

**JUMLAH LIMFOSIT DARAH TEPI
DAN SEBUKAN LIMFOSIT SEKITAR JARINGAN
TUMOR PADA PENDERITA KEGANASAN
PAYUDARA YANG MENDAPAT
INJEKSI VITAMIN C**

***LYMPHOCYTE COUNT IN THE PERIPHERAL BLOOD CELLS
AND LYMPHOCYTE INFILTRATION SURROUND TUMOR
TISSUE IN BREAST CANCER PATIENT RECEIVING
VITAMIN C INJECTION***



**Tesis
untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat S-2
dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Bedah**

Agus Ujianto

**PROGRAM PASCASARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU BEDAH
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2010**

TESIS

**JUMLAH LIMFOSIT DARAH TEPI
DAN SEBUKAN LIMFOSIT SEKITAR JARINGAN
TUMOR PADA PENDERITA KEGANASAN
PAYUDARA YANG MENDAPAT
INJEKSI VITAMIN C**

disusun Oleh :

Agus Ujianto

telah dipertahankan di depan tim penguji
pada tanggal 5 Juni 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui:

Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. H. Darwito,SH,SpB (K) Onk
NIP. 140.217.156

Prof.dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, Sp.ParK
NIP. 194703121976031001

Ketua Program
Studi Magister Ilmu Biomedik
Universitas Diponegoro

Ketua Program
Studi PPDS I Bedah
Universitas Diponegoro

DR.dr. Winarto,Sp.MK,Sp.M
NIP. 194906171978021001

dr. Sidharta Darsojono, SpB, SpU
NIP. 194505281988011001

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Mei 2010

Penulis

RIWAYAT HIDUP SINGKAT

A. IDENTITAS

Nama : dr. Agus Ujianto
NIM Magister Biomedik : G4.A004.009
NIM PPDS I Bedah : G3.A004.003
Tempat / Tgl lahir : Banyumas, 04 Agustus 1975
Agama : Islam
Jenis kelamin : Laki-laki
Istri : dr. Shinta Harfinia
Anak : M. Fattah Prabu

Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri II Wangon , Purwokerto : Lulus tahun 1987
2. SMP Negeri 1 Wangon, Purwokerto : Lulus tahun 1989
3. SMA N 2 Purwokerto : Lulus tahun 1993
4. FK UNISSULA : Lulus tahun 2000
5. PPDS I Bedah FK UNDIP Semarang, Jawa Tengah
7. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang Jawa Tengah

KATA PENGANTAR

Puji Syukur dipanjatkan kehadirat Tuhan YME atas limpahan rahmat dan anugerahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul :

**“JUMLAH LIMFOSIT DARAH TEPI DAN SEBUKAN LIMFOSIT
SEKITAR JARINGAN TUMOR PADA PENDERITA KEGANASAN
PAYUDARA YANG MENDAPAT INJEKSI VITAMIN C”**

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S2 Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak. Kepada dr. H. Darwito,SH, SpB(K) Onk dan Prof. Dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, SpParK sebagai dosen pembimbing, penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan, sumbangan pikiran, serta kesabarannya dalam proses penyelesaian tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih kepada :

1. Prof.Dr.dr.Susilo Wibowo, SpAnd, Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof.Drs.Y.Warella,MPA,PhD,Ketua Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
3. dr. Soejoto, SpKK(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
4. DR. Dr. Winarto, SpMK, SpM, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

5. Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K) FIAC, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP / RS Dr. Kariadi Semarang
6. dr. Djoko Handojo, SpB(K)Onk, Ketua SMF Bedah RSUP Dr.Kariadi / Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
7. dr. Sidharta Darsojono, SpB, SpU, Ketua Program Studi PPDS I Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
8. dr. Sahal Fattah,SpBTKV, Sekretaris Program Studi PPDS I Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
9. dr Bambang Eko Putranto , SpPA(K), Kepala Instalasi Patologi natomi RSUP Dr. Kariadi Semarang.
10. dr. M.I. Tjahjati ,SpPK(K) , Kepala Instalasi Patologi Klinik laboratorium Sentral RSUP Dr. Kariadi Semarang.
11. dr. Ika Pawitra Miranti, SpPA.Mkes, dr. H.Soemarno,Msi.Med. SpPA , yang bersedia meluangkan waktu untuk membimbing cara pembuatan preparat dan pembacaan preparat tumor yang kami teliti.
12. Segenap Guru Besar dan Staff Pengajar di Program Studi PPDS I Bedah Fakultas Kedokteran Univeristas Diponegoro Semarang.
13. Tim penguji dan nara sumber yang telah dengan sabar berkenan memberi masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
14. Semua rekan sejawat Residen Bedah FK UNDIP yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.
15. Sejawat residen Patologi Anatomi dan Patologi Klinik yang telah membantu dalam membuat sample data penelitian ini.

