



KONSEP DASAR

# BIOLOGI MOLEKULAR KANKER

PENDALAMAN *HALLMARK OF CANCER*

EDISI KE-2



Buku ini tidak diperjualbelikan.

dr. SARI EKA PRATIWI, M. Biomed.

KONSEP DASAR  
BIOLOGI MOLEKULAR KANKER  
PENDALAMAN *HALLMARK OF CANCER*

**EDISI KE-2**



Buku ini tidak diperjualbelikan.

## UU No 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta

### Fungsi dan Sifat Hak Cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

### Pembatasan Pelindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. Penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

### Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000,00 (seratus ratus juta rupiah).
2. Setiap orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

dr. Sari Eka Pratiwi, M. Biomed.

KONSEP DASAR  
BIOLOGI MOLEKULAR KANKER  
PENDALAMAN *HALLMARK OF CANCER*

**EDISI KE-2**



YAYASAN PENDIDIKAN  
CENDEKIA MUSLIM

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**KONSEP DASAR BIOLOGI MOLEKULAR KANKER  
PENDALAMAN *HALLMARK OF CANCER*  
EDISI KE-2**

**dr. Sari Eka Pratiwi, M. Biomed.**

Editor:  
**Jenni Tria Ananda**

Desainer:  
**Nur Aziza**

Sumber Gambar Kover:  
[www.canva.com](http://www.canva.com)

Penata Letak:  
**Jenni Tria Ananda**

Proofreader:  
**Tim YPCM**

Ukuran:  
**xii, 243 hlm, 15,5 x 23 cm**

ISBN:  
**978-623-8520-98-5**

Cetakan pertama:  
**Mei 2024**

Hak cipta dilindungi undang-undang  
Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau  
memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini  
tanpa izin tertulis dari Penerbit.

**Anggota IKAPI: 027/Anggota Luar Biasa/SBA/21  
YAYASAN PENDIDIKAN CENDEKIA MUSLIM**

Jorong Pale, Nagari Pematang Panjang, Kecamatan Sijunjung,  
Kabupaten Sijunjung, Provinsi Sumatra Barat – Indonesia 27554  
HP/WA: 0853-6336-7395

Website: [www.cendekiamuslim.com](http://www.cendekiamuslim.com)  
E-mail: [cendekiamuslimpress@gmail.com](mailto:cendekiamuslimpress@gmail.com)  
Marketplace: <http://store.cendekiamuslim.or.id/>

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**Teruntuk**

**Kedua buah hati tercinta, suami, orang tua,  
saudara, para guru, kolega,  
juga anak didik**

**Terima kasih**

Buku ini tidak diperjualbelikan.



# PRAKATA

*Alhamdulillahirabbil'aalamin*, segala puji syukur penulis haturkan kepada Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang, yang dengan karunia-Nya naskah buku ini dapat terselesaikan tepat waktu. Buku ini ditulis dengan tujuan memberikan pemahaman lebih dalam untuk mahasiswa kedokteran dan kesehatan di bidang kanker, terutama dari aspek biologi molekular. Perkembangan yang pesat dari bidang kedokteran molekular secara langsung berdampak positif dalam perkembangan berbagai penelitian di bidang kanker. Perlu kiranya mahasiswa kedokteran dan kesehatan mengikuti perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi terkait kedokteran molekular agar dapat bersaing di tingkat nasional maupun global. Sebagian besar buku serta karya tulis di bidang kanker berfokus pada diagnosis dan terapi. Namun, buku ini menitikberatkan pada proses terjadinya kanker dari perspektif biologi molekular, serta pemanfaatan ilmu biologi molekular dalam perkembangan biomarker maupun terapi target pada kanker.

Harapan penulis, buku ini dapat membuka wawasan mahasiswa serta peneliti yang tertarik di bidang kanker. Terima kasih penulis ucapkan kepada semua pihak, karena



telah memberikan kepercayaan dan kesempatan kepada penulis untuk menerbitkan buku ini, sehingga penulis termotivasi untuk lebih bermanfaat pada instansi dan negara. Serta kepada kedua orang tua, suami, anak-anak dan keluarga tercinta yang selalu mendukung penulis dengan tulus.

Penulis menyadari, masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam buku ini, sehingga penulis berharap pembaca berkenan untuk memberikan kritikkan dan saran yang konstruktif. Kritik merupakan perhatian agar dapat menuju perbaikan. Akhir kata, penulis berharap buku ini dapat membawa manfaat untuk seluruh pembaca.

Pontianak, Mei 2024

Penulis

# DAFTAR ISI

## Daftar Isi ----- ix

### **BAB I Pendahuluan ----- 1**

Kanker -----	3
Faktor Risiko Kanker -----	7

### **BAB II Genetik Dan Epigenetik ----- 31**

Mutasi -----	33
Genetik Kanker -----	39
Peran Epigenetik pada Perkembangan Kanker -----	45
Peran Mikro-RNA pada Kanker -----	51

### **BAB III *Hallmark of Cancer* ----- 65**

<i>Sustaining Proliferative Signalling</i> -----	72
<i>Evading Growth Suppressor</i> -----	81
<i>Resisting Cell Death</i> -----	91
<i>Enabling Replicative Immortality</i> -----	95
<i>Inducing Angiogenesis</i> -----	100
<i>Ability To Invade And Metastasis</i> -----	103



<i>Genome Instability And Mutation</i> -----	104
<i>Tumor-Promoting Inflammation</i> -----	111
<i>Reprogramming Energy Metabolism</i> -----	113
<i>Evading Immune Destruction</i> -----	124
<i>Unlocking Phenotypic Plasticity</i> -----	126
<i>Nonmutational Epigenetic Reprogramming</i> -----	131
<i>Polymorphic Microbiomes</i> -----	135
<i>Senescent Cells</i> -----	138
<b>BAB IV Imunologi Kanker -----</b>	<b>143</b>
Sistem Imun dan Kanker -----	145
<i>Immunosurveillance</i> dan <i>Immunoediting</i> -----	156
<b>BAB V Lingkungan Mikro Tumor dan</b>	
<b>Metastasis -----</b>	<b>161</b>
Lingkungan Mikro Tumor-----	163
<i>Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT)</i> -----	209
Metastasis -----	214
<b>BAB VI Kesimpulan -----</b>	<b>223</b>
<b>Daftar Pustaka -----</b>	<b>227</b>
<b>Glosarium-----</b>	<b>239</b>



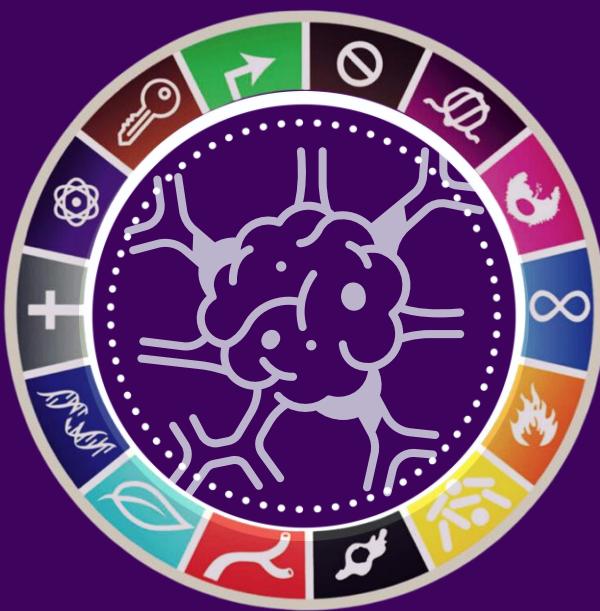
**Index ----- 241**

**Biografi Penulis----- 243**

Buku ini tidak diperjualbelikan.



Daftar Isi



Buku ini tidak diperjualbelikan.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

**“Apa Itu Kanker?”**  
**“Apa Faktor Risikonya?”**

Buku ini tidak diperjualbelikan.



Sudah sering mendapatkan pertanyaan di atas dari keluarga, tetangga, teman, atau dari diri sendiri? "Tak kenal maka tak dapat mendiagnosis. Tak dapat mendiagnosis maka tak dapat menentukan terapi yang tepat." Mungkin itulah kira-kira peribahasa yang dapat menggambarkan pentingnya seorang dokter memahami secara mendalam mengenai suatu penyakit. Tentu saja, dalam hal ini kita sedang membicarakan kanker sebagai topik utama yang harus kita pahami secara mendalam. Maka pada BAB ini kita akan mengupas tuntas mengenai konsep dasar kanker hingga terminologi yang berkaitan, agar kita dapat memahami pembahasan lebih lanjut pada BAB selanjutnya.

### Apa itu kanker?

Pada buku "*Kanker dan Perilaku Seksual Berisiko Pada Remaja*", sudah dibahas mengenai berbagai istilah atau terminologi yang merujuk pada pertumbuhan baru (**neoplasma**). **Tumor** atau **neoplasma** ini merupakan suatu pertumbuhan jaringan baru yang muncul di dalam tubuh dan menyebabkan kegagalan kendali normal dari jaringan setempat. Tumor ini dibedakan menjadi 2 berdasarkan sifatnya, yaitu **tumor jinak** (benigna) dan **tumor ganas** (maligna) yang disebut kanker. Perbedaan utamanya adalah pada sifat invasif dan kemampuannya untuk bermetastasis



atau berpindah pada organ yang lebih jauh. Tumor jinak umumnya hanya tumbuh terbatas dan bersifat lokal, pertumbuhan lambat, serta tidak ada infiltrasi pada jaringan sekitar. Sebaliknya, tumor ganas dapat menginvasi jaringan sekitar, dan dapat bermetastasis pada organ yang jauh. (1)

Kanker saat ini menjadi salah satu penyakit tak menular yang menyebabkan cukup banyak kematian. Meminjam istilah yang disebutkan oleh Siddhartha Mukherjee pada bukunya yang berjudul *The Emperor of All Maladies*, "kanker adalah sesuatu yang melahap segala aspek kehidupan kita."(2) Bisa jadi, hal ini benar. Sejenak kita bayangkan seorang pasien yang mengalami kanker yang kehidupannya dikacaukan oleh penyakit ini. Tidak hanya dari sisi kesehatan fisik, tapi mental, sosial, hingga finansial mereka pun ikut diporak-porandakan oleh penyakit ini.

Kanker merupakan kumpulan penyakit yang dicirikan dengan pertumbuhan tak terkendali, invasif, dan bermetastasis

Jadi, apakah kanker itu?

Kanker bukanlah satu penyakit, tapi merupakan suatu **kelompok penyakit** yang dicirikan dengan pertumbuhan sel tak terkendali disertai invasi dan sebaran sel-selnya dari tempat asal menuju jaringan sekitar dan bagian lain dari tubuh. Terdapat beberapa klasifikasi untuk membedakan asal dari sel yang berubah menjadi kanker ini. Kanker yang berasal dari sel epitel

(mencakup lebih dari 85% kanker) disebut dengan karsinoma. Sementara sarkoma adalah sebutan untuk jenis kanker yang berasal dari jaringan mesenkim, sebagai contoh tulang dan otot. Adenokarsinoma, adalah sebutan untuk kanker yang berasal dari sel-sel kelenjar, contohnya kelenjar payudara. (3,4)

Pada awal kemerdekaan Indonesia, kanker hanya menempati urutan ke 9 hingga 10 dari jenis penyakit penyebab kematian. Sementara, penyakit infeksi, tuberkulosis dan penyakit neonatal (bayi baru lahir) merupakan penyebab utama kematian. Akan tetapi kematian akibat kanker naik drastis dengan menempati urutan ke-3 pada tahun 1970-an. Kejadian serupa juga dialami beberapa provinsi di negara Asia lainnya seperti Fujian, Shanghai, Zhejiang, dan Jiangshu.(1) Bagaimana dengan epidemiologi kanker saat ini? Pada tahun 2013, didapatkan prevalensi penderita kanker pada semua kelompok umur di Indonesia adalah sebesar 1,4‰, dengan prevalensi kanker tertinggi terdapat pada provinsi DI Yogyakarta, disusul oleh provinsi Jawa Tengah dan Bali.(5)

Pola persebaran jenis kanker pada laki-laki dan perempuan memperlihatkan adanya perbedaan. Pada laki-laki, kanker yang banyak ditemukan adalah kanker pada prostat, paru, dan kolorektal. Sementara pada perempuan sering kali ditemukan kanker payudara, paru, dan kolorektal.



