

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker payudara

Neoplasma didefinisikan sebagai masa jaringan abnormal yang tumbuh berlebihan dengan tidak ada koordinasi dengan pertumbuhan jaringan normal dan tetap tumbuh dengan cara berlebihan setelah *stimulus* yang menyebabkan perubahan tersebut berhenti. Pada dasarnya awal semua *neoplasma* ialah hilangnya tanggapan terhadap kendali pertumbuhan normal. Kanker dapat tumbuh dari satu atau lebih sel. *Neoplasma* terjadi akibat mutasi dari gen.⁸ Mutasi gen pada organisme terjadi akibat adanya faktor yang menyebabkan kerusakan gen, yakni :^{8,10}

1. Konstitusi Genetika

Konstitusi genetika berupa kerusakan struktur dan atau kerusakan fungsi dan sistem kerja. Kerusakan struktur berupa perubahan urutan, sisipan atau pengurangan nukleotida, perpindahan gen maupun persilangan sebagian kromosom. Kerusakan fungsi dan sistem kerja yang menentukan kemampuan tubuh untuk memperbaiki kerusakan gen dalam kromosom, menetralkan karsinogen yang masuk ke dalam tubuh, menjaga imunitas tubuh dan mematikan sel kanker yang baru terbentuk .

2. *Karsinogenesis*

Zat yang dapat menimbulkan kanker (karsinogen), antara lain :

- a. Basa analog, berpengaruh saat repair *Deoxiribonukleotida Acid* (DNA), yang digunakan basa analog bukan basa yang sebenarnya.
- b. *Alkilating agent*, penambahan alkil pada nukleotida sehingga merubah ekspresi DNA.
- c. *Hidroksilating agent*, menghidroksilasi DNA.
- d. *Deaminating agent*, pengurangan gugus amin.
- e. *Intercalating agent*, agent yang menyela urutan DNA

3. Sinar Ultraviolet

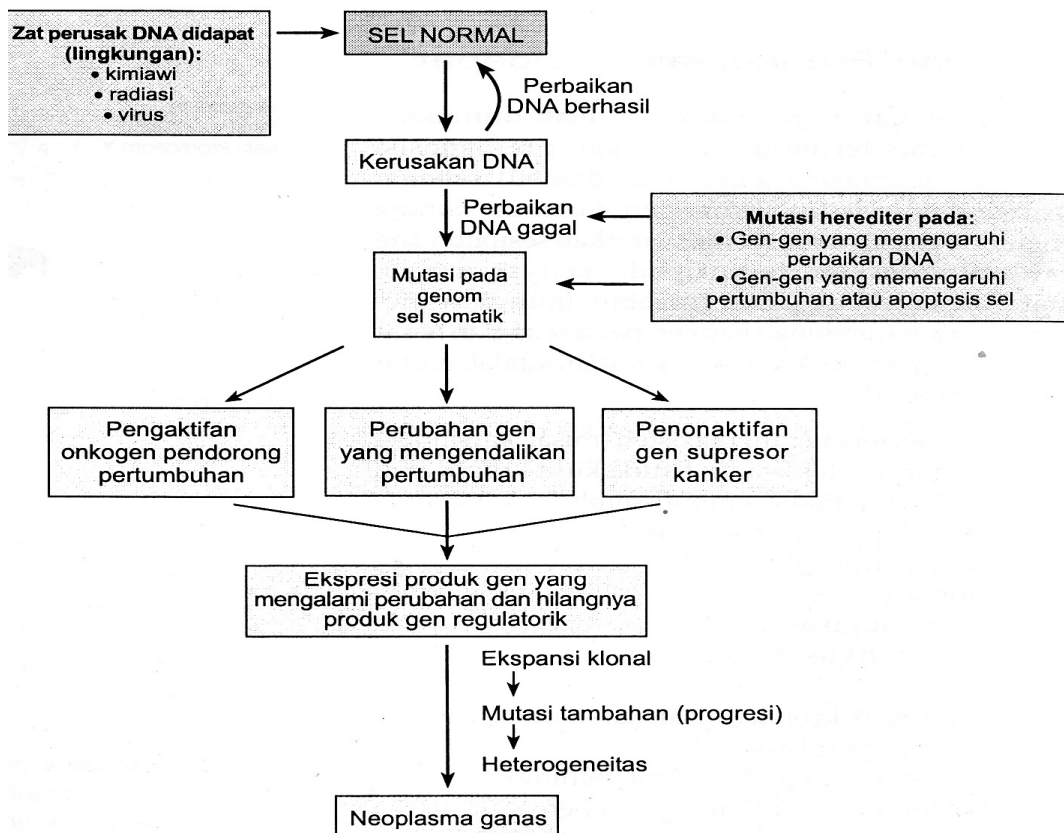
Ultraviolet- B (UV-B) bersifat karsinogen. Ultraviolet- A (UV-A) mempunyai panjang gelombang pendek, tidak menembus kulit. Ultraviolet –C (UV-C) punya daya tembus kulit lebih poten dan lebih bersifat mutagen dibanding UV-B, tetapi UV-C sudah diblok oleh atmosfer.