16. Ucapan terima kasih khusus kepada Bapak saya Drs. Sidik Prayitno MPd., Ibu saya S.Widyastuti, AmPd., Bapak mertua saya Kombes Pol (P).dr.H.Hardjono Poerwito, SpRad, Ibu Mertua saya Hj. Poppy Sofiaty AmKeb., isteriku tercinta dr. Shinta Harfinia dan anakku M. Fattah Prabu, yang telah memberikan dukungan moril dan material untuk keberhasilan studi saya.
17. Adik-adikku, dr.Agus Setyawan dan dr.Vitasari , dr. Titik Kusumawinakhyu dan M. Rofiq S.Apt., Sofia Diviacita, Ssi. dan Doni SE , Wieke Artsiana Maharani,SE. dan Lettu.CKM.dr. Hari S , serta Salma Nurhaliza yang telah menjadi inspirasi dan semangat untuk tetap berjuang dan belajar.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih kurang sempurna. Kritik dan saran demi kesempurnaan penelitian ini akan diterima dengan senang hati. Penulis berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat serta memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu kedokteran.

Semarang, Mei 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR MONITORING PERBAIKAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP SINGKAT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
ABSTRAK	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Perumusan masalah	5
1.3. Tujuan penelitian	6
1.4. Manfaat penelitian	6
1.5. Orisinalitas	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Kanker payudara	8
2.1.1. Etiologi dan patogenesis	8

2.1.2. Klasifikasi	11
2.1.3. Stadium klinik kanker payudara	12
2.14. Modalitas terapi payudara	13
2.2. Kemoterapi	14
2.2.1. Mekanisme kerja kemoterapi	14
2.2.1. Pemberian kemoterapi	16
2.2.3. Respon kemoterapi	17
2.2.4. Efek samping kemoterapi	18
2.3. Peranan sistem imun terhadap sel kanker.....	19
2.3.1. Imunosurveilance kanker.....	19
2.3.2. Immunological escape.....	19
2.3.3. Respon imun selular dan hormonal terhadap sel tumor.....	22
2.3.4. Pengaruh stress kanker dan kemoterapi terhadap sistem imun.	27
2.4. Vitamin C	33
2.4.1. Farmakologi	33
2.4.2. Mekanisme Vitamin C pada pengobatan kanker.....	35
2.4.3. Dosis.....	38
2.4.4. Efek samping Vitamin C	39
BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS	41
3.1. Kerangka Teori.....	41
3.2. Kerangka Konsep	42
3.3. Hipotesis	42

BAB 4. METODE PENELITIAN	43
4.1. Ruang lingkup penelitian.....	43
4.2. Tempat & waktu penelitian.....	43
4.3. Jenis dan rancangan penelitian.....	43
4.4 Populasi dan sampel penelitian.....	44
4.5. Skema penelitian.....	44
4.6. Besar sampel	45
4.7. Bahan dan cara kerja	46
4.8. Definisi operasional	48
4.9. Analisis data	50
4.10. Etika penelitian	50
BAB V . HASIL	52
BAB VI. PEMBAHASAN.....	57
BAB VII.KESIMPULAN DAN SARAN.....	63
DAFTAR PUSTAKA	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Respon imun terhadap sel kanker.....	28
Gambar 2. Peran makrofag, sel Nk, CTL terhadap sel target.....	28
Gambar 3. Mekanisme yang terjadi pada stress dan sistem imun.....	29
Gambar 4. Fungsi sel – sel Th1.....	30
Gambar 5. Fungsi sel – sel Th2.....	31
Gambar 6. Mekanisme Transport Vitamin C.....	37
Gambar 7. Jumlah limfosit darah tepi kelompok kontrol dan perlakuan	55
Gambar 8. Sebaran limfosit sekitar tumor pada kelompok kontrol dan Perlakuan	56
Gambar 9 Sebaran limfosit (tanda panah merah) lebih dari 50 % / LPB . Sel tumor (tanda panah hijau).....	58
Gambar 10 Sebaran limfosit (tanda panah merah) kurang dari 25 % / LPB . Sel tumor (tanda panah hijau).....	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Karakteristik kelompok kkontrol dan kelompok perlakuan	52
Tabel 2. Jumlah limfosit sel darah tepi antara kelompok perlakuan dan kontrol paska neoadjuvant 3x.....	53
Tabel 3. Jumlah limfosit disekitar tumor antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol paska neoadjuvant 3x	54

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	70
- Skoring sebukan sel mononuclear sekitar jaringan tumor, perbesaran 400x	
- Skoring jumlah Limfosit diff count / computer	
Lampiran 2	71
- Gambar Skor 1 sebukan limfosit sekitar tumor perbesaran 100 x	
- Gambar Skor 2 sebukan limfosit sekitar tumor perbesaran 100 x	
- Gambar Skor 3 sebukan limfosit sekitar tumor perbesaran 100 x	
- Gambar Skor 4 sebukan limfosit sekitar tumor perbesaran 100 x	
Lampiran 3	73
- Data pasien sebukan limfosit dan Persentase limfosit sel darah tepi	
Lampiran 4	74
- Gambar Preparat dan alat	
Lampiran 5	75
- Lembar instruksi penggunaan <i>cytometer / analyzer</i> di Laboratorium Patologi Klinik Sentral , RSUP Dr.Kariadi Semarang	
Lampiran 6	78
- Ethical Clearance	
Lampiran 7	79
- Olah data dan statistik	
Lampiran 9	83
- Lembar persetujuan <i>informed consent</i>	
Lampiran 8	85
- Data perbandingan dan kappa sebukan limfosit sekitar tumor	