Begitu pula pola persebaran kanker pada negara maju dan berkembang, memperlihatkan adanya perbedaan yang umumnya terkait dengan pola hidup masyarakatnya. Di Amerika Serikat kanker paru, kanker payudara pada perempuan, prostat dan kolorektal ditemukan pada lebih dari 50% kasus kanker dan menjadi penyebab utama kematian. Namun, kanker paru, perut, dan kanker hati pada laki-laki, serta kanker payudara, serviks dan paru pada perempuan merupakan kanker yang paling banyak dijumpai di negara-negara berkembang.(6)

## FAKTOR RISIKO KANKER

**“Apa Saja Faktor Risiko Kanker?”**

**“Apa Itu Agen Karsinogen?”**

Setelah mengetahui definisi kanker, penting bagi kita mengetahui faktor-faktor risiko berkembangnya penyakit ini. Mengapa hal ini perlu? Dengan memahami faktor risiko, maka seorang dokter akan dapat dengan baik memberikan edukasi kepada masyarakat. Sehingga diharapkan hal ini menjadi tindakan preventif primer dalam menurunkan angka kejadian dan kematian akibat kanker.

Terdapat berbagai faktor yang memengaruhi perkembangan kanker. Faktor risiko ini digolongkan menjadi faktor intrinsik (tak dapat dimodifikasi) dan non-intrinsik (dapat dimodifikasi) yang terutama diperankan oleh faktor genetik dan lingkungan. Dibandingkan dengan faktor genetik, faktor lingkungan merupakan faktor yang dominan. Faktor risiko terbanyak yang menyebabkan kematian akibat kanker berbeda pada negara-negara di dunia. Merokok merupakan faktor risiko terbesar penyebab kematian akibat kanker di dunia, negara berpenghasilan rendah-menengah, maupun negara berpenghasilan tinggi. Pada penduduk di negara berpenghasilan rendah-menengah, konsumsi alkohol, rendahnya konsumsi buah dan sayur, serta infeksi virus human papilloma (HPV) menyebabkan lebih banyak



kematian akibat kanker dibandingkan pada penduduk di negara berpenghasilan tinggi. Namun, merokok serta kelebihan berat badan dan obesitas merupakan faktor risiko yang lebih dominan pada penduduk di negara berpenghasilan tinggi.(5,7)

Tabel. Klasifikasi faktor risiko kanker (7)

Faktor risiko Intrinsik	Faktor risiko non-intrinsik/ ekstrinsik	
	Endogen	Eksogen
Eror acak pada replikasi DNA  (Tak dapat dimodifikasi)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Penuaan</li> <li>• Kecenderungan genetik</li> <li>• Sistem perbaikan DNA</li> <li>• Hormon</li> <li>• Faktor pertumbuhan</li> <li>• Inflamasi</li> <li>• Lain-lain</li> </ul> <p>(Dapat dimodifikasi parsial)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Radiasi</li> <li>• Karsinogen kimia</li> <li>• Virus penyebab tumor</li> <li>• Pola hidup buruk, contohnya merokok, kurang aktivitas, nutrisi tidak seimbang</li> </ul> <p>(Dapat dimodifikasi)</p>

Sel manusia tentunya tidak luput dari serangan lingkungan baik itu disebabkan oleh adanya infeksi oleh virus, kerusakan DNA akibat berbagai proses, kegagalan perbaikan DNA yang rusak, mutagen, dan karsinogen termasuk sinar UV, racun, dan bahan kimia. Berbagai serangan ini dapat menyebabkan timbulnya kanker. Agen

yang dapat menyebabkan kanker disebut dengan karsinogen, sementara agen yang menyebabkan perubahan DNA atau mutasi disebut dengan mutagen.(3,4,6-8)

## **Agen karsinogen**

Karsinogen di lingkungan dapat ditemukan dimana saja, seperti di tempat kerja, makanan, dan benda-benda di sekitar kita sehari-hari. Seseorang dapat terpapar pada karsinogen berupa sinar ultraviolet (UV), dan asap ketika keluar rumah. Ataupun mendapatkan karsinogen ketika meminum air sumur yang mengandung arsen. Di tempat kerja, seseorang dapat terpapar pada karsinogen seperti asbestos. Bahkan di rumah sekalipun dapat terpapar karsinogen seperti daging panggang, makanan tinggi lemak dan alkohol. (3,6-8) Di bawah ini akan dibahas satu persatu agen karsinogen berdasarkan jenisnya.

### **1. Radiasi sebagai Karsinogen**

Terdapat dua bentuk radiasi yaitu yang berasal dari gelombang energi seperti sinar gamma ( $\gamma$ ) dan sinar X, dan yang berasal dari partikel atomik seperti partikel alpha dan beta yang terdapat pada atom radioaktif. Berbagai bentuk radiasi ini dapat berperan sebagai karsinogen dengan menyebabkan kerusakan DNA. Banyaknya kerusakan yang terjadi akibat penyerapan radiasi oleh tubuh inilah yang berbahaya. Jumlah



kerusakan akibat radiasi ditentukan oleh partikel radiasi mana yang melepaskan energi. Ketika suatu partikel melepaskan energi dengan rata-rata kecepatan tinggi, maka kerusakan yang terjadi pada jaringan manusia akan lebih banyak dibanding dengan partikel yang melepaskan energi secara lambat. (3,9)

Radiasi ion (mencakup partikel alpha, beta, dan gelombang gamma) terbukti dapat merusak DNA secara langsung maupun tak langsung. Ion ini merusak DNA secara langsung dengan menyebabkan ionisasi pada atom penyusun DNA. Secara tidak langsung, radiasi ion berinteraksi dengan molekul air (radiolisis) dan membentuk ROS (*reactive oxygen species*) yang dapat berinteraksi dengan DNA dan menyebabkan kerusakan di dalam sel. (3,9)

Sebuah penelitian terhadap korban selamat dari bom atom di Jepang memperlihatkan tiga poin penting, yaitu: kanker paling sering akibat radiasi ion adalah leukemia; usia saat terpapar merupakan faktor terpenting, umumnya yang terdampak adalah mereka yang terpapar saat usia anak; dan terjadi peningkatan risiko tumor solid. Hal ini pun diperkuat dengan kenyataan bahwa seorang ahli fisika asal Polandia, Marie Curie, yang mengabdikan hidupnya untuk mempelajari

zat radioaktif diketahui meninggal akibat leukemia pada usia 67 tahun.(3)

Radiasi Ultraviolet (UV) dari matahari juga merupakan salah satu karsinogen yang cukup kuat dan merupakan penyebab utama kanker kulit. Seperti yang kita ketahui, terdapat tiga jenis sinar UV ini, yaitu UVA (panjang gelombang 320-380nm), UVB (panjang gelombang 290-320nm), dan UVC (panjang gelombang 200-290nm). Di antara ketiga jenis ini, UVB merupakan karsinogen paling kuat. UVB secara langsung menyebabkan *photoproducts*, yaitu *cyclobutane pyrimidine dimers* dan *pyrimidine pyrimidone photoproducts*. Adanya dimer ini, menyebabkan DNA polimerase tidak dapat membaca cetakan DNA (*template*) dan menginduksi mutasi. Dimer pyrimidine ini merupakan marker molekular yang khas pada kanker kulit. (3,7)

## 2. Karsinogen Kimia

Cukup banyak zat kimia yang ada di lingkungan sekitar serta diet kita yang berperan sebagai karsinogen dan mutagen. Karsinogen kimia ini sebagian dapat berinteraksi langsung dengan DNA, sementara yang lainnya perlu dimetabolisme terlebih dahulu agar menjadi aktif. Suatu enzim di dalam tubuh kita, sitokrom P450, yang terlibat dalam metabolisme zat kimia di hepar



berperan penting dalam aktivasi karsinogen ini. Adanya polimorfisme dan variasi ekspresi enzim ini menyebabkan adanya perbedaan respons individu terhadap beberapa karsinogen kimia. Sebagai contoh, adanya polimorfisme salah satu enzim P450 yaitu CYP1A1 menyebabkan variasi karsinogen aktif di antara para perokok.(3,7)

Di antara banyak agen karsinogen kimia terdapat 4 kelompok utama penyebab kanker, yaitu *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAHs), *aromatic amines*, *nitrosamines*, dan *alkylating agents*. Agen karsinogen ini menyebabkan terbentuknya DNA *adducts* yang dapat menginisiasi mutasi dan karsinogenesis. (3)

DNA *adduct* merupakan bagian DNA yang berikatan secara kovalen pada sebuah zat kimia seperti *safrole*, *benzopyrebedio epoxide*, *acetaldehyde*. Ketika suatu zat kimia berikatan dengan DNA, tentu akan menyebabkan replikasi berjalan tidak normal. Proses inilah yang merupakan salah satu penyebab mutasi, dan jika hal ini terus berlangsung dan perbaikan DNA gagal terjadi maka akan timbul pertumbuhan sel kanker. (10)

Faktor risiko berupa konsumsi rokok dan alkohol berkontribusi sangat besar terhadap kejadian kanker. Telah diketahui bahwa rokok mengandung berbagai zat yang berpotensi membentuk DNA *adducts*, seperti

*polynuclear aromatic hydrocarbons* seperti BPDE, *aka-arenes* seperti *dibenzo-acridine*, *N-nitrosamines*, *aromatic amines*, *aldehydes*, *arsenic*, *nickel*, dan *chromium*. Merokok menjadi faktor risiko utama kanker yang menyebabkan 20% kematian akibat kanker di dunia, dan 70% kematian akibat kanker paru di seluruh dunia terutama pada negara berpenghasilan rendah. Di Amerika Serikat, rokok berkontribusi dalam menyebabkan munculnya kanker mulut, faring, laring, esofagus (kerongkongan), pankreas, kandung kemih dan menyebabkan lebih dari 90% kematian akibat kanker paru. (3,6-8,10,11)

Konsumsi alkohol berlebihan menyebabkan lebih kurang 351.000 kematian akibat kanker pada setiap tahunnya. Konsumsi alkohol meningkatkan kejadian risiko kanker orofaring termasuk bibir, laring, esofagus dan menyebabkan pula sirosis hati alkoholik (penciutan hati akibat alkohol) serta kanker hati. Konsumsi alkohol dan rokok secara bersama-sama akan meningkatkan risiko terjadinya kanker pada saluran napas atas dan saluran cerna. (3,6,8)

### 3. Agen Infeksi

Sekitar 15% penyebab langsung maupun tidak langsung kanker adalah infeksi, terutama di negara-negara berkembang. Terdapat berbagai virus onkogenik yang



terlibat dalam perkembangan kanker, kita bahas beberapa dari virus onkogenik berikut ini. (3,6–8,12)

a. *Human papilloma virus (HPV)*

Virus ini merupakan agen infeksi yang menyebar melalui kontak seksual dan berperan dalam tingginya kasus kanker serviks, penis, anus, dan kanker kepala dan leher. Diketahui pula bahwa penularan HPV melalui hubungan seksual, menyebabkan 250.000 kematian akibat kanker setiap tahun. (13)

