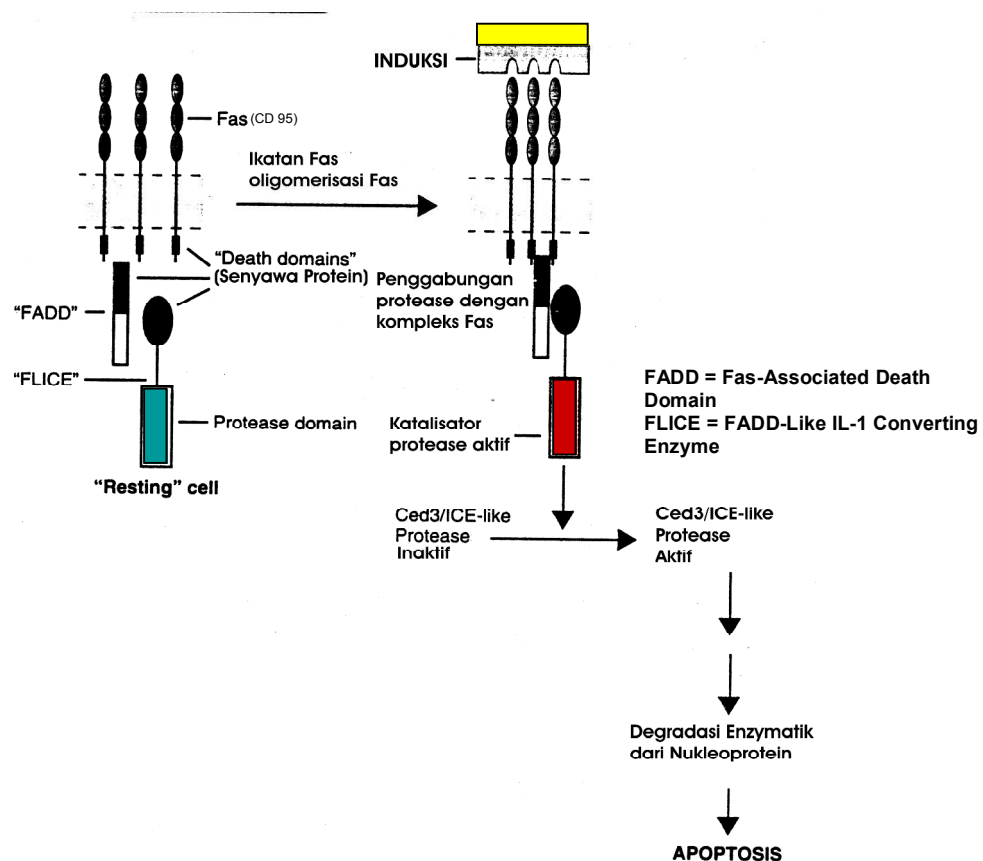
Caspase (terutama caspase 8 dan 10) dapat diaktifkan oleh granzyme maupun suatu katalisator protease yaitu FLICE (FADD-Like IL-1 Converting Enzyme) yang berikatan oleh FADD (Fas-Associated Death Domain), pada reseptor CD95/Fas setelah kontak dengan Fas ligand. Pengaktifan caspase melalui reseptor CD95/Fas 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* (gambar-7).^{12,30,31}

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. Granzyme ini terdiri dari granzyme B (gambar-8), granzyme A (gambar-8), C,D,E,F,G,H,K, dan M.