DAFTAR SINGKATAN

AC	: Adriamycin cyclofosfamide
ADCC	: Antibody dependent cellular cytotoxicity
APC	: Antigen presenting cells
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
BRK-IAPI	: Badan Registrasi Kanker Ikatan Ahli Patologi Indonesia
BCS	: Breast Conservation Surgery
CD	: Cluster of differentiation
CTL	: Cytotoxic toxic lymphocyte
CR	: Complete remission
CMF	: Cyclofosfamide, Methotrexate dan 5 – FU
E-CMF	: Epirubicin, yang digabung dengan CMF
FEC	: Fluorouracyl epirubicin cyclofosfamide
GLUT	: Glukosa transporter
IARC	: International Agency for Research on Cancer
IL	: Interleukin
Ig	: Immunoglobulin
ICAM	: Interseluler adhesion molecule
IARC	: International Agency for Reaseach on Cancer
LAK	: Lymphokine-activated killer
MHC	: Major histocompability complex
MRM	: Modified Radical Mastectomi
MMM	: Methotrexate, Mitozantrone, Mitomycin
MM	: Methotrexate dan Mitozantrone
NK Cell	: Natural killer cell
NC	: No change
P	: Progression
PG	: Prostaglandin
PR	: Partial Remission
RM	: Radical Mastectomi

SKRT	: Survei Kesehatan Rumah Tangga
SM	: Simple Mastectomi
SVCT	: Sodium Vitamin C Transporter
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TRAIL	: TNF-related apoptosis inducing ligand
TGF	: Transforming Growth Factor
Treg	: T-regulate
TIL	: Tumor-infiltrating lymphocytes
TCR	: T-cell Receptor
WHO	: World Health Organization

ABSTRAK

Latar belakang : Penderita kanker payudara mengalami penurunan sistem imun. Hal ini dapat diperbaiki dengan pemberian vitamin C sebagai imunostimulator dengan meningkatkan jumlah limfosit dalam aktifitas fagositosis makrofag, dan sebagai antitumor; sebaran limfosit di sekitar sel kanker akan melambatkan pertumbuhan sel kanker dan menyebabkan kematian sel kanker.

Tujuan: Membuktikan vitamin C sebagai imunostimulator terhadap imunitas seluler dengan peningkatan jumlah limfosit sel darah tepi dan sebaran limfosit di sekitar jaringan tumor pada penderita keganasan payudara stadium III B yang diberikan injeksi vitamin C setelah kemoterapi neoadjuvant ketiga .

Metode : Dengan *Randomized Clinical Trial* dan rancangan *comparison group with post test only*. Kelompok perlakuan di randomisasi sederhana. Injeksi vitamin C 2 gr/hari selama 5 hari setelah kemoterapi neoadjuvant ketiga pada kelompok perlakuan kemudian diperiksa limfosit darah tepi, lalu penderita di mastektomi dan jaringan tumor diperiksa sebaran limfosit di sekitar jaringan tumor secara patologi anatomi . Analisis data meliputi analisis deskriptif dan uji hipotesis.

Hasil : Empat puluh empat penderita dikelompokkan menjadi kontrol dan perlakuan. Limfosit sel darah tepi diskor berdasarkan persentase limfosit terhadap leukosit. Sedangkan limfosit sekitar tumor diskor berdasarkan sebaran limfosit yang ditemukan per lapangan pandang besar. Dengan uji Kolmogorov Smirnov Z , jumlah limfosit sel darah tepi antara perlakuan dan kontrol tidak berbeda bermakna ($p=0,215$). Sebaran limfosit di sekitar tumor berbeda bermakna ($p=0,021$).

Simpulan : Sebaran limfosit sel darah tepi dan sebaran limfosit di sekitar jaringan tumor pada penderita keganasan payudara stadium IIIB setelah kemoterapi neoadjuvant ketiga lebih banyak setelah mendapat injeksi vitamin C.

Kata kunci : Vitamin C, limfosit, keganasan payudara , kemoterapi.

ABSTRACT

Background: Breast cancer patients are likely to experience a decrease in immunity. Administration of vitamin C which has been reported to having effects as an immunostimulator by increases lymphocyte count in the phagocytosis activity and antitumor; increasing lymphocyte infiltration surround the tumor decreases tumor's growth acceleration .

Objective: To provide evidence of vitamin C as an immunostimulator for the cellular immunity through augmentation of lymphocyte count in the peripheral blood cells and lymphocyte infiltration surround the tumor tissue in breast cancer who received injection of vitamin C 2 after the third neoadjuvant chemotherapy.