4. Infeksi Virus

Protein DNA virus setelah menembus membran sel mengadakan fusi dengan protein DNA hospes. Fusi DNA virus dan hospes menimbulkan mutasi gen. Manifestasi timbulnya kanker tergantung sistem imunitas tubuh dan mekanisme penghindaran virus.

5. Keadaan klinis tertentu yang merupakan predisposisi terjadinya *neoplasma* ganas :

- a. *Replikasi sel regeneratif persisten* : misal pada karsinoma sel squamosa di tepi suatu fistula kulit atau pada luka kulit yang tidak sembuh-sembuh.
- b. *Proliferasi hiperplastik dan displastik* : karsinoma bronkogenik pada mukosa displatik akibat kebiasaan merokok.
- c. *Gastritis atropi kronik* : karsinoma lambung pada anemia pernisiiosa.



Gambar 1. Skema mekanisme perubahan malignansi pada sel normal. Diambil dari buku Ajar Patologi.⁸

2.1.1. Etiologi dan patogenesis

Kanker payudara dipengaruhi oleh tiga faktor penting, yaitu :

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.^{8,20}

2. Faktor hormonal

Banyak faktor resiko yang dapat disebutkan seperti masa reproduksi yang lama, nullipara 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. 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. 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.^{8,20}

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.^{8,20}

2.1.2. Klasifikasi

Berdasarkan gambaran histologis, WHO membuat klasifikasi kanker payudara sebagai berikut : ^{8,11,21,22}

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*. 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 duktus infiltratif merupakan 65-80% dari karsinoma payudara. Sel berbentuk bulat sampai poligonal, bentuk inti kecil dengan sedikit gambaran mitosis. Jenis ini disebut juga sebagai

infiltrating ductal carcinoma not otherwise specified (NOS), scirrhous 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 *pleiomorfisme*. Sel infiltratif biasanya tersusun konsentris disekitar duktus berbentuk seperti target. Sel tumor dapat berbentuk *signet-ring*, *tubuloalveolar* atau *solid*.

3. Karsinoma musinosum

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.

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*.

7. Karsinoma adenokistik

Jenis ini merupakan karsinoma invasif dengan karakteristik sel yang berbentuk *kribriiformis*.

8. Karsinoma apokrin

Karsinoma ini didominasi dengan sel yang memiliki sitoplasma *eosinofilik*, sehingga menyerupai sel apokrin yang mengalami metaplasia.

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. CTL 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.^{6,23,24}

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 CTL dan sel NK harus mampu mengenal antigen tumor dan menyebabkan kematian sel-sel tumor.^{6,23,24}

Beberapa bukti yang mendukung bahwa ada peran sistem imun dalam melawan tumor ganas diperoleh dari beberapa penelitian, diantaranya yang mendukung teori itu adalah.^{6,23,24}

- a. Banyak tumor mengandung infiltrasi sel-sel mononuklear yang terdiri atas CTL, Sel NK dan makrofag.
- b. Tumor dapat mengalami regresi secara spontan.
- c. Tumor lebih sering berkembang pada individu dengan *immunodefisiensi* atau bila fungsi sistem imun tidak efektif; bahkan *immunosupresi* seringkali mendahului pertumbuhan tumor.
- d. Di lain pihak tumor seringkali menyebabkan *immunosupresi* 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 *Major Histocompatibility Complex* (MHC) dan *Intercellular Adhesion Molecule* (ICAM) yang mengindikasikan sistem imun yang aktif.^{6,23,24}

Sel imun yang berada disekitar sel kanker yang berperan dalam perondaan terhadap kanker adalah CTL, sel NK dan makrofag . Setelah mengenal sel kanker sebagai sel asing, ketiga sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker.^{6,23,24}

Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan perforin dan granzyme, sedangkan makrofag menggunakan cara *fagositosis*. Proses 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.^{6,23-26}

2.3. Mekanisme efektor dalam melawan sel tumor.

2.3.1. Peran makrofag dalam respon antitumor.

Makrofag juga berperan dalam pertahanan melawan sel tumor baik dalam mengolah dan mempresentasikan antigen tumor kepada sel *T helper*, maupun bertindak langsung sebagai efektor dengan melisis sel tumor. Makrofag yang berperan dalam mekanisme tersebut adalah makrofag aktif yaitu makrofag yang telah diaktifasi oleh *Macrophag Activating Factors* (MAF), suatu sitokin yang dihasilkan limfosit T yang distimulasi antigen. Makrofag yang tidak aktif telah dibuktikan tidak memiliki kemampuan melisis sel tumor.^{6,23,24,27}

Makrofag aktif juga mensekresi sitokin antara lain *Interleukine 12* (IL-12) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF). IL-12 berperan memacu proliferasi

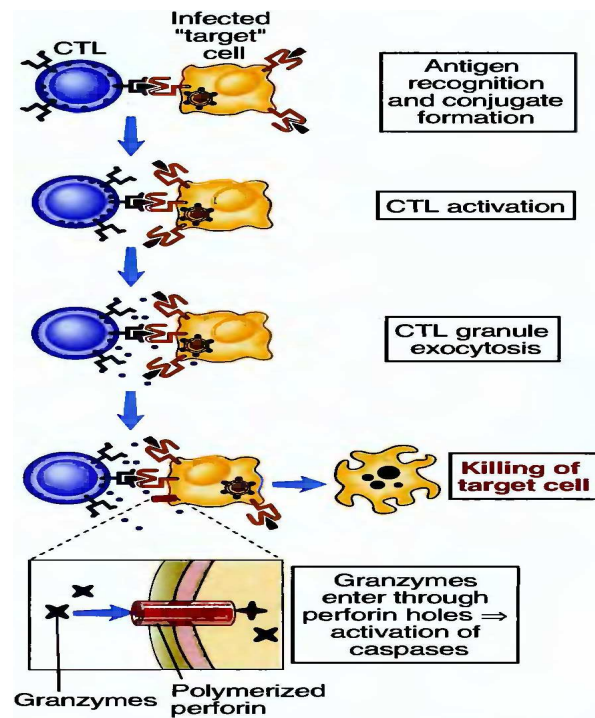
dan aktivasi sel T CD4+, sel T CD8+ serta sel NK. TNF mampu melisis sel tumor melalui: 1) TNF berikatan dengan reseptor permukaan dari sel tumor dan secara langsung melisis sel tumor, 2) TNF dapat menyebabkan nekrosis dari sel tumor dengan cara memobilisasi berbagai respon imun tubuh. ^{6,23,24,27}

2.3.2. Limfosit T sitotoksik (CTL) 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 Interferon- γ* (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). ^{6,23,24}

Banyak penelitian membuktikan 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 mutan atau protein virus *onkogenik* yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I. 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. Proses sitolitik CTL terhadap sel target dengan mengaktifkan penggunaan enzim perforin dan granzyme.^{6,23,24}



Gambar 2: Tahapan sitolitik sel target oleh CTL.²³

2.3.3. Sel Natural Killer (NK) sebagai efektor anti tumor.

Sel NK merupakan komponen utama dari *immune surveillance*, yang dapat bekerja sebagai sel efektor dari imunitas natural maupun spesifik. 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. 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.^{23,28-31}

Sel NK dapat berperan baik dalam respons imun nonspesifik maupun spesifik terhadap tumor dan dapat diaktivasi langsung melalui pengenalan antigen tumor atau sebagai akibat aktivitas sitokin yang diproduksi oleh limfosit T spesifik tumor. 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.^{23,28-31}