Genom HPV mengkode gen seperti E1, E2, E4, E5, E6, dan E7, serta L1 dan L2 yang ekspresinya tergantung pada siklus hidup virus itu sendiri. Pada golongan HPV risiko tinggi, onkoprotein berupa E5, E6, dan E7 berperan penting dalam perkembangan malignansi dengan kemampuan antiapoptosisnya. E5 melindungi sel dari apoptosis dengan dua mekanisme, yaitu menghambat kematian sel yang dimediasi reseptor apoptosis maupun yang terinduksi oleh stres pada sel. Sementara E6 menghambat apoptosis dengan mendegradasi atau mengaktivasi p53, sehingga terjadi instabilitas kromosom yang meningkatkan kemungkinan sel terinfeksi berkembang menjadi kanker. Onkoprotein lainnya, E7, merupakan onkoprotein yang penting dalam patogenesis virus dan transformasi seluler. Target

utama protein ini adalah pRb dan protein terkait lainnya yaitu p107 dan p130. Degradasi pRb oleh E7 akan mengaktifasi beberapa regulator transkripsi seperti E2F, Elf-1, dan *cyclin-dependent kinases* (CDK), sehingga sel memasuki siklus sel dan tidak dapat dikendalikan. (14–16)

Virus ini dapat menghindari respons imun *host* dan sangat lambat untuk hilang dari mukosa. Strategi yang digunakan oleh HPV untuk menghindari respons imun bertujuan untuk menekan inflamasi, dengan tidak menyebabkan sitolisis, tidak ada kematian sel sitopatik, dan tentu saja tidak ada peradangan. Selain itu, virus ini menekan respons IFN, resistan terhadap apoptosis yang dimediasi sistem imun, dan menghambat presentasi antigennya pada *antigen-presenting cells* (APCs). Pengenalan APC ini terhambat akibat adanya gangguan rekognisi oleh *pattern recognition receptors* (PRRs, seperti *Toll-like receptors* (TLRs) dan *retinoic acid-inducible gene I* (RIG-I)-like receptors), serta menghambat produksi *major histocompatibility complex* (MHC) kelas I dan II aktif. (14–16)

b. Virus Hepatitis B

Virus hepatitis B (HBV) berkaitan erat dengan kejadian hepatokarsinoma (HCC), yang merupakan



salah satu keganasan paling sering ditemukan secara global. Lebih dari 350 juta individu yang terinfeksi HBV kronis, dan menyebabkan lebih dari 1 juta kematian per tahun. (17–19)

Infeksi persisten HBV berdampak pada lemahnya respons imun adaptif, dengan respons sel T tidak efisien atau toleransi imun, sehingga sel *host* gagal mengeliminasi HBV. Hal ini diperparah dengan adanya kerusakan yang dimediasi respons imun dan proses regenerasi sel hepar, yang berkontribusi signifikan pada progresi sirosis hepar dan HCC. Selain itu, faktor dari virus yang mencakup mutagenesis insersional genom virus dan ekspresi onkoprotein virus seperti HBx dan mutan pre-S, berperan penting pada tumorigenesis terkait HBV. (17–19)

HBx merupakan transaktivator gen yang mengaktifasi berbagai promoter virus dan selular, serta protoonkogen seperti c-jun, c-fos, dan c-myc. Ia juga mengaktifasi faktor-faktor transkripsi seperti NFkB, *activator protein-1*, dan mengaktifasi faktor transkripsi/cAMP-responsive element untuk berikatan dengan faktor transkripsi di nukleus. (17–19)

Pre-S mutan diketahui berhubungan dengan tumorigenesis HBV, dimana antigen permukaan ini mengalami delesi baik pada pre-S1 maupun pre-S2.

Ditemukannya pre-S mutan menjadi penanda prediktif HCC dan beratnya penyakit hepat. Mutan pre-S ditemukan berakumulasi di Retikulum Endoplasma (RE) hepatosit, yang menginduksi stres RE. Adanya stres RE menyebabkan hepatosit mengekspresikan protein caperon RE, siklookksigenase-2, dan *vascular endothelial growth factor-A* (VEGF-A) untuk mempertahankan diri. RE stres juga menyebabkan kalsium dilepaskan dari RE, sehingga meningkatkan stres oksidatif sel dan terjadi kerusakan DNA.(17-19)

c. *Epstein-Barr Virus* (EBV)

EBV merupakan golongan herpes-virus pertama yang diidentifikasi berhubungan dengan kanker pada manusia, dan menginfeksi sebagian besar manusia secara global. Infeksi laten dari EBV ini menimbulkan transformasi seluler yang dimediasi oleh beberapa protein yaitu 6 antigen nukleat dan 3 *latent membrane proteins* (LMPs). Protein virus ini mencetuskan onkogenesis dengan menghambat apoptosis, meningkatkan instabilitas genomik, dan menginduksi proliferasi serta migrasi sel yang tak terkendali.(20-22)

Uniknya, EBV mampu menghindari pengenalan oleh sistem imun manusia, sehingga dapat meningkatkan onkogenesis dan progresivitas tumor.



EBV dapat menghambat efek anti-EBV oleh interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) pada sel B, memediasi perubahan produksi beberapa sitokin antivirus seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6, serta dapat menirukan karakteristik sitokin IL-10 yang menyebabkan virus ini dapat "kabur" dari respons imun *host*. Virus ini menjadi salah satu penyebab kanker sel epitel, limfosit, dan mesenkimal. (20-22)

d. Human Herpes Virus-8 (HHV-8)

HHV-8 merupakan virus onkogenik yang berhubungan dengan kejadian sarkoma Kaposi (KS) dan kelainan limfoproliferatif yaitu limfoma efusi primer dan penyakit multisentrik *Castleman's*. KS sering kali ditemukan pada pasien terinfeksi HIV. Transmisi HHV berkaitan erat dengan perilaku seksual pada laki-laki khususnya, terutama pada homoseksual dan jarang pada perempuan heteroseksual. Pada penelitian univariat dan multivariat ditemukan adanya korelasi transmisi HHV-8 selama tahun pertama infeksi HIV dan perilaku seksual (laki-laki berhubungan seks dengan laki-laki, LSL).(23)

Terdapat keterkaitan pula antara sistem imun individu dan virus, yang menentukan keberhasilan virus menghindar dari respons imun. Terdapat dua fase infeksi HHV-8, yaitu fase laten dan litik. Fase laten

merupakan fase utama yang menyebabkan keberhasilan virus menghindari sistem imun dan meningkatkan infeksi menetap si virus. Sementara pada fase litik (reaktivasi), virus memproduksi lebih banyak genom virus untuk dapat dikemas ke dalam virion, dan melisiskan sel yang terinfeksi. (23-25)

Beberapa onkoprotein virus ini berperan penting dalam tumorigenesis KS. Contohnya, siklin-D virus HHV-8 menginaktivasi protein Rb, yang normalnya mengatur progresi kanker melalui *checkpoint* fase G1 dari siklus sel; serta LANA (*latency-associated nuclear antigen*) berinteraksi dan menginaktivasi p53, suatu regulator transkripsional utama pertumbuhan sel. Selain itu, HHV-8 menyandi dua protein yang secara independen menghambat aktivitas protein penekan tumor—yaitu FLIP virus (protein penghambat FLICE) dan Bcl-2 virus protein)—yang bekerja dengan menghambat apoptosis. (23,25)

#### 4. Reaksi Karsinogenik Endogen

Terdapat beberapa kondisi yang berperan sebagai faktor predisposisi timbulnya kanker, yaitu **inflamasi (peradangan) kronis, lesi prekursor** dan **kondisi imunodefisiensi**. Kondisi peradangan kronis maupun adanya lesi pada suatu lokasi tertentu merupakan faktor yang berperan penting pada peningkatan replikasi



(pembelahan) sel, sehingga kedua kondisi ini dapat memicu pertumbuhan dan perkembangan tumor ganas. Sementara itu, kondisi imunodefisiensi merupakan suatu kondisi dimana sistem pertahanan tubuh tidak dapat berfungsi dengan baik, sehingga kondisi ini memungkinkan terjadinya kanker yang diinduksi oleh berbagai virus terutama virus onkogenik. (6,25)

## Obesitas

Berbagai faktor risiko terjadinya kesakitan dan kematian akibat kanker telah diidentifikasi, di antaranya adalah indeks masa tubuh yang tinggi, kurangnya konsumsi buah dan sayur, tingginya asupan lemak, dan kurangnya aktivitas fisik yang mengakibatkan 274.000 kematian akibat kanker setiap tahun.(3,6,8,26,27)

Sifat onkogenik pada lemak berhubungan erat dengan kejadian kanker. Peningkatan asupan lemak jenuh dan peroksida lipid makanan telah diketahui berkaitan dengan kanker payudara dan kanker lainnya. Sementara itu, asam lemak tak jenuh seperti omega 3 dan 6, dapat meningkatkan respons tubuh dalam menghambat onkogenesis. (26,27)

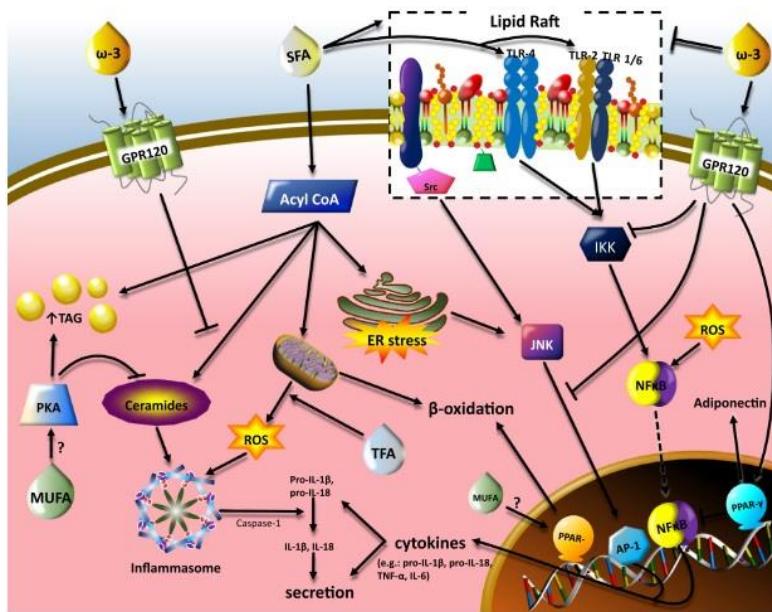
Hubungan antara lemak dan kanker dapat dijelaskan melalui jalur aktivasi inflamasi oleh lipid. Sistem imun terdiri dari berbagai tipe sel dan mediator

peradangan yang berperan dalam pertahanan terhadap infeksi serta cedera jaringan. Pada respons normal, terjadi netralisasi pada proses respons imun sehingga peradangan mengalami resolusi dan terbentuk kembali homeostasis dari jaringan. Namun, adanya inflamasi berlebihan dan kegagalan pengaturan inflamasi akan menyebabkan proses resolusi terhambat, dan terjadi *chronic low-grade systemic inflammation* (CLGSI, inflamasi kronik sistemik derajat rendah) yang diketahui berkontribusi pada patofisiologi berbagai penyakit metabolismik seperti penyakit perlemakan hepar non-alkoholik, resistensi insulin, dislipidemia, hipertensi, dan kanker. (26,28)

Asam lemak jenuh (*saturated fatty acid, SFA*) menyebabkan stres retikulum endoplasma (RE) dan membentuk *reactive oxygen species* (ROS), yang merupakan sinyal pencetus jalur peradangan seluler dan meningkatkan produksi serta sekresi sitokin pro-inflamasi pada sel-sel imun, adiposit, miosit, sel beta pankreas, dan hepatosit. Selain itu, pada *lipid rafts* (pada membran sel), SFA meningkatkan klaster tyrosine kinase, sehingga hal ini meningkatkan aktivasi c-Jun N-terminal kinase (JNK), dan sebagai konsekuensinya terjadi fosforilasi faktor transkripsi AP-1 dan menghasilkan



upregulasi ekspresi gen terkait inflamasi dan apoptosis sel. (26,28)