Methods: Randomized Clinical Trial with comparison group with post test only design. Treatment group was selected by simple randomization. Injection of vitamin C 2 gr/day for 5 days was administered to the treatment group after the third neoadjuvant chemotherapy. On the sixth day examine lymphocyte count in the peripheral blood cells. The pathology finding of lymphocyte infiltration surround the tumor was conducted after mastectomy. Data analysis consists of descriptive analysis and hypotesis test.

Result: Fourty four patients with breast cancer were grouped equally into control and treatment. Lymphocytes count in the peripheral blood cells was scored based on percentages of the lymphocytes to leukocytes (scores 1-4). Lymphocytes count surround the tumor was scored based lymphocytes infiltration found per high power fields (score 1-4). Kolmogorov Smirnov Z test showed that there was no significant difference of lymphocyte count in the peripheral blood cells between treatment and control group ($p=0.215$). However, the lymphocyte infiltration surround the tumor was found significant between the two groups ($p=0.021$).

Conclusion: Vitamin C increases the lymphocytes count in the blood peripheral cells and lymphocytes infiltration surround the tumor in breast cancer stadium IIIB patients after the third neoadjuvant chemotherapy.

Keywords: Vitamin C, lymphocyte, breast cancer, chemotherapy.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tumor ganas payudara merupakan penyakit keganasan yang sering ditemukan di seluruh dunia, dengan insidensi relatif tinggi yaitu sebesar 20% dari seluruh penyakit keganasan.¹ Sekitar 600.000 kasus baru ditemukan setiap tahunnya dan 250.000 kasus di antaranya terdapat di negara berkembang, sedangkan 350.000 kasus lainnya di temukan di negara maju.² Tahun 2003, di Amerika didapatkan 180.000 kasus baru², sedangkan tahun 2005 didapatkan 211.240 kasus baru dengan jumlah kematian 40.410 wanita per tahun.³ Insiden tumor ganas payudara di Amerika adalah 100 per 100.000 penduduk per tahun.⁴ Tahun 2006, di Eropa, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) mendapatkan sebanyak 429.000 kasus baru, menempati urutan pertama di atas keganasan kolorektal dan paru. Kematian yang diakibatkan oleh tumor ganas payudara sebanyak 131.900 kasus, menempati urutan ketiga setelah keganasan paru dan kolorektal.⁵

Negara-negara Asia, angka kejadian tumor ganas payudara sebanyak 20 per 100.000 penduduk per tahun.⁴ BRK-IAPI (Badan Registrasi Kanker Ikatan Ahli Patologi Indonesia) tahun 1994 menunjukkan bahwa persentase tumor ganas payudara wanita menduduki urutan kedua tertinggi (11,77%) dari semua kasus tumor ganas di seluruh pusat Patologi Anatomi di Indonesia.⁶ Kejadian di Jawa Tengah pada tahun 2005 ditemukan sebanyak 3.884 kasus (36,83%) dari seluruh

kasus tumor ganas. Sebanyak 749 kasus atau 19,62% dari keseluruhan kasus tumor ganas payudara di Jawa Tengah ditemukan di Semarang pada tahun 2005.⁷ Data dari Departemen Kesehatan RI hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) menunjukkan bahwa angka kematian karena tumor ganas payudara meningkat, yaitu pada tahun 1972: 1,4%; tahun 1980: 3,4%; tahun 1986: 4,3%, dan pada tahun 1992: 4,4% serta tahun 2002 didapatkan 43,1%.⁸ Moningkey⁹ menyatakan bahwa 70% penderita kanker payudara ditemukan pada stadium lanjut.

Penderita keganasan payudara mengalami stress secara psikis maupun fisik, karena adanya tumor ataupun proses pengobatan yang dijalani. Salah satu modalitas pengobatan kanker payudara adalah kemoterapi.¹⁰⁻¹⁴ Pemberian kemoterapi yang dijalani oleh penderita keganasan payudara, mempunyai efek samping yang tidak menyenangkan yang menimbulkan stress.^{15,18} Stress sangat berpengaruh terhadap sistem imun tubuh melalui mekanisme neuroendokrin. Pada kondisi stress akan terjadi penurunan respons sistem imun. Adanya stress pada penderita kanker payudara akan memberikan efek negatif pada sistem imun.¹⁹

Kanker payudara seperti halnya dengan keganasan yang lain akan menstimulasi respon imun baik imunitas seluler maupun humoral. Hal ini disebabkan oleh karena sel kanker walaupun merupakan derivat sel tubuh sendiri, sel kanker akan mengekspresikan molekul yang dikenali oleh sistem imun sebagai benda asing. Pada dasarnya respon imun terdiri atas 3 fase yaitu: pengenalan, aktivasi dan efektor. Respon imun terutama tergantung pada tiga tipe sel yaitu makrofag, limfosit T, dan limfosit B. Sel makrofag berperan sebagai sel penyaji

antigen agar antigen dapat dikenali oleh sistem imun. Ada beberapa mekanisme efektor yang berperan terhadap sel kanker yaitu sel limfosit T sitotoksik (Cytotoxic Toxic Lymphocyte=CTL), *Natural Killer Cell* (NK Cell), sel makrofag dan antibodi⁸. Respon imun terhadap sel kanker dimulai dengan pengenalan antigen sel kanker oleh Limfosit T melalui mekanisme penyajian antigen oleh sel makrofag, selanjutnya akan terjadi aktivasi respon imun berupa proliferasi limfosit. Selanjutnya akan diaktifkannya mekanisme efektor untuk mengeliminasi sel kanker⁸.