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. Yang menarik adalah peran

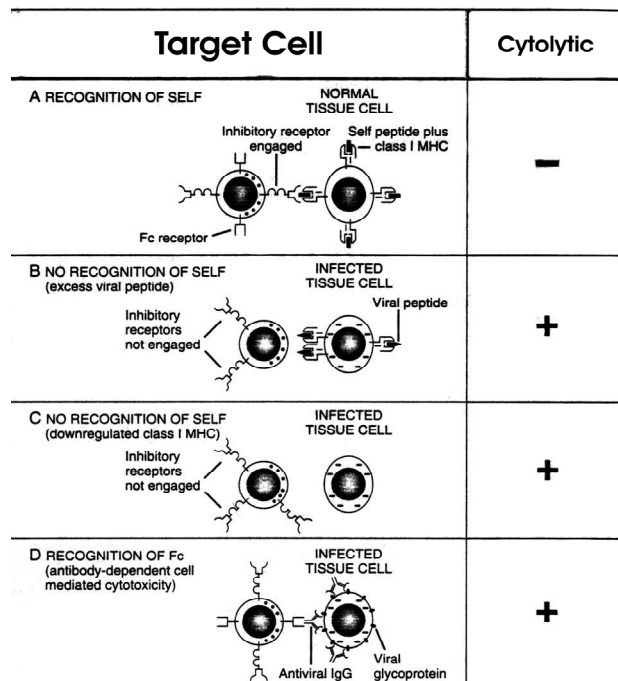
sel NK yang diaktifkan dengan stimulasi IL-2 dalam membunuh sel tumor. Sel-sel itu yang disebut *lymphokine activated killer cells* (LAK cells) dapat diperoleh *in vitro* dengan memberikan IL-2 dosis tinggi pada biakan sel-sel limfosit darah perifer atau sel-sel *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TIL) yang berasal dari penderita kanker. Sel-sel yang diaktifkan oleh *limfokin* (LAK cells) menunjukkan peningkatan aktivitas sitotoksik yang sangat jelas.^{23,28-31}

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.^{23,30,31}

Setelah mengenal sel tumor dengan caranya masing-masing, CTL dan sel NK melepas *granula azurofilik*. Granula ini akan menyelubungi sel target, kemudian akan bersatu dengan membran sel target (*eksositosis*). Granula CTL dan sel NK mengandung *perforin*, *sitotoksin*, *serine esterase* (*granzyme*) dan *proteoglikan*. Perforin akan menimbulkan lubang pada membran sel target (sel tumor), dimana lubang tersebut merupakan pintu masuk bagi molekul sitotoksik lainnya dalam sitoplasma dan inti sel yang menyebabkan kematian dari sel target.^{23,28-31}

Proses 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*). Granzyme 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 nukleus, tetapi tidak menghambat *apoptosis* karena kerusakan yang bukan dari kerusakan inti tetapi hilangnya mitokondria potensial.^{23,28-31}



Gambar 3: Pengenalan sel target oleh sel-NK.²³

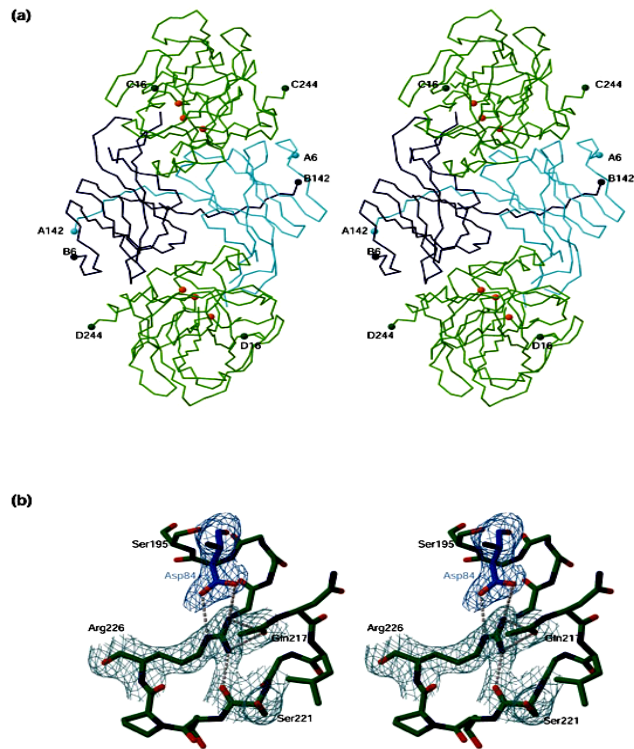
2.4. Granzyme

Granzyme merupakan molekul yang termasuk dalam famili *serine protease*, yang diekspresikan secara eksklusif oleh CTL dan sel NK yang merupakan komponen sitem imun terhadap virus dan transformasi sel pada organisme tingkat

tinggi. 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.^{9,32}

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 serine. Pada tikus diidentifikasi delapan macam granzyme yaitu granzyme A-G dan M, sedangkan pada manusia diidentifikasi granzyme B, A, H, M dan granzyme-3 atau tryptase-2.^{9,32,33}