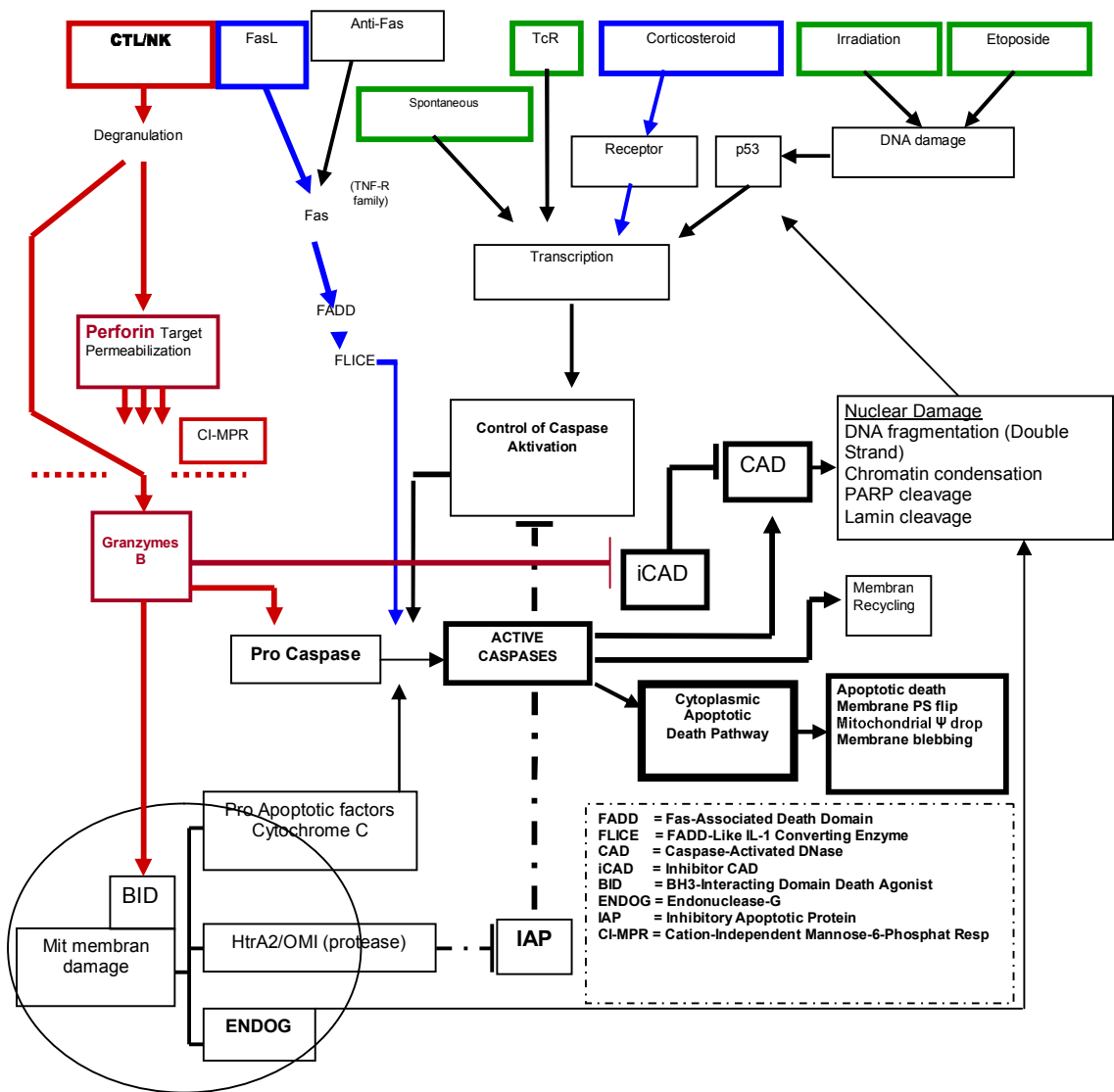
Secara mikroskopik apoptosis dapat diketahui dengan pengecatan HE, dengan melihat *apoptotic body* yang ada. *Apoptotic body* secara mikroskopik

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.^{30,31}

Pemeriksaan apoptosis atau kuantifikasi apoptosis yang lain bisa dengan cara Flow Cytometry dengan metode Hedley et al. Atau metode Basich et al. Bisa juga dengan metode “moving averages”.



Gambar-6. Jalur Apoptosis Sel Target yang dipengaruhi oleh reseptor CD95/Fas¹²



Gambar-7. Jalur Apoptosis Sel Target yang diinduksi oleh granzyme B.^{12,30}

2.5. Kanker payudara

2.5.1. 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 (*foetal life*). 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 sini 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.³².

2.5.2. 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^{11,16,32}.

b. 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 di sel kanker dan GF autokrin merangsang sel tumor menjadi lebih progresif^{15,16,32}.

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^{12,33}.

2.5.3. 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 ¹⁴.

Berdasarkan gambaran gejala klinik, *Klasifikasi TNM* menurut *International Union Against Cancer (UICC)*³³