Gambar 1.1. Jalur molekular asam lemak memodulasi inflamasi. AP, *activator protein transcription factor*; ER, *endoplasm reticulum*; GPR, *G protein-coupled receptor*; IKK, *inhibitor of kappa B kinase*; IL, *interleukin*; IκB, *inhibitor of kappa B*; JNK, *c-Jun N-terminal kinase*; MUFA, *monounsaturated fatty acids*; NFκB, *nuclear factor kappa B transcription factor*; PKA, *protein kinase A*; PPAR, *peroxisome proliferator-activated receptor*; ROS, *reactive oxygen species*; SFA, *saturated fatty acids*; TAG, *triacylglycerol*; TFA, *trans-unsaturated fatty acids*; TLR, *Toll-like receptor*; TNF, *tumor necrosis factor*; u-3, *polyunsaturated fatty acids omega-3*.(26)

Lebih kurang 40% hingga 60% pasien kanker tergolong kelebihan berat badan dan obesitas. Kondisi ini diperkirakan berkaitan dengan prognosis pasien yang memengaruhi hasil terapi sistemik kanker. Terdapat pula

hubungan status gizi berlebih dengan peningkatan risiko kanker kolorektal, payudara pos-menopause, endometrium, ginjal, esofagus, hepat, pankreas, dan kanker tiroid. Hubungan obesitas dan kanker terutama dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti disregulasi faktor pertumbuhan yang diinduksi oleh gangguan metabolismik, tingginya kadar adipokin sirkulasi, dan sitokin yang disekresi oleh jaringan adiposa yang mengalami peradangan pada pasien obesitas, serta adanya peningkatan estrogen oleh jaringan adiposa. (28,29)

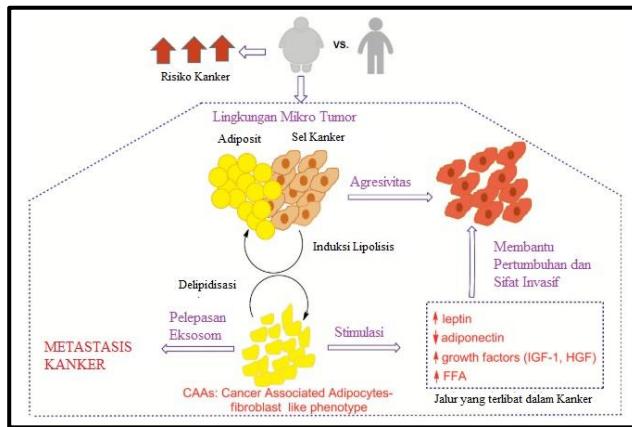
Letak berdekatan antara jaringan adiposit dan sel kanker, tampaknya dipengaruhi oleh kelebihan kalori yang tidak digunakan, sehingga menginduksi modifikasi fenotipe dan fungsi adiposit menjadi *cancer-associated adipocytes* (CAA), hal ini memungkinkan lipolisis oleh sel kanker. Jumlah dan ukuran adiposit menurun, memperlihatkan adanya proses delipidisasi dan de-diferensiasi menjadi *fibroblast-like phenotype*. Transformasi adiposit menyebabkan perubahan total fungsi sekretorik yang terlibat dalam sistem endokrin, metabolismik, dan imun. (27)

Peningkatan pelepasan asam lemak bebas mengubah kadar adipokin dan sitokin pro-inflamasi, faktor pertumbuhan, dan hormon. Pemberian sinyal pada beberapa tipe kanker ditopang oleh adipokin yang



disekresi oleh sel adiposit, terutama leptin, adiponektin, estrogen, *insulin-like growth factor 1* (IGF-1), dan *hepatocyte growth factor* (HGF). (27,30)

Leptin dapat menstimulasi proses sinyal yang menginduksi JAK2/STATs, MAPK/ERK, PI3K/AKT, dan jalur PKC, JNK, p38MAPK, dan AMPK pada berbagai tipe sel. Leptin dapat pula menginduksi stimulasi monosit menjadi makrofag, menyebabkan inflamasi kronis yang berhubungan dengan obesitas. Leptin meningkatkan ekspresi protein anti-apoptosis, penanda inflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-6), dan faktor angiogenik (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), yang kesemuanya terlibat dalam pertahanan sel kanker, proliferasi, dan migrasi. Terdapat pula kaitan antara kadar insulin-glukosa dan interaksinya pada reseptor spesifik, seperti IGF-1 dan HGF terhadap peningkatan risiko kanker tertentu seperti kanker ovarium dan payudara, yang terutama melalui aktivasi jalur PI3K/AKT dan MAPK. (27)



Gambar1.2. Hubungan metabolik antara jaringan adiposa dan kanker. Panah ↑ menunjukkan peningkatan, panah ↓ menunjukkan penurunan.(27)

Sebaliknya, adiponektin berkorelasi terbalik dengan massa tubuh dan kanker, menyebabkan apoptosis dan mengurangi vaskularisasi tumor. Sitokin ini memudulasi berbagai jalur persinyalan, mendesak fungsi fisiologis dan protektif melalui reseptor AdipoR1 dan AdipoR2. Sitokin adiposit ini juga dapat menghambat angiogenesis, proliferasi sel endotelial yang diinduksi oleh FGF2 (*fibroblast growth factor 2*), serta menghambat migrasi sel endotel oleh VEGF. Adiponektin menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel kanker, dengan intervensi beberapa jalur seperti AMPK, MAPK, dan PI3K/AKT, jalur ERK1/2-MAPK, dan GSK3/katenin, juga menginduksi fase istirahat pada siklus sel. Pada pasien yang mengalami obesitas, terjadi disregulasi sekresi



adiponektin, sehingga akan mengganggu fungsinya untuk mencegah pertumbuhan sel kanker. (27,31)

## Usia

Pada umumnya, kanker terjadi pada usia lanjut (lebih dari 55 tahun). Meningkatnya risiko kanker pada usia tua diperkirakan akibat penumpukan mutasi sel somatik, sehingga memungkinkan terjadinya neoplasma. Selain itu, penurunan respons sistem imun pada usia lanjut juga berperan besar dalam proses perkembangan kanker. Namun begitu, kanker pada anak-anak juga cukup sering ditemukan, yaitu lebih dari 10% kematian anak berusia di bawah 15 tahun di Amerika Serikat disebabkan oleh kanker. Jenis-jenis kanker yang timbul pada anak berbeda dengan jenis kanker yang mengenai orang dewasa. Kanker yang menyebabkan 60% kematian pada anak akibat kanker adalah leukemia dan kanker sistem saraf. Sedangkan kanker yang umum pada bayi baru lahir dan anak adalah neuroblastoma, tumor Wilms, retinoblastoma, leukemia akut dan rhabdомiosarkoma. (6)

Pada beberapa jenis kanker terdapat gen-gen yang diturunkan dalam keluarga yang umumnya terjadi mutasi pada gen penekan tumor di sel-sel *germline*. Namun, pada kanker yang terjadi secara acak, terdapat peran utama dari lingkungan dalam proses

patogenesisisnya. Membedakan apakah suatu kanker merupakan turunan atau bukan turunan pun sangat sulit. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat interaksi antara faktor genetik dan non-genetik yang sangat kompleks terutama pada jenis kanker yang terjadi akibat pengaruh dari berbagai gen.(6)

Buku ini tidak diperjualbelikan.



## Notes

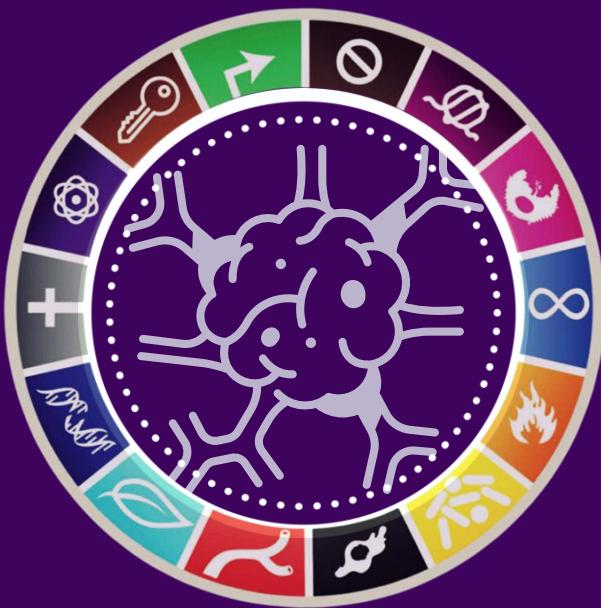
### *Highlight:*

- Pengertian Kanker
- Klasifikasi
- Tumor Jinak Vs Ganas
- Faktor Risiko Kanker
- Peran Genetik Dan Lingkungan Terhadap Progresi Kanker

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## Notes

Buku ini tidak diperjualbelikan.



Buku ini tidak diperjualbelikan.

# **BAB II**

## **GENETIK DAN**

## **EPIGENETIK**

**“Mengenal Mutasi”**

**“Bagaimana Genetik dan Epigenetik Berperan dalam  
Tumorigenesis?”**

**“Mengenal Mikro-RNA”**



**“Apa itu Mutasi?”**

**“Bagaimana pengaruh mutasi pada kanker?”**

Hampir semua karsinogen adalah mutagen. Berbagai agen ini menginduksi mutasi dengan cara mengubah susunan DNA (contoh: membentuk DNA *adducts*) maupun dengan menyebabkan kerusakan kromosom (contoh: terputusnya rantai DNA). Mutasi sendiri didefinisikan sebagai berbagai perubahan pada urutan basa atau susunan DNA. (3,32)

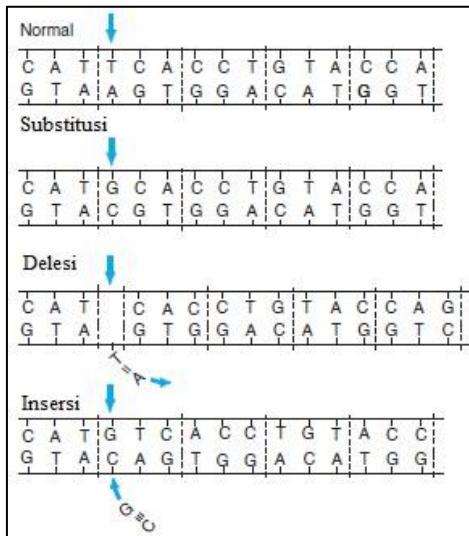
Secara umum mutasi dikategorikan menjadi 3, yaitu mutasi yang memengaruhi beberapa kromosom di dalam sel (**mutasi genom**), mutasi yang mengubah struktur kromosom tunggal (**mutasi kromosom**), dan mutasi yang mengubah gen tunggal (**mutasi gen**). Mutasi genom umumnya terjadi akibat kesalahan saat pemisahan kromosom selama meiosis atau mitosis. Sementara mutasi kromosom umumnya melibatkan beberapa proses seperti duplikasi sebagian atau triplikasi, delesi, inversi, dan translokasi yang dapat terjadi secara spontan maupun akibat pemisahan abnormal dari kromosom selama meiosis. Sementara mutasi gen merupakan perubahan urutan DNA pada DNA inti atau mitokondria. Perubahan ini bervariasi dari mutasi titik (basa tunggal) hingga perubahan pada jutaan pasang basa.