Gambar-4 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).^{9,32,33}



Gambar 4: Struktur kristal kimia dari granzyme B.
Sumber: Trapani³²

Granzyme dapat digolongkan menjadi tiga subfamili menurut spesifitas substratnya yaitu:

- a. Golongan granzyme yang mempunyai aktifitas enzimatis menyerupai *serin protease chymotrypsin* dan secara genetik di *encoding* pada lokus *chymase*.
- b. Golongan granzyme dengan aktifitas spesifik *trypsin-like* dan secara genetik di *encoding* pada lokus *tryptase*.
- c. Subfamili granzyme yang memecah residu hidropobik, terutama methionin. Secara genetik di *encoding* pada lokus *Met-ase*.

Seluruh granzyme disintesa sebagai *zymogen*, dan setelah berikatan dengan peptida utama, aktifitas enzimatis maksimal diperoleh dengan lepasnya sebuah *dipeptida amino* terminal. Seluruh aktivitas granzyme ini dapat dihambat oleh *inhibitor serine protease* dan inhibitor yang terbaru diidentifikasi adalah *serpin* yang spesifik untuk granzyme. Ekspresi granzyme dapat diukur melalui plasma dengan metoda *ELISA* atau pengecatan immunohistokimia dengan *monoklonal antibodi anti granzyme*.^{9,32,33}

2.5. Apoptosis

Apoptosis adalah suatu kematian sel yang terprogram atau *programmed cell death*. Bila teraktivasi akan menyebabkan reaksi *enzymatic intracellular*. Ada banyak stimulasi yang dapat menginduksi *apoptosis*. Stimulasi utama adalah agen kemoterapi, radiasi, panas, ketidakseimbangan osmotik, dan *Nitric Oxide*. Menurut jenis triger dan tipe selnya, ada banyak jalur sinyal untuk mengaktifasi *apoptosis*, tapi yang akan kami sebutkan disini adalah *apoptosis* yang diinduksi oleh kemoterapi, CTL dan sel-NK yang diinduksi baik oleh *nonsecretory induced*, *ligand-induced* dan *secretory induced* dengan granzyme melalui perantaraan sekresi perforin.^{23,34}

Apoptosis dapat diinduksi oleh berbagai stimulus, antara lain *growth factors*, *glukokortikoid*, kerusakan DNA, paparan radiasi, obat-obat kemoterapi, dan stress.^{23,34} Terdapat tiga mekanisme yang terlibat pada proses *apoptosis*, pertama adanya signal kematian sel mengakibatkan aktivasi *caspase (cysteine protease)* dan *pro-apoptosis (bcl-2)*, sehingga menginaktifkan protein seluler yang mengakibatkan

terjadinya *apoptosis*. Kedua, kemampuan bcl-2 untuk membentuk jalur ion di membran sitoplasma mitokondria, inti sel dan *retikulum endoplasmik*, gangguan pada membran mitokondria ini akan mengakibatkan pelepasan *inducing factor* yang mengaktifkan *caspase* untuk *apoptosis* kematian sel. Ketiga, adanya fungsi *tumor necrotizing factor receptor family (Fas)* yang mengandung sitoplasma 'death domain', pada saat ada aktivasi reseptor maka death domain ini akan mengalami interaksi dengan *protein FasL* sehingga terjadi *apoptosis*.^{23,34}

Apoptosis merupakan jalur kematian sel yang dipacu oleh mekanisme pengaturan intraseluler dimana sel yang akan mati mengaktifkan enzim yang akan mendegradasi DNA nukleus sel dan protein sitoplasma. Sel yang mengalami *apoptosis*, morfologinya berupa fragmentasi inti sel, pembentukan *membrane-encased apoptotic bodies*, berbentuk gelembung yang mengandung organela, sitoplasma mengkerut, kondensasi kromatin (DNA dan protein).^{23,34,35}

Apoptosis pada kondisi fisiologis berfungsi untuk mengatur jumlah sel, proliferasi dan menghilangkan sel yang sudah tidak berguna lagi sebagai suatu perkembangan normal dari sel, seperti pada embriogenesis, *hormone-dependent involution* pada siklus menstruasi dan atresia folikel pada menopause, delesi sel pada proliferasi sel epitel, eliminasi sel reaktif limfosit yang berlebihan, kematian sel yang diinduksi oleh sel *T sitotoksik* pada infeksi virus dan perkembangan tumor.^{23,34,35}