Sel imun khususnya limfosit T sitotoksik (CTL), Sel NK (*Natural Killer*) dan makrofag berperan dalam *immuno surveillance* terhadap sel kanker. Setelah pengenalan sel kanker sebagai sel asing, sel-sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker^{8,9,10}. CTL dan sel NK membunuh sel target dengan cara mensekresikan perforin dan granzyme serta menggunakan reseptor famili TNF seperti Fas, TNF serta *TNF-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL) untuk menginduksi apoptosis^{9,10,11}.

Sistem imun sangat diperlukan untuk membunuh sel-sel kanker dan pertahanan tubuh terhadap antigen. Sel kanker dikenal tubuh sebagai benda asing, tubuh merespon dengan sel imun secara humoral maupun seluler.⁷ Sistem imun seluler yang berperan terletak pada sel T dan sel B. Sub populasi selT baik T helper maupun T sitotoksik berperan dalam mengeliminasi antigen tumor. Antigen tumor bersama MHC kelas II akan membentuk kompleks T helper (CD4) yang akan menghasilkan Th1 dan Th2 . Th1 terutama akan mensekresi *IFN γ* , *TNF α* dan *IL2* yang berperan dalam penghancuran sel tumor.⁸ CD4 berfungsi

sebagai dasar dari sistem imun/ *immune priming* dari sel CTL. CD4 T helper mempunyai peran yang penting dalam modulasi sistem imun terutama mempertahankan efek antitumor jangka panjang.⁹

Sebaran limfosit disekitar sel kanker akan menyebabkan penurunan kecepatan pertumbuhan sel kanker. Pada penelitian *in vitro* adanya sel imun disekitar sel kanker menyebabkan kematian sel kanker.¹⁰

Peranan sistem imun tersebut dapat ditingkatkan dengan pemberian imunostimulator yang dapat meningkatkan respon imunitas seluler. Saat ini telah tersedia imunostimulator di pasaran baik dalam bentuk obat maupun minuman suplemen yang dapat dengan mudah didapat. Salah satu vitamin yang seringkali diberikan dalam praktek adalah vitamin C. Beberapa penelitian melaporkan bahwa vitamin C dosis tinggi intravena yang diberikan pada berbagai kasus keganasan dapat meningkatkan survival rate maupun kualitas hidup penderita.²⁰⁻²³

Vitamin C sebagai imunostimulator, akan meningkatkan jumlah limfosit dan aktivitas fagositosis makrofag ; meningkatkan jumlah IgA, IgG, IgM; meningkatkan sintesis komplemen; sintesis interferon; dan sintesis prostaglandin PGE1.²⁴⁻³⁰

Asam askorbat akan mengalami oksidasi menjadi asam dehidroaskorbat dan akan menghasilkan H₂O₂.⁴⁴ Piknosis atau nekrosis merupakan suatu proses kematian sel yang diperantarai oleh H₂O₂ , dan disinilah peran vitamin C menjadi *pro-drug* H₂O₂²⁵

Pada penelitian ini ingin diteliti pengaruh pemberian vitamin C 2 gram yang di injeksikan selama 5 hari terhadap jumlah limfosit sel darah tepi dan

sebutkan limfosit di sekitar tumor pada penderita keganasan payudara yang menjalani pengobatan kemoterapi CAF III *neoadjuvant* karena dari berbagai penelitian tidak ada yang menyebutkan dosis nilai absolut pemberian vitamin C untuk meningkatkan jumlah limfosit yang menunjukkan masih kontroversinya pemberian dosis untuk keganasan payudara. Limfosit diteliti karena merupakan unit dasar terbentuknya respon imun dan mampu berdiferensiasi menjadi seri lainnya, juga karena berperan dalam mengenal sekaligus bereaksi dengan antigen. 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 meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag secara lebih efektif.²¹

1.2. Perumusan Masalah

- 1.2.1.** Apakah jumlah limfosit darah tepi pada penderita keganasan payudara yang mendapat vitamin C lebih banyak daripada yang tidak mendapat vitamin C ?
- 1.2.2.** Apakah sebutkan limfosit di sekitar jaringan kanker pada penderita keganasan payudara yang mendapat vitamin C lebih banyak daripada yang tidak mendapat vitamin C?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan umum