Terdapat beberapa tipe mutasi gen yaitu: transisi, transversi, insersi, dan delesi. Mari kita bahas satu persatu terminologi ini.(3,32)

Istilah transisi dan transversi sesungguhnya merujuk pada adanya substitusi (pergantian) basa pada urutan DNA. Pada transisi, terjadi substitusi oleh tipe golongan basa yang sama, purin digantikan oleh purin yang lain ( $A \rightarrow G$  atau  $G \rightarrow A$ ) atau pirimidin digantikan oleh satu pirimidin lainnya ( $C \rightarrow T$  atau  $T \rightarrow C$ ). Sementara transversi adalah adanya substitusi basa oleh golongan yang berbeda, contohnya purin digantikan pirimidin dan sebaliknya.(3,32)

Adanya substitusi nukleotida pada urutan DNA (mutasi titik/*point mutation*) dapat mengubah kode pada triplet basa (kodon) dan menyebabkan berubahnya asam amino yang dihasilkan dari proses translasi. Jenis mutasi ini disebut dengan ***missense mutation***. Penemuan modern telah menemukan bahwa substitusi basa yang terjadi di luar *coding sequence* pun dapat menyebabkan efek pada produk gen atau memengaruhi secara langsung proses transkripsi suatu gen (akan dibahas pada bab selanjutnya). Hal ini menjadi perhatian para peneliti saat ini, bahwa paradigma mutasi pada gen tertentu saja yang menyebabkan penyakit, harus dianalisis kembali.(32)



Gambar 2.1. Contoh mutasi gen. Pada urutan basa di kodon kedua mengalami mutasi dimana terjadi substitusi basa, delesi, atau insersi. Pada insersi dan delesi terjadi mutasi *frameshift* sehingga *reading frame* mengalami perubahan.(32)

Mutasi titik yang menyebabkan perubahan susunan kodon pengkode asam amino normal menjadi kodon terminasi (*stop codon*) disebut dengan ***nonsense mutations***. Hal ini tentu saja menyebabkan terputusnya translasi dari transkrip gen, sehingga protein yang diinginkan tidak terbentuk karena mencapai kodon terminasi. Sebagai akibatnya adanya terminasi prematur ini, mutasi terjadi dua kali lipat. Pertama, mRNA yang membawa mutasi prematur umumnya tidak stabil (***nonsensemediated mRNA decay***), dan tidak akan terjadi translasi. Meskipun misalnya mRNA yang dihasilkan cukup stabil untuk ditranslasi, protein yang cacat biasanya akan didegradasi segera oleh sel.

Sesungguhnya hal ini merupakan salah satu mekanisme sel untuk mempertahankan diri dari adanya cacat hasil mutasi yang dapat membahayakan sel itu sendiri.(32)

Tipe mutasi lainnya yaitu insersi dan delesi, yang berarti adanya penambahan dan hilangnya satu atau lebih basa pada urutan DNA. Sebagian besar mutasi tipe ini mengenai sejumlah kecil nukleotida dan dapat dideteksi melalui teknik *sequencing* dengan mudah. Namun, pada sebagian kasus lainnya delesi, inversi, duplikasi, maupun translokasi dapat melibatkan suatu segmen sebuah gen sehingga menyebabkan adanya sekuens gen baru. Hal ini tentu saja akan mengacaukan *reading frame* (ingat kembali bahwa kode genetik dibaca dalam kode triplet). Perbedaan hasil translasi dari kode genetik ini akan terjadi jika terdapat pergeseran *reading frame* yang berakibat pada perubahan kodon yang mengkode asam amino tertentu (*frameshift mutation*). (3,32)

Selain mutasi yang terjadi pada gen, mutasi dapat terjadi pada kromosom dan strukturnya. Salah satunya adalah translokasi kromosom dan mutasi pada protein penyusun kromosom yaitu histon. Translokasi kromosom merupakan pertukaran satu bagian dari sebuah kromosom ke bagian lain dari kromosom yang berbeda. Sehingga hal ini menyebabkan perubahan urutan basa DNA. Selain itu terdapat pula amplifikasi gen yang menyebabkan terjadinya

kanker pada beberapa jenis sel. Pada amplifikasi gen, terdapat peningkatan jumlah *copy number* dari suatu gen. Umumnya perubahan ini merupakan akibat dari mutasi.(3)

Perubahan—seperti adanya mutasi—pada protein histon, turut serta memengaruhi kejadian kanker. Perubahan ekspresi suatu gen yang terjadi akibat pengaturan di luar gen itu sendiri disebut dengan pengaturan epigenetik (akan dibahas lebih dalam pada bab selanjutnya). Pengaturan ekspresi gen melalui regulasi epigenetik terjadi dengan adanya modifikasi aksesibilitas berbagai protein—termasuk enzim yang terlibat dalam ekspresi gen—terhadap DNA. Salah satunya adalah melalui protein histon (ingat lagi beberapa jenis protein ini: H2A, H2B, H3, dan H4).(33)

Seperti yang sudah kita bahas, bahwa tidak semua mutasi menyebabkan perubahan perilaku sel. Umumnya hal

“Mutasi adalah kesalahan pada waktu, lokasi, dan jenis sel yang tepat”

ini ditentukan oleh lokasi, waktu, dan jenis sel. Mutasi yang terjadi pada bagian promoter suatu *coding gene* akan mengubah regulasi gen dan berdampak pada ekspresi gen tersebut baik secara permanen maupun sementara. Akibatnya, ekspresi gen tersebut mengalami peningkatan atau penurunan ekspresi. Apakah ini penting? Tentu saja. Dapat kita bayangkan jika terjadi peningkatan ekspresi suatu onkogen (akan dibahas pada

bagian selanjutnya), atau penurunan ekspresi dari *tumor supresor gene* (gen penekan tumor, dibahas pada bagian selanjutnya) maka akan timbul pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Begitu pula mutasi yang terjadi pada tempat yang salah, contohnya pada regio *coding* dari suatu gen akan mengubah struktur dan fungsi gen tersebut. Sehingga mungkin saja produk protein yang terbentuk adalah protein cacat yang tak dapat berfungsi sebagaimana mestinya, atau protein tersebut mengalami degradasi (ada proses di dalam sel yang menyebabkan protein yang rusak akan didegradasi).(3)

## “Bagaimana Peran Onkogen dan Gen Penekan Tumor dalam Tumorigenesis?”

Sel kita, bahkan di dalam lingkungan yang bebas mutagen sekali pun, mengalami mutasi secara spontan dengan rata-rata sekitar  $10^{-6}$  mutasi per gen setiap kali pembelahan sel. Dari fakta ini, dapat diketahui bahwa tidak semua mutasi akan berakhir menjadi kanker. Kanker membutuhkan lebih banyak kerusakan genetik maupun epigenetik. Kita telah membahas mengenai berbagai jenis perubahan genetik dan epigenetik yang mungkin terjadi sebagai penyebab tumorigenesis. Pertumbuhan sel tumor bergantung pada perubahan ini. Sel tumor mengalami mutasi somatik, yang membedakan sel ini dari sel sehat di sekitarnya.(34)

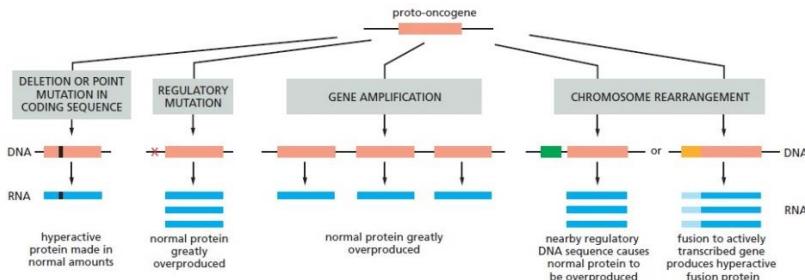
Pada tumor ganas (kanker) terdapat berbagai perubahan baik berupa perubahan kecil yaitu penggantian urutan nukleotida seperti mutasi (kerusakan genetik), insersi (penyisipan) dan delesi (kehilangan, pengurangan), maupun perubahan makro yang melibatkan perubahan pada kromosom. Terdapat empat kelas gen pengaturan yang normal yang menjadi target utama pada kerusakan genetik yaitu *growth-promoting proto-oncogen*, *growth-inhibiting tumor suppressor genes*, gen pengatur kematian sel terprogram (apoptosis), dan gen yang terlibat dalam



perbaikan DNA. Dua jenis gen yang terlibat langsung dalam proses terbentuknya tumor, yaitu onkogen dan gen penekan tumor (*tumor suppressor gene*). Ekspresi onkogen berfungsi pada pengaturan yang menstimulasi pembelahan sel, sehingga jika gen ini mengalami mutasi maupun ekspresi yang berlebihan akan menimbulkan pembelahan sel secara berlebihan. Di sisi lain, ekspresi dari gen penekan tumor berfungsi sebagai penghambat pembelahan sel, sehingga jika struktur gen ini mengalami perubahan atau penurunan ekspresi maka akan menimbulkan stimulus terhadap hiperplasia sel.(1,35) Sebagai contohnya adalah mutasi pada proto-onkogen seperti *RAS* atau *EGFR* sering kali menyebabkan aktivitas berlebihan protein sehingga mengubah pengaturan internal sel. Mutasi pada gen penekan tumor seperti *RB* atau *TP53* akan menurunkan aktivitas dan fungsi dari protein terkait yang juga akan berperan pada perkembangan sel kanker.(35)

Perubahan kecil pada urutan DNA, seperti mutasi atau delesi dapat menghasilkan protein hiperaktif jika mengenai area *coding*, atau menyebabkan peningkatan produksi protein jika terjadi pada area regulator gen. Amplifikasi gen umumnya disebabkan oleh gangguan pada replikasi DNA, dan menyebabkan banyaknya salinan gen dan akhirnya terjadi peningkatan produksi protein. Sementara penyusunan ulang kromosom, dapat mengubah regio *coding* suatu gen, sehingga

menghasilkan penyatuan protein yang hiperaktif, atau mengubah kontrol suatu gen sehingga terjadi peningkatan produksi protein normal. (34)



Gambar 2.2. Perubahan genetik, genomik, dan kromosom yang dapat mengaktifkan proto-onkogen menjadi onkogen.(34)

Salah satu contoh yaitu pada reseptor protein persinyalan ekstraseluler, *epidermal growth factor* (EGF) dapat teraktivasi dengan adanya delesi yang menghilangkan domain ekstraseluler, sehingga reseptor ini tetap aktif walau tanpa adanya sinyal dari EGF. Hal ini menyebabkan sinyal yang tidak tepat. Mutasi tipe ini sering kali ditemukan pada kanker paru. Beberapa studi menyebutkan, pada salah satu tipe kanker paru yang sering ditemukan (sekitar 75% dari kanker paru), yaitu *non small-cell lung carcinoma* (NSCLC) didapatkan mutasi pada domain *tyrosine kinase* reseptor EGF (EGFR) dan terdapat peningkatan ekspresi reseptor ini pada 75% kasus. Terjadi delesi pada ekson 19 atau mutasi titik pada ekson 21 dari gen penyandi EGFR. Sebagai akibat mutasi



ini terjadi aktivasi sinyal terus menerus dan menyebabkan proliferasi sel serta antiapoptosis, walaupun tanpa adanya ligan ekstraseluler. (34,36)