Apoptosis juga terjadi pada kondisi patologi, dimana *apoptosis* bertanggung jawab pada kematian sel seperti stimulasi kerusakan eksternal pada radiasi, obat sitotoksik anti-kanker, infeksi virus, atrofi patologi pada parenkim organ setelah adanya obstruksi saluran, semisal pada pankreas dan ginjal, juga kematian sel pada

tumor. Disregulasi proses kematian sel ini mempunyai peranan pada patogenesis dari penyakit.^{34,35}

2.6. *Transfer Factor*

Istilah *transfer factor* pertama kali dipopulerkan oleh seorang perintis imunologi Dr .H . Sherwood Lawrence 1949 dengan menyuntikan ekstrak leukosit dari seseorang yang pernah terkena tuberkulosis kepada seseorang yang belum pernah terjangkiti ternyata memberikan kekebalan resipien terhadap serangan tuberkulosis. Dari fenomena ini beliau menyimpulkan adanya suatu faktor yang mampu memindahkan kemampuan imunitas dari pendonor ke resipien, faktor ini diberi nama *transfer factor*.¹⁴

Transfer factor adalah suatu peptida yang terdiri dari 44 asam amino, dan RNA tetapi tidak mempunyai DNA, dengan berat molekul < 10.000 dalton (3.500 – 6.000) yang dihasilkan dari ekstrak kolustrum sapi. Hampir setiap kolustrum pada mamalia mengandung *transfer factor*. Ukurannya yang kecil membantu menjadikan tidak alergenik dan aman dikonsumsi secara oral, sehingga efektif sebagai *imunostimulator*.¹⁴

Manusia menghasilkan susu berkolustrum dalam masa 24 jam pertama kelahiran (2 % Ig G). Sedangkan sapi dapat menghasilkan kolustrum untuk waktu yang lebih lama yaitu antara 36 hingga 48 jam (86 % Ig G) hampir setara dengan 9 galon kolustrum.¹⁴

Transfer factor meningkatkan data memori sistem imun kita sehingga memacu sistem imun untuk lebih cepat dan lebih agresif dalam perlawanan bila antigen yang sama masuk ke tubuh sehingga seakan-akan kita dulu pernah terjangkiti. Efek *transfer factor* pada sistem imun terutama sebagai *inducer*, *spesifik antigen* dan *supressor*. Sebagai *inducer*, *transfer factor* meningkatkan kewaspadaan sistem imun terhadap berbagai agressor. Sebagai *spesifik antigen*, *transfer factor* menjadi antigen spesifik dan berfungsi sebagai *sitokin* yang membantu sistem imun mengenali berbagai mikroorganisme dan antigen asing lebih baik sehingga mengurangi masa jangkitan penyakit. Sebagai *supresor*, *transfer factor* mencegah sistem imun kita menjadi tidak terkendali dalam melakukan perlawanan.^{13,14}

Berbagai penelitian tentang *transfer factor* untuk peningkatan jumlah dan aktivitas sel NK dilakukan dengan gabungan dengan agent lain seperti *transfer factor* yang diperoleh dari ekstrak kolostrum sapi digabungkan dengan *transfer factor* dari jenis avian yaitu dari ekstrak kuning telur ayam, *transfer factor* kolostrum sapi yang dikombinasi dengan mikronutrien lain seperti antioksidan dan prebiotik atau juga *transfer factor* yang dikombinasi dengan IL-2, ternyata memberikan efek lebih baik pada peningkatan jumlah dan aktivitas sel NK dibanding diberikan sendiri. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa *transfer factor* bekerja memperkuat kemampuan sel NK untuk menghancurkan sel – sel kanker tanpa harus mengenal memori terlebih dahulu. Pada penelitian dilaporkan pemberian *transfer factor* menyebabkan peningkatan CD2+, CD4+, CD8+ dan jumlah sel NK. Selain itu juga dijumpai peningkatan jumlah sel tumor yang mengalami *apoptosis*. Mekanisme pasti cara kerja *transfer factor* dalam meningkatkan sistem imun seluler belum diketahui secara pasti, namun pada

penelitian juga dilaporkan adanya peningkatan ekspresi sitokin yang diproduksi sel *Th1* pada sel tumor. Penelitian lain melaporkan pemberian *transfer factor* menyebabkan terjadinya peningkatan sekresi interferon gamma yang merupakan produksi sel *Th1*. Hal ini memperkuat dugaan bahwa *transfer factor* bersifat imunomodulator melalui aktivasi sel *Th1*.^{13,14}