Membuktikan vitamin C sebagai imunostimulator terhadap imunitas seluler dengan banyaknya jumlah limfosit pada sel darah tepi dan sekitar jaringan tumor pada penderita keganasan payudara yang diberi injeksi vitamin C

Tujuan khusus

1. Membuktikan lebih banyak jumlah limfosit darah tepi penderita keganasan payudara dengan pemberian injeksi vitamin C 2gr/ hari selama 5 hari
2. Membuktikan lebih banyak jumlah limfosit sekitar jaringan kanker penderita keganasan payudara dengan pemberian injeksi vitamin C 2gr /hari selama 5 hari.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi bahan informasi tentang penggunaan vitamin C dalam terapi kanker payudara.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengelolaan kanker payudara pada manusia, dimana vitamin C dapat di gunakan sebagai suplemen terapi.

1.5. ORISINALITAS

Penulis	Judul / penerbit	Desain	Hasil
Yeom CH, Jung GC, Song KJ.	Changes of terminal cancer patients' health – related quality of life after high dose vitamin C administration. J Korean Med Sci 2007; 22: 7 – 11	Eksperimental	Ada peningkatan kualitas hidup (EORTC-QLQC30) sesudah pemberian vitamin C kombinasi intravena dan per oral dosis tinggi pada berbagai penderita keganasan stadium terminal
Guaiquil VH, Vera JC, Golde DW	Mechanism of vitamin C inhibition of cell death induced by oxidative stress in glutathione-depleted HL-60 cells. J Biol Chem 2001;276:40955-61	Eksperimental	Asam Dehidroaskorbat (DHA) akan dibawa keluar dari dalam sel untuk meredam aksi H ₂ O ₂ , sehingga mencegah kerusakan sel.
Padayatty SJ, Riordan HG, Hewitt SM, Katz A, Hoffer LJ, Levine M.	Intravenously administered vitamin C as cancer therapy: three cases. CMAJ. March 28,2006. 174(7). 937-42.	Eksperimental	Pemberian vitamin C intravena dosis tinggi dapat memperpanjang <i>survival rate</i> pada tiga kasus keganasan stadium terminal
Soeselo Daniel A, Handojo Djoko	Ukuran tumor, kadar Hb, dan jumlah lekosit pada penderita keganasan payudara yang menjalani kemoterapi + vitamin C oral.	Eksperimental	Terdapat pengecilan masa tumor sebesar 1,01 cm dibandingkan dengan yang hanya mendapat kemoterapi sebanyak tiga siklus saja.

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 tergandakan tersebut merupakan lokasi dari suatu proto-onkogen (misalnya C-erb B2), maka proto-onkogen tersebut akan ikut tergandakan 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

Pada kanker payudara anti-onkogen yang berperan adalah BRCA-1 (pada kromosom 17) dan BRCA-2 (pada kromosom 13) yang termasuk tumor marker. Saat 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}

Kanker payudara akan menstimulasi respon imun seluler maupun humoral. Hal ini disebabkan oleh karena sel kanker walaupun merupakan derivat sel tubuh sendiri, akan mengekspresikan molekul yang akan dikenali oleh sistem imun sebagai benda asing. Pada dasarnya respon imun terdiri atas 3 fase yaitu: pengenalan, aktivasi dan efektor. Respon imun terutama tergantung pada tiga tipe sel yaitu makrofag, limfosit T, dan limfosit B. Ada beberapa mekanisme efektor yang berperan terhadap sel kanker yaitu sel limfosit T sitotoksik (Cytotoxic Toxic Lymphocyte=CTL), *Natural Killer Cell* (NK Cell), sel makrofag dan antibodi.¹⁰ Respon imun terhadap sel kanker dimulai dengan pengenalan antigen sel kanker oleh limfosit T melalui mekanisme penyajian antigen oleh sel makrofag, selanjutnya akan terjadi aktivasi respon imun berupa proliferasi limfosit. Selanjutnya akan diaktifkan mekanisme efektor untuk mengeliminasi sel kanker.¹⁰

Sel imun khususnya limfosit T sitotoksik (CTL), Sel NK (*Natural Killer*) dan makrofag berperan dalam *immunosurveillance* terhadap sel kanker. Setelah pengenalan sel kanker sebagai sel asing, sel-sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker.¹⁰⁻¹² Sel makrofag menghancurkan sel kanker dengan

cara fagositosis. Sedangkan CTL dan sel NK membunuh sel target dengan cara mensekresikan perforin dan granzyme serta menggunakan reseptor famili TNF seperti Fas, TNF serta *TNF-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL) untuk menginduksi apoptosis.¹¹⁻¹³

Berbagai faktor risiko 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

Lima sampai sepuluh persen 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% risiko 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 risiko 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. Banyak penelitian menyatakan bahwa *growth promoters* terlibat dalam mekanisme *autokrin* dari tumor. Estrogen dan progesterin menyebabkan pertumbuhan dan proliferasi dari sel-sel payudara melalui *growth factor* seperti *transforming growth factor (TGF)-alpha*.