Perubahan pengaturan ekspresi gen yang menyebabkan peningkatan jumlah protein aktif dapat memengaruhi aktivitas sel, walaupun protein yang dihasilkan merupakan protein normal. Sebagai contoh, protein Myc yang berperan di dalam nukleus untuk menstimulus pertumbuhan dan pembelahan sel, berperan penting dalam pertumbuhan kanker. Protein ini mengalami peningkatan produksi dalam bentuk normalnya. Adanya kelainan saat replikasi DNA, menyebabkan amplifikasi gen ini. Sehingga dihasilkan sejumlah besar salinan gen pada satu sel. Pada kasus tumor lainnya, terjadi perubahan pengaturan ekspresi gen Myc akibat translokasi kromosom yang menyebabkan urutan gen regulator berada di dekat urutan area *coding* Myc ini. Hasilnya adalah terjadi produksi besar-besaran mRNA Myc. Sebagai contoh, pada limfoma Burkitt, translokasi kromosom menyebabkan ekspresi gen Myc diatur oleh ekspresi gen antibodi limfosit B. Pada 80% kasus limfoma Burkitt, terjadi translokasi lokus penyandi MYC ke lokus IgH, sehingga terbentuk formasi t(8:14)(q24: q32). (34,37,38)

Sebuah gen yang terbentuk akibat mutasi dari gen normal manusia, yaitu proto-onkogen yang disebut Ras, ditemukan pada tahun 1980an. Onkogen ini mengalami

mutasi titik (*point mutation*) yang menghasilkan protein hiperaktif Ras. Onkoprotein ini tidak dapat dinonaktifkan dengan menghidrolisis ikatan GTP pada Ras menjadi GDP. Efek dominan dari hiperaktif onkoprotein ini menunjukkan bahwa hanya dibutuhkan mutasi pada salah satu alel saja, untuk dapat menimbulkan efek. Mutasi Ras ditemukan pada hampir 30% kanker pada manusia. (34)

Jika pada onkogen aktivasi proteininya menyebabkan kanker, maka berbeda dengan gen penekan tumor di mana inaktivasi meningkatkan kemungkinan perkembangan kanker. Inaktivasi ini dapat berupa mutasi, delesi, hingga pengaturan epigenetik yang akan kita bahas pada bagian selanjutnya. Kelainan baik dalam regulasi ekspresi maupun mutasi pada gen penekan tumor, dapat menyebabkan gen ini tidak dapat berfungsi dalam mencegah tumorigenesis. Sebagai contoh adalah gen retinoblastoma (Rb) yang mengalami mutasi pada tumor retinoblastoma. Pada bentuk retinoblastoma herediter, tumor mengenai kedua bola mata. Sementara pada bentuk non-herediter, tumor hanya mengenai salah satu mata. Pada tumor ini, pasien mungkin memiliki kariotipe abnormal dengan adanya delesi pada kromosom 13, yang ditemukan pada bentuk non-herediter juga herediter. Hal ini menunjukkan bahwa kanker disebabkan oleh gangguan gen yang sangat penting pada lokasi ini. Gen Rb menghasilkan protein Rb yang berfungsi

sebagai regulator universal siklus sel pada hampir semua sel tubuh. Protein ini berperan sebagai kunci untuk mencegah sel memasuki siklus sel. Kehilangan gen Rb juga ditemukan pada berbagai kanker seperti karsinoma paru, payudara, dan kandung kemih. (34)

Gen penekan tumor lainnya yang sudah cukup dikenal berperan penting dalam perannya mempertahankan sel dari kerusakan DNA, yaitu TP53. Gen ini menyandi faktor transkripsi p53, yang menginisiasi transkripsi gen yang terlibat dalam penghentian siklus sel, apoptosis, metabolisme, perbaikan DNA, dan penuaan seluler sebagai respons stresor seperti radiasi dan kemoterapi. Gen ini sering kali mengalami mutasi pada kanker. Mutasi sering terjadi pada domain pengikatan DNA, sehingga protein p53 mutan tidak dapat merespons adanya stres. Pada kanker payudara, ditemukan TP53 mutan pada hampir 30% kasus. (39–41)

## PERAN EPIGENETIK PADA PERKEMBANGAN KANKER

**“Apa saja mekanisme yang termasuk dalam epigenetik”**

**“Apa pengaruh mekanisme pengaturan epigenetik pada pencegahan dan progresivitas kanker?”**

Pada pembahasan sebelumnya, kita telah mengenal pengaturan epigenetik yang berperan dalam pengaturan ekspresi suatu gen—dalam hal ini kita membahas kanker. Secara fisiologis, epigenetik merupakan suatu pengaturan normal yang dapat diturunkan, berperan sebagai regulator genom dan komponen kromatin. Adanya modifikasi pada kedua hal tersebut dapat memengaruhi struktur dan konformasi kromatin sehingga dapat mengatur ekspresi gen. Perlu diingat kembali, bahwa pengaturan struktur kromatin (apakah memadat atau terurai/relaksasi) akan memengaruhi kemampuan enzim dan faktor transkripsi tertentu yang berperan dalam ekspresi gen.(3)

Apa saja cakupan epigenetik ini? Dua proses penting yang tercakup dalam regulasi epigenetik adalah **modifikasi histon** dan **metilasi DNA**. Perubahan epigenetik yang memengaruhi ekspresi gen tidak memerlukan perubahan pada urutan nukleotida DNA, sehingga tidak ada mutasi yang terjadi pada sekuens DNA. Proses epigenetik ini penting pada

diferensiasi sel normal. Proses tersebut menentukan gen mana yang diekspresikan oleh suatu tipe sel tertentu, dan mana yang tidak.(3) Sehingga, walaupun seluruh sel kita memiliki urutan DNA yang sama, protein yang dihasilkan akan berbeda-beda. Sebagai contoh, urutan DNA antara sel beta pankreas dan sel epidermis adalah sama. Namun, gen penyandi hormon insulin tidak akan diekspresikan oleh sel kulit. Dan sebaliknya, protein keratin tidak akan dihasilkan oleh sel beta pankreas.

Apakah masih ada yang berpikir bahwa urutan DNA kita berbeda antar sel yang satu dan yang lain? Mari belajar lagi.

## Modifikasi histon

Modifikasi histon meliputi asetilasi, metilasi, fosforilasi, dan ubikuinasi, yang merupakan bagian dari modifikasi post-translasi. Asetilasi yang merupakan salah satu tipe modifikasi ini menyebabkan perubahan pada struktur kromatin dan memengaruhi ekspresi gen. Proses ini mengikutsertakan dua enzim yaitu *histone acetyltransferases* (HATs) yang berperan menambahkan gugus asetil, dan *histone deacetylases* (HDACs) yang menghilangkan gugus asetil.(3)

Lalu bagaimana cara kerja kedua enzim ini? HATs menambahkan asetil pada lisin dari histon yang spesifik serta pada protein non-histon lainnya, seperti faktor transkripsi

(E2F dan p53). Penambahan gugus asetil pada histon akan menyebabkan relaksasi dari gelungan kromatin, sehingga dapat terjadi elongasi transkripsi oleh enzim RNA polimerase II. Sebaliknya, HDACs menghilangkan gugus asetil dan mengembalikan polaritas positif pada residu lisin dari ujung histon, sehingga kromatin menjadi padat. Pemadatan kromatin menyebabkan DNA sulit berikatan dengan faktor transkripsi, sehingga terjadi represi transkripsi gen. (3)

Seperti yang telah kita ketahui bahwa hampir seluruh proses di dalam sel tidak berjalan sendiri, tapi melibatkan beberapa proses lain yang saling berkaitan. Pun sama halnya dengan proses modifikasi ini. Kenyataannya, aktivator transkripsional sering kali merekrut HATs dan enzim *remodelling* kromatin lainnya menuju regio promoter. Sebagai contohnya adalah protein penekan tumor, Rb (*Retinoblastoma*), meningkatkan kerjanya dengan merekrut HDACs pada promoter gen tertentu yang bertujuan untuk represi ekspresi gen. Tampak bahwa proses modifikasi ini digunakan oleh tubuh untuk mencegah pertumbuhan kanker, begitu pula sel kanker sering kali menggunakan proses ini untuk bertahan “hidup”.(3)



## Metilasi DNA

Penambahan gugus metil pada posisi 5 sitosin disebut dengan metilasi DNA. Metilasi ini hanya terjadi pada nukleotida sitosin yang berdekatan dengan guanin (CpG), sehingga hanya sekitar 3-4% saja dari seluruh sitosin yang mengalami metilasi. Sementara itu, CpG ini banyak ditemukan pada 50% area promoter gen manusia. Umumnya area ini tidak termetilasi dan ekspresi gen dapat terjadi. Metilasi sering ditemukan pada gen yang memang “dijaga” tetap tak terekspresi, contohnya pada kromosom X inaktif pada wanita (ingat bahwa wanita memiliki 2 kromosom X, yang aktif hanya salah satunya).(3)

Metilasi DNA ini memerlukan enzim yaitu DNA *methyltransferases* (DNMTs) yang memediasi penambahan grup metil. Terdapat tiga grup dari golongan enzim ini, yaitu DNMT1, DNMT3a, dan DNMT3b yang masing-masing memiliki peran tersendiri. DNMT1 berperan pada konversi *hemi-methylated* DNA (sebagian termetilasi) menjadi DNA termetilasi penuh selama proses replikasi. Hal ini penting dalam mempertahankan gen mana saja yang harus tetap direpresi pada sel turunan setelah replikasi terjadi. Sementara dua enzim lainnya berperan pada metilasi *de novo*, yaitu metilasi pada area yang baru.(3)

## Kanker dan Epigenetik

Proses epigenetik dapat menyebabkan proses epigenetik lainnya

Hal yang menarik dari pengaturan epigenetik adalah “proses epigenetik dapat menyebabkan proses epigenetik lainnya”, yang tentu dapat menyebabkan perubahan ekspresi genom secara luas dan instabilitas

genomik. Inaktivasi epigenetik dan mutasi gen berperan bersama dalam terjadinya karsinogenesis. Sebagai contoh, adanya mutasi pada enzim yang mengatur epigenetik, akan menyebabkan disfungsi enzim tersebut dan berakibat perubahan regulasi epigenetik pada gen tertentu. Jika ini terjadi pada pengaturan gen penekan tumor dan terjadi *silencing* pada gen tersebut, maka kanker akan dapat berkembang.(3)

Pada beberapa kanker, diketahui adanya perubahan aktivitas HAT atau HDAC. Sebagai contoh, gen EP300 yang mengkode ekspresi HAT ditemukan bermutasi pada kanker epitelial. Pada leukemia promielositik akut, translokasi kromosom yang membentuk protein fusi PML-RAR menjadi penanda dari keganasan ini. Protein ini merekrut HDAC pada area promoter gen target RA, menyebabkan represi gen target. Kekurangan aktivasi gen target RAR ini menghambat diferensiasi sel, dan menjadi karakteristik utama leukemia.(3)

Perubahan regulasi epigenetik pada kanker juga tampak pada adanya hipermetilasi DNA. Perubahan ini terutama terlihat pada CpG *island* dari area promoter suatu gen yang sebelumnya tidak mengalami metilasi. Contohnya, reseptor estrogen yang umumnya terdapat pada sel epitel ovarium normal sering kali tidak ditemukan pada kanker ovarium. Ternyata hal ini disebabkan oleh adanya represi ekspresi gen akibat hipermetilasi pada area promoter gen reseptor- $\alpha$  estrogen. Contoh lainnya, gen BRCA1 yang normalnya berperan menekan perkembangan kanker payudara sering ditemukan mengalami mutasi pada kanker payudara yang diturunkan (*inherited*). Namun, mutasi gen ini jarang ditemukan pada tipe kanker payudara yang tidak diwariskan (*non-inherited*). Berbagai penelitian menunjukkan adanya hipermetilasi yang berhubungan dengan inaktivasi gen BRCA1 pada kanker payudara yang tidak diwariskan dari orang tua. Sehingga jelas, bahwa epigenetik berperan penting dalam karsinogenesis.(3)

## PERAN MIKRO-RNA PADA KANKER

“Apa Itu Mikro-RNA?”

“Bagaimana Biogenesisnya?”

“Apa Peran Pentingnya Dalam Pencegahan Dan Perkembangan Kanker?”