2.7. Cyclophosphamide

Cyclophosphamide merupakan suatu obat antineoplastik golongan *Nitrogen mustard Alkylating agent* yang mempunyai berat molekul 261.085 g/mol, farmakokinetik *bioavailabilitas* > 75 % oral dengan *protein binding* > 60 % dimetabolisme dihepar dan diekskresikan melalui ginjal, waktu paruh 3 – 12 jam . Bekerja pada semua siklus sel dengan cara memotong rantai DNA.^{12,36}

Cyclophosphamide menimbulkan kerusakan DNA permanen dan menimbulkan efek yang lebih luas terhadap jaringan yang sedang membelah. Sel-sel labil, seperti sel hemopoetik dalam sumsum tulang, epitel rambut, epitel permukaan rongga organ dalam (epitel kolumner traktus digestivus dan tuba falopi dan epitel transisional pada kandung kemih), yang mempunyai kemampuan membelah terus menerus dan berproliferasi tak terbatas, merupakan sasaran efek dari kemoterapi pada umumnya dan *cyclophosphamide* pada khususnya. Hal ini tampak jelas terlihat seperti rambut rontok, diare dan imunosupresi.^{12,36}

Efek samping *cyclophosphamide* yang sering terjadi adalah leukopeni yang dapat meningkatkan insiden infeksi. Efek samping yang timbul pada dosis tinggi

adalah kardiotoksik, nefrotoksik, hiperurisemia dan *SIADH* (*Sindrome Inappropriate Anti Diuretic Hormon*). *Cyclophosphamide* sebagai kemoterapi banyak digunakan sebagai pengobatan penyakit kanker (kanker payudara, leukemia, limfoma maligna, multipel myeloma, kanker ovarium, sarkoma jaringan lunak, *sindrom nefrotik*, *neuroblastoma*, *Wilm's tumor*, *retino blastoma*, dan *mykosis fungoides*).^{12,36}

Cyclophosphamide diabsorpsi dengan baik setelah pemberian oral dengan bioavailabilitas lebih dari 75%, diikat protein kecil sekali, dapat menembus barier otak dengan *half-life* 3-12 jam dan mencapai konsentrasi puncak dalam plasma 2-3 jam setelah pemberian intra vena. Biotransformasi *cyclophosphamide* di hepar dan dieliminasi di ginjal 5-25% metabolitnya, pada dialisa darah *cyclophosphamide* juga ikut didialisa.^{12,36}

Pemberian *cyclophosphamide* bersama dengan sulfinpyrazon akan meningkatkan konsentrasi asam urat dalam darah. Bersama allopurinol akan meningkatkan toksisitas *cyclophosphamide* pada sumsum tulang. Pada pemberian bersama antikoagulan, *cyclophosphamide* meningkatkan aktivitas antikoagulan seakan-akan terjadi penurunan sintesis faktor koagulan dan perubahan formasi platelet tetapi juga dapat menurunkan aktivitas koagulan dengan mekanisme yang belum diketahui. Hati-hati pula pada penggunaan bersama obat-obat yang menginduksi enzim mikrosom hati karena dapat meningkatkan metabolit *cyclophosphamide*. Kardiotoksitas *cyclophosphamide* akan meningkat bila pemberian dengan *Doxorubicyn* melebihi 400mg tiap meter persegi permukaan tubuh. *Cyclophosphamide* dapat menghambat aktivitas *kolinesterase* sehingga pada

pemberian bersama *succinylcholine* dapat memacu blokade neuromuskuler *succinylcholine* dan meningkatkan depresi pernapasan.^{12,36}

Pasien dengan pemberian *cyclophosphamide* perlu dimonitor mengenai produksi urin, kadar asam urat, bilirubin dan kreatinin konsentrasi dalam serum. Selain itu perlu diperiksa *SGOT*, *SGPT*, *Hb*, *BUN*, jumlah platelet dan jumlah lekosit darah.^{6,12,36}

Dosis 25 – 50 mg tablet oral. Dosis injeksi: 500mg/m^2 luas permukaan tubuh dapat juga menggunakan dosis berdasarkan berat badan yaitu: 15mg/kgbb .^{12,36}