Pengaruh hormon ovarium terhadap perkembangan kanker payudara pada suatu penelitian setelah ablasi ovarium, didapatkan penurunan hingga 75% untuk terkena 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

Beberapa faktor lingkungan dan gaya hidup seperti : 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

2.1.4. Modalitas terapi kanker payudara

Literatur onkologi menyebutkan bahwa tujuan pengobatan kanker payudara adalah :^{11, 15-17}

1. Untuk menyembuhkan, yaitu dengan cara menghilangkan tumor. Upaya penyembuhan ini dapat dinilai dengan lamanya waktu bebas tumor (*long disease free*) dan lamanya bertahan hidup (*long overall survival*).
2. Untuk meningkatkan, mengembalikan kualitas hidup yang dapat dinilai secara fungsional, kosmetik dan penampilan sosial (sebagai terapi paliatif).

Modalitas terapi yang dapat digunakan adalah :¹⁰⁻¹⁴

1. Pembedahan, meliputi *Breast Conservation Surgery* (BCS), *simple mastectomi* (SM), *radical mastectomi* (RM), maupun *modified radical mastectomi* (MRM). Pembedahan merupakan suatu upaya terapi yang bersifat lokal.
2. Radioterapi, merupakan upaya terapi yang bersifat lokoregional.
3. Kemoterapi / sitostatika, bersifat sistemik
4. Hormon terapi, bersifat sistemik.
5. Molekular targeting terapi (biologi terapi).

Penggunaan modalitas terapi diatas tergantung pada tujuan pengobatan dan stadium kanker payudara.

2.2. Kemoterapi

Kemoterapi berarti menggunakan obat – obat untuk membunuh sel kanker.^{15,17,18,37} 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 :^{12,15-18,37}

1. Terapi *neoadjuvan*, diberikan sebelum pembedahan untuk mengecilkan ukuran tumor.
2. Terapi *adjuvan*, diberikan setelah pembedahan untuk mengurangi penyebaran atau kekambuhan.

Pada penderita kanker payudara, kemoterapi dapat diberikan sebagai *neoadjuvan* ataupun *adjuvan* terapi.^{1,10,14}

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^{15,17,37,38} dengan tujuan meningkatkan apoptosis sel.³⁹ Oleh karena itu, kemoterapi tidak hanya bekerja pada sel kanker tapi juga mempengaruhi sel normal. Kebanyakan obat – obat kemoterapi mempengaruhi satu atau beberapa komponen pada siklus sel. Mekanisme kerjanya adalah sebagai berikut :^{15,37}

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).^{15,19,37} Obat – obat kemoterapi berdasarkan cara kerja obat pada fase siklus sel dibedakan menjadi :¹⁴⁻¹⁹

1. *Alkylating Agen*. 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.
2. *Golongan antimetabolit*, bekerja secara spesifik pada fase sintesis DNA dan RNA. Termasuk dalam golongan ini adalah : Fluorouracil, methotrexate.
3. Obat kemoterapi yang membunuh sel kanker dengan cara *menghalangi mitosis*, secara inhibisi fungsi chromatin. Ada 2 golongan, pertama adalah golongan *topoisomerase inhibitors*, yaitu : Bleomycin, Doxorubicin. Golongan kedua adalah penghambat *microtubule*, yaitu : Doxetacel, Vincristin.
4. *Sebagai antibiotika* yang mengikat DNA secara ikatan kompleks, yang dikenal sebagai golongan Antracycline, yaitu : Mytocin C.
5. *Sebagai hormon* (estrogen, progestin, anti estrogen, androgen).
6. 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 efek samping.

2.2.2. Pemberian Kemoterapi

Prinsip memberikan obat kemoterapi, harus memperhatikan 5T dan 1W, yaitu Tepat indikasi, Tepat jenis obat, Tepat dosis, Tepat waktu, Tepat cara pemberian dan Waspada efek samping.¹⁴⁻¹⁷ 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 berbahaya adalah mielosupresi, akan pulih dalam waktu 21 – 28 hari paska kemoterapi. Oleh karena itu, biasanya lama interval istirahat adalah 3 – 4 minggu.^{14,37} Pemberian kemoterapi dapat dilakukan sebanyak 4 – 8 siklus, sesuai dengan tujuan pemberian kemoterapi tersebut.¹⁶

Lamanya pemberian kemoterapi ditentukan oleh 3 hal, yaitu tipe keganasan, obat yang digunakan, dan respon terhadap obat.^{14,16} Kemoterapi yang diberikan biasanya merupakan suatu kombinasi. Salah satu tujuan utama pemberian kemoterapi kombinasi adalah untuk mencegah timbulnya sel kanker yang resisten.¹⁵⁻¹⁷ Sampai saat ini tidak ada kemoterapi yang dapat membunuh sel kanker secara tuntas atau 100%. Setiap kali obat kemoterapi diberikan, paling

banyak 99,9% sel kanker yang mati. Dengan 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 :¹⁶⁻¹⁸

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)

Di bagian Bedah Onkologi RS dr. Kariadi Semarang, regimen kombinasi kemoterapi yang digunakan adalah CAF / CEF (Cyclofosfamide, Adryamicin / Epirubicin, Flurouracil).