Mikro-RNA (miRNA) merupakan RNA *non-coding* yang berukuran kecil (18-25 nukleotida), berperan pada tahap

MiRNA merupakan *non-coding* RNA berukuran kecil yang mengatur ekspresi gen pada tahap post-transkripsi

post-transkripsi dengan mengatur ekspresi mRNA. Setiap miRNA dapat menekan ratusan mRNA target, dan sebaliknya setiap mRNA dapat ditarget oleh banyak miRNA. MiRNA merupakan bagian dari RNA regulator yang jumlah

dan variasinya paling banyak. Pada manusia terdapat lebih kurang 2000 miRNA yang telah diidentifikasi.(3,12,42)

Pada tahun 1993, Victor Ambros menemukan lin-4 pada *C.elegans*, yang kemudian menjadikan penemuan ini sebagai titik mula penelitian mikro-RNA. Kemudian pada tahun 1998, Andrew Fire dan Craig Mello menemukan *small-interference* RNA yang dapat memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan *C.elegans*. (3,42) Penemuan RNA regulator ini merupakan titik cerah, yang mulai dapat menjelaskan fungsi

dari DNA *non-coding* yang tidak ditranslasi menjadi protein. Belakangan diketahui bahwa miRNA berperan penting dalam karsinogenesis, dari awal perkembangan, pertumbuhan, hingga metastasis. Pada bab ini akan kita ulas dari biogenesis hingga perannya dalam karsinogenesis dan terapi kanker.

### Biogenesis Mikro-RNA

Mikro-RNA tentu saja memiliki gennya sendiri, ia ditranskripsi dari gen seperti gen *coding* lainnya. Bedanya adalah setelah ditranskripsi, molekul primordial miRNA akan dipotong dan ditransportasikan keluar nukleus menuju sitoplasma untuk mengalami proses selanjutnya. Di sitoplasma inilah miRNA yang telah matur berperan menghambat ekspresi gen yang menjadi targetnya.(3,42,43)

Umumnya gen yang menyandi miRNA terletak berkelompok atau membentuk suatu klaster. Sebagian gen ini terutama terletak di bagian intron gen penyandi protein, dan disebut dengan intragenik miRNA. Uniknya, miRNA dapat meregulasi ekspresi gen yang terletak jauh dari gen penyandi miRNA itu sendiri. Gen penyandi miRNA merupakan gen yang spesifik membentuk nukleotida berukuran 20-25 basa saja.(42)

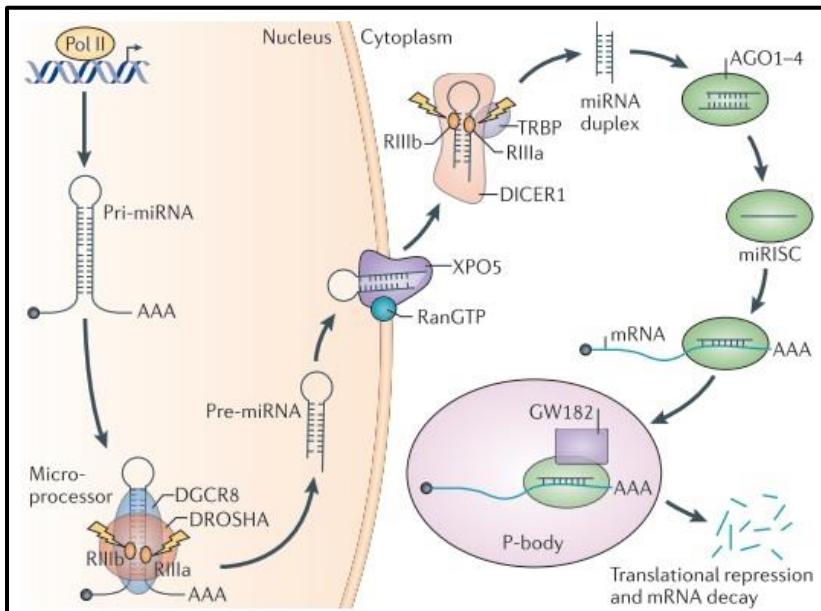
*Primary micro-RNA* (pri-miRNA) terbentuk setelah proses transkripsi gen penyandi miRNA oleh enzim *RNA polymerase II* (Pol II) di nukleus. Seperti mRNA hasil

transkripsi, pri-miRNA juga melalui proses *capping* dan penambahan poli A pada bagian ekornya. Struktur ini kemudian dipotong dan diproses lebih lanjut oleh suatu kompleks *microprosesor* yang dibentuk oleh ribonuklease III (RNase III) DROSHA dan *DiGeorge syndrome critical region 8* (DGCR8), untuk menghasilkan nukleotida sepanjang 60-70 basa disebut dengan *precursor* miRNA (pre-miRNA).(12,42,43)

Pre-miRNA kemudian ditransportasikan ke sitoplasma dengan berikatan pada eksportin 5 (XPO5). Di sitoplasma, pre-miRNA akan diproses lebih lanjut oleh *ribonuclease III* (RIII) DICER1 sehingga terbentuk miRNA matur berbentuk dupleks berukuran 18-25 basa. Salah satu untai dupleks ini akan terdegradasi, sementara untai lainnya menjalankan fungsinya.(12,42,43)

Mikro-RNA matur dapat bekerja jika sudah berikatan dengan suatu kompleks molekul yang mengandung protein Arganaoute (AGO) dan GW182. Kompleks yang terbentuk ini disebut dengan miRISC, dan bekerja dengan menarget mRNA pada sisi 3'UTR. Jika ikatan ini komplementer sempurna, maka mRNA target akan didegradasi di *processing bodies* (P-bodies). Namun, jika ikatan ini tidak komplementer sempurna maka akan terjadi hambatan translasi.(12,42,43) Proses biogenesis miRNA dirangkum pada gambar 2.3 di bawah ini.





Gambar 2.3. Biogenesis miRNA. Gen miRNA ditranskripsi dan membentuk pri-miRNA oleh *RNA polymerase II* (Pol II) di dalam nukleus, dan dipotong oleh mikroprosesor membentuk pre-miRNA sepanjang 60–70 basa. Pre-miRNA diekspor keluar nukleus menuju sitoplasma dengan berikatan pada exportin 5(XPO5), kemudian diproses oleh DICER1 membentuk miRNA matur. Untuk dapat bekerja menarget mRNA, miRNA berikatan dengan protein *Argounate* (AGO) membentuk *miRNA-induced silencing complex* (miRISC). (43)

## Disregulasi Biogenesis MiRNA Berdampak pada Perkembangan Kanker

Secara umum, miRNA dapat diklasifikasikan sebagai onkomir dan *tumor suppressor*-miRNA. Pengelompokan ini berdasarkan gen target miRNA itu sendiri. MiRNA yang bekerja menarget dan menekan ekspresi onkogen, disebut dengan *tumor suppressor-miRNA*. Sebaliknya, miRNA yang menekan ekspresi dari *tumor suppressor gene* disebut dengan onkomir. Pada

kanker, terjadi berbagai mekanisme untuk menghambat maupun meningkatkan kerja miRNA tertentu, sebagai upaya “bertahan hidup”. Berbagai perubahan secara **genetik**, **epigenetik**, hingga **genomik** terjadi dari biogenesis hingga pematangan miRNA, yang diakibatkan oleh karsinogenesis. Begitu pula sebaliknya, berbagai perubahan ini dapat meningkatkan perkembangan kanker, bagaikan lingkaran setan.(42)

Mikro-RNA sering kali ditemukan mengalami penurunan ekspresi pada hampir semua jenis tumor. Berbagai protein yang terlibat dalam maturasi miRNA tampaknya menjadi salah satu target karsinogenesis, sehingga timbul disfungsi pada protein tersebut. *Ribonuclease III* (Rnase III) DROSHA dan DICER 1 sering kali mengalami penurunan ekspresi pada kanker paru, ovarium, dan neuroblastoma. Selain itu juga ditemukan mutasi pada beberapa gen penyandi berbagai protein yang terlibat pada maturasi miRNA, di berbagai kanker.(42)

Seperti yang telah kita bahas sebelumnya bahwa biogenesis miRNA dimulai dari **pembentukan pri-miRNA** dan pada tahap inilah, disregulasi dimulai. Beberapa gen miRNA terletak pada daerah yang fragil dan mudah sekali mengalami perubahan pada kanker. Pada area ini pula sering terjadi amplifikasi, delesi, maupun translokasi. Adanya perubahan genetik ini akan berdampak pada perubahan

transkripsi pri-miRNA dan ekspresi miRNA, dan tentu saja akan memengaruhi ekspresi mRNA target yang berperan dalam progresivitas kanker. Mari kita ambil contoh, lokus gen hsa-miR-15 dan hsa-miR-16 pada kromosom 13q14 sering mengalami delesi pada B-CLL (*B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia*), yang mengakibatkan penurunan ekspresi miRNA tersebut pada hampir 70% kasus B-CLL. Kedua miRNA tersebut berfungsi dalam mengatur apoptosis dengan menghambat ekspresi BCL2. Sehingga terganggunya ekspresi kedua miRNA tersebut akan memperburuk klinis maupun progresivitas penyakit.(42,43)

Jika tadi kita membahas perubahan genomik, maka berikut adalah contoh adanya mutasi titik sebagai tanda perubahan genetik. Adanya mutasi titik pada klaster gen penyandi miR-128b menyebabkan hambatan pembentukan pri-miR-128b dan menurunkan jumlah miR-128b matur. Hal ini menyebabkan adanya resistensi glukokortikoid pada sel leukemia limfoblastik akut (ALL) dengan translokasi MLL (*mixed-lineage leukaemia*)-AF4.(42,43)

Perubahan pada regulasi transkripsi miRNA juga turut menyebabkan perkembangan kanker. Beberapa onkogen maupun *tumor suppressor gene* turut mengatur ekspresi miRNA, yang dapat mengaktifasi maupun represi transkripsi gen penyandi miRNA. Salah satu contoh mekanisme ini adalah p53—suatu protein penekan tumor—yang dapat

mengatur ekspresi miR-34. MiR-34a, miR-34b, dan miR-34c berfungsi menghambat gen yang berperan dalam pertumbuhan tumor dan bekerja sama dengan protein lain pada jalur yang melibatkan protein p53. Proses ini bertujuan untuk menghambat proliferasi sel yang tidak terkontrol serta meningkatkan apoptosis. Pada kanker sering kali terjadi mutasi p53, sehingga kelompok miR-34 ini tidak dapat terekspresi maupun berfungsi sebagaimana mestinya.(42,43)

Protein onkogenik lainnya yang mengatur ekspresi miRNA adalah MYC. Salah satu miRNA yang bersifat onkogenik yang teraktivasi adalah klaster miR-17~92. Target gen dari onkomir ini memacu terjadinya karsinogenesis dengan mengatur ekspresi E2F1, *trombospondin 1* (THBS1), faktor pertumbuhan jaringan ikat (*connective tissue growth factor*, CTGH), serta gen lainnya yang mengatur siklus sel serta angiogenesis. MYC juga berkontribusi dalam represi *tumor suppressor-miRNA* pada limfoma sel B, salah satunya adalah keluarga miR-200. Kelompok miR-200 ini sudah cukup terkenal berperan dalam menekan tumor pada manusia, dengan menarget suatu faktor transkripsi yaitu mRNA ZEB (*zinc-finger E-box-binding homeobox*)—ZEB1 dan ZEB2. Faktor transkripsi ini berperan dalam menekan ekspresi gen penanda epitel sehingga terjadi perubahan diferensiasi sel epitel menjadi sel mesenkimal (*epithelial-*