2.2.3. Respons kemoterapi

WHO membedakan respon kemoterapi menjadi :¹⁵

1. *Complete Remission* (CR) : tumor menghilang, yang ditentukan melalui dua penilaian dengan selang waktu yang tidak kurang dari 4 minggu.
2. *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. Pengukuran dapat berupa :

2.1. bidimensional

2.1.1. lesi tunggal : ukuran tumor berkurang 50%

2.1.2. lesi multipel : jumlah tumor berkurang 50%

2.2. unidimensional : ukuran tumor berkurang 50% secara linier .

3. *No Change* (NC) : ukuran tumor berkurang < 50 % atau ada pertumbuhan sebanyak 25 %.

4. *Progression* (P) : ukuran tumor bertambah besar > 25 % atau ada pertumbuhan tumor baru.

2.2.4. Efek samping Kemoterapi

Obat – obat kemoterapi mempengaruhi semua sel yang membelah. Sel yang paling banyak mengalami kerusakan adalah sel yang mempunyai kemampuan proliferasi tinggi, seperti traktus gastrointestinal, sumsum tulang, dan folikel rambut.¹⁴⁻¹⁸

Penekanan pada sumsum tulang akan ditandai dengan adanya lekopenia, trombositopenia dan anemia.^{20-22,40} Dapat terjadi segera atau kemudian , dan lekosit termaksud di dalamnya limfosit memiliki waktu paruh 6 – 8 jam, sehingga akan tertekan lebih dahulu dibandingkan trombosit dan eritrosit. Trombosit memiliki waktu paruh 5 – 7 hari, sehingga trombosit akan tertekan pula kemudian. Eritrosit akan mengalami penekanan yang paling akhir, karena memiliki waktu paruh 120 hari. Obat – obat kemoterapi yang bekerja spesifik pada siklus sel, akan menyebabkan terjadinya penurunan jumlah lekosit segera dan akan diikuti oleh trombosit, mencapai nilai terendah pada hari ke-7 sampai dengan hari ke-14.

Diperlukan waktu kurang lebih tujuh hari untuk menaikkan kadar lekosit kembali. Kadar lekosit dan trombosit akan mencapai puncaknya pada hari ke-21 hingga ke-28 paska pemberian kemoterapi. Sedangkan obat – obat kemoterapi yang bekerja tidak spesifik pada siklus sel akan mempengaruhi sel pada fase istirahat (G_0) sehingga menyebabkan efek penekanan yang lambat, sehingga menyebabkan terjadinya lekopenia berkelanjutan hingga 4 – 6 minggu.⁴⁰

2.3. Peranan limfosit terhadap sel kanker

2.3.1. *Immunosurveillance* kanker

Immunosurveillance adalah mekanisme yang digunakan oleh tubuh untuk bereaksi melawan setiap antigen yang diekspresikan oleh neoplasma. Fungsi primer dari 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. Pada tikus yang kehilangan imunitas seluler dan terpapar agen onkogenik akan lebih cepat timbul tumor. Hal ini merupakan bukti mekanisme *immunosurveillance*. Sel NK, limfosit T sitotoksik dan makrofag paling berperan dalam *immunosurveillance* tumor.^{10,34,35}

2.3.2. *Immunological escape*

Walaupun ada sistem *immunosurveillance*, sel kanker dapat luput dari pengawasan sistem imun tubuh bila faktor-faktor yang menunjang pertumbuhan tumor lebih berpengaruh daripada faktor-faktor yang menekan tumor, sehingga

terjadi apa yang dinamakan *immunological escape*.³⁵ Faktor-faktor yang mempengaruhi luputnya tumor dari pengawasan sistem imun tubuh adalah sebagai berikut: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*)

Pada binatang yang diimunisasi, pemberian sel tumor dalam dosis kecil 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

Virus pada tikus dengan kanker mammae disekresi dalam air susunya, tetapi bayi tikus yang disusunya toleran terhadap tumor tersebut. Infeksi kongenital oleh virus yang terjadi pada tikus-tikus tersebut akan menimbulkan toleransi terhadap virus tersebut dan virus sejenis.

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

Tumor juga menghasilkan PG sendiri yang 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 padat.

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-regulate (Treg) 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 termasuk didalamnya limfosit pada dasarnya mengalami tiga fase yaitu kognitif, aktivasi dan efektor.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

Pada 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

Pada fase ini, imunogen tidak lagi berperan kecuali sebagai suatu target untuk dihancurkan oleh limfosit. Sebukan 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 kedalam sitoplasma dan inti sel.³⁹

Saat memproses 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}

2.3.3.1. 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), 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).^{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

2.3.3.2. 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

2.3.3.3. 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}

2.3.3.4. 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.

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}