*mesenchymal transition*, EMT). Hal yang menarik adalah, ZEB1 dan ZEB2 ini berikatan langsung pada elemen regulator promoter gen penyandi miR-200, sehingga menghambat transkripsi miRNA ini. Hal ini tentu saja menarik, bahwa terdapat keterkaitan secara langsung antara miRNA dan mRNA targetnya, yang dimanfaatkan oleh sel kanker dalam upaya meningkatkan progresivitasnya. (42-44)

Pada kanker terdapat suatu mekanisme yang melibatkan epigenetik berupa modifikasi histon dan metilasi DNA yang mengatur struktur kromatin, serta berakibat pada perubahan ekspresi miRNA terkait. Terdapat berbagai penelitian yang menunjukkan bahwa terdapat hipermetilasi CpG *island* promoter gen *tumor supressive miRNA* pada berbagai kanker, yang berakibat pada penekanan ekspresi miRNA. Contoh beberapa miRNA yang mengalami represi akibat hipermetilasi area promoter adalah miR-148a, miR-34b, miR-24c, dan miR-9, yang berperan dalam menekan pertumbuhan tumor dan metastasis. Begitu pula modifikasi histon, sering kali menjadi target perubahan akibat karsinogenesis. Adanya *remodeling* kromatin akibat modifikasi histon berperan penting dalam supresi ekspresi miRNA pada kanker. (42,43)

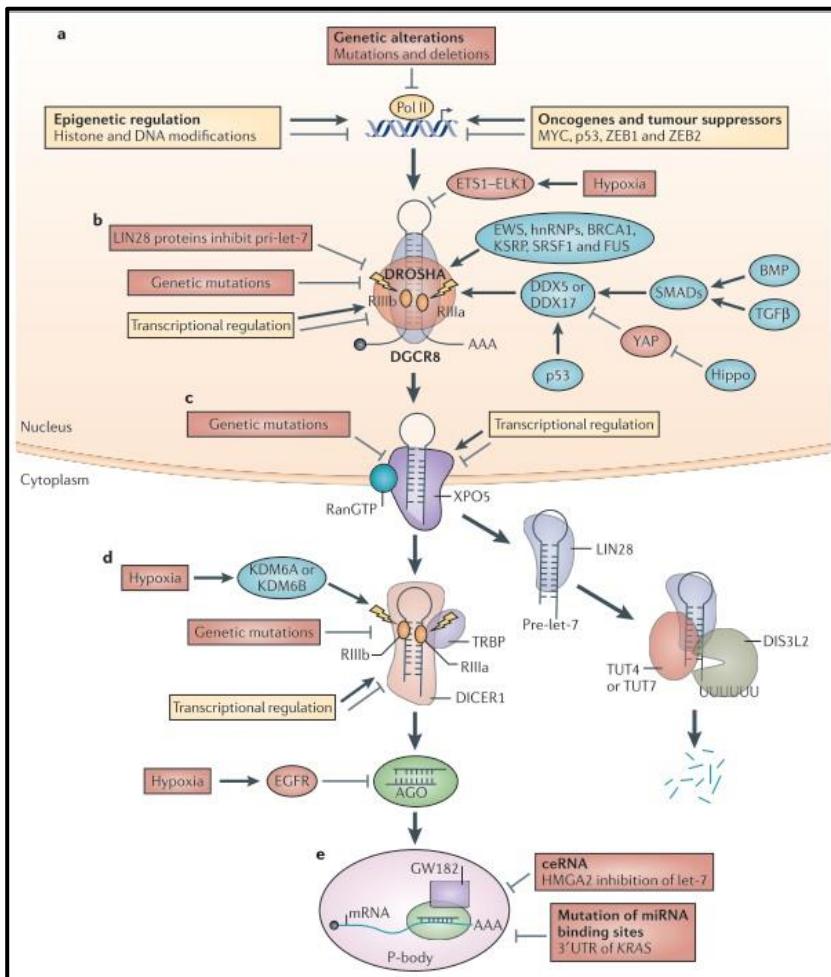
Jika sedari tadi kita membahas disregulasi biogenesis dari pembentukan pri-miRNA, kali ini kita akan mengulas berbagai **defek pada mikroprosesor** yang berperan penting

dalam pembentukan pre-miRNA. Pri-miRNA yang berbentuk *hairpin* (seperti jepit rambut) dengan *stem-loop* merupakan target dari mikroprosesor untuk membentuk pre-miRNA yang siap untuk ditransportasi keluar nukleus menuju sitoplasma dan mengalami proses selanjutnya. Namun, pada kanker terdapat mekanisme yang “mengganggu” stabilitas serta ekspresi komponen mikroprosesor ini sehingga tidak dapat berfungsi normal. (42,43)

Pada lebih dari 50% karsinoma sel skuamosa serviks ditemukan peningkatan ekspresi DROSHA. Peningkatan ini mengubah profil ekspresi miRNA secara global, dan meningkatkan proliferasi sel, migrasi, dan invasi yang berperan dalam progresi kanker. Begitu pula dengan penurunan ekspresi DROSHA yang juga ditemukan pada tipe kanker yang lain seperti kanker ovarium, kandung kemih, neuroblastoma, dan lainnya, menghasilkan penurunan ekspresi miRNA yang berhubungan dengan metastasis, invasi, dan buruknya prognosis penyakit. (43)

Selain DROSHA, ekspresi DGCR8 juga mengalami disregulasi pada kanker. Pada tumor Wilms ditemukan adanya mutasi pada DGCR8. Adanya penurunan ekspresi komponen ini dapat meningkatkan transformasi seluler dan pertumbuhan tumor.(43)





Gambar 2.4. Disregulasi biogenesis miRNA pada kanker. Pada kanker terjadi penyimpangan biogenesis miRNA melalui berbagai tahap maturasi miRNA. A. Perubahan genetik, modifikasi epigenetik, onkogen, dan gen penekan tumor yang mengatur transkripsi pri-miRNA secara positif maupun negatif pada kanker. B. Pembentukan pri-miRNA diatur oleh beberapa jalur: hipoksia, mutasi genetik, dan pengaturan transkripsional yang mengatur ekspresi DROSHA dan DGCR8 pada kanker; *RNA-binding proteins* seperti DEAD box protein 5 (DDX5), DDX17 and BRCA1 memodulasi aktivitas mikroprosesor pada kanker; jalur persinyalan sel seperti Hippo dan *bone morphogenetic protein* (BMP) mengatur pembentukan pri-miRNA; dan protein LIN28 memblok secara

selektif pembentukan pri-let-7. C. Mutasi genetik pada XPO5 memengaruhi transportasi pre-miRNA. D. Pembentukan pre-miRNA pada kanker dipengaruhi: hipoksia, mutasi gen, dan pengaturan transkripsional yang memodulasi ekspresi dan fungsi DICER1; protein LIN28 berikatan pada pre-let-7 dan merekrut *terminal uridyltransferase 4* (TUT4), TUT7, dan *DIS3-like exonuclease 2* (DIS3L2) untuk mendegradasi pre-let-7; serta *hypoxia-induced* dan *epidermal growth factor receptor (EGFR)-induced phosphorylation* Y393 pada Argonaute 2 (AGO2) menghambat pembentukan pre-miRNA. E. Fungsi miRNA diatur oleh: *competing endogenous RNA* (ceRNA) yang menghambat fungsi miRNA pada kanker, begitu pula mutasi pada *miRNA-binding sites* pada kanker paru tipe *non-small cell* (mutasi *let-7-binding site* pada 3' UTR mRNA KRAS; hnRNP (*heterogeneous nuclear ribonucleoprotein*); KDM6 (*lysine-specific demethylase 6*); KSRP (*KH-type splicing regulatory protein*); Pol II; RIII; SRSF1 (*serine/arginine-rich splicing factor 1*); TGF $\beta$  (*transforming growth factor- $\beta$* ); TRBP (*transactivation-responsive RNA-binding protein*); YAP (*Yes-associated protein*); ZEB (*zinc-finger E-box-binding homeobox*)). (43)

Berbagai penjelasan mengenai disregulasi pada setiap tahap pemrosesan miRNA yang berkaitan dengan karsinogenesis, memperlihatkan bahwa terdapat keterkaitan antar komponen pembentukan miRNA dan ekspresi serta fungsi dari miRNA yang akan berdampak pada disregulasi mRNA targetnya. Tampak pula bahwa kanker bukanlah suatu penyakit dengan mekanisme tunggal, tapi melibatkan berbagai mesin molekular dalam sel untuk pertahanannya. Selain komponen transkripsi dan mikroprosesor, komponen seluler seperti exportin pun menjadi target dari aktivitas molekular kanker. Begitu pula dengan jalur-jalur persinyalan yang memodulasi mikroprosesor dan memengaruhi ekspresi

miRNA menjadi tahapan yang penting dalam karsinogenesis. Diregulasi biogenesis miRNA pada kanker terangkum pada gambar 2.4.

MiRNA merupakan salah satu RNA regulator yang ekspresinya juga dipengaruhi oleh RNA regulator lainnya. Hal ini unik, tentu saja. Bahwa sebagian besar genom kita menyandi RNA regulator. Salah satu yang terbukti mengatur ekspresi miRNA adalah *long non-coding RNA* (lncRNA). Uc.283+A merupakan salah satu contoh lncRNA yang menghambat DROSHA dalam pembentukan pre-miRNA dari pri-miRNA, dengan berikatan secara komplementer pada area *lower stem* pri-miRNA sehingga menghambat rekognisi mikroprosesor. (45)

Masih banyak penelitian yang dapat dieksplorasi dari gangguan biogenesis miRNA terkait karsinogenesis ini. Dapat kita lihat berbagai perubahan dari genetik, epigenetik, genomik, bahkan regulasi sesama RNA regulator pun berperan di sini. Tak dapat kita singkirkan, adanya polimorfisme dan mutasi di dalam genom individu pun dapat menentukan kecenderungan seseorang menderita kanker tertentu. Sehingga, tugas kita sebagai dokter dan peneliti di bidang kesehatan khususnya kanker, masih sangat banyak. Dibutuhkan kerja keras untuk dapat memahami mekanisme pengaturan biogenesis miRNA yang kelak dapat dimanfaatkan sebagai target terapi kanker.

## Notes

### *Highlight:*

- Mutasi
- Jenis-Jenis Mutasi
- Peran Mutasi pada Karsinogenesis
- Onkogen
- Gen Penekan Tumor
- Mekanisme Epigenetik pada Kanker
- Peran Mikro-RNA pada Kanker

Buku ini tidak diperjualbelikan.



Buku ini tidak diperjualbelikan.

## **BAB III**

### ***HALLMARK OF CANCER***

*“Apa Saja Penanda yang Menjadi Ciri Khas  
Kanker?”*

*“Bagaimana proses molekularnya?”*



Karsinogenesis merupakan proses bertahap dengan penyebab utama adalah mutasi

Pada teori seluler disebutkan bahwa kanker disebabkan oleh adanya sel yang membelah lebih cepat daripada seharusnya. Teori ini juga menyebutkan bahwa sel kanker memiliki mekanisme untuk menghindari apoptosis (kematian sel terprogram). Kemudian teori ini berkembang, dan menyebutkan bahwa transformasi ganas disebabkan oleh adanya gangguan metabolisme yang mengatur proliferasi normal dari sel. (8)

Teori *noxious* menyebutkan bahwa kanker disebabkan oleh agen-agen karsinogenik (sudah dibahas pada bab sebelumnya), yang dapat berupa agen kimia, radiasi, maupun biologis. Pada tahun 1970-an, Ames menyebutkan adanya hubungan antara potensi mutagenik senyawa kimia dengan terjadinya keganasan. Kemampuan karsinogenik bergantung pada kemampuan agen-agen ini dalam merusak DNA dan gen dalam sel. Penemuan DNA oleh Watson dan Crick pada tahun 1953 menjadi cikal bakal perkembangan pesat penelitian di bidang kanker. (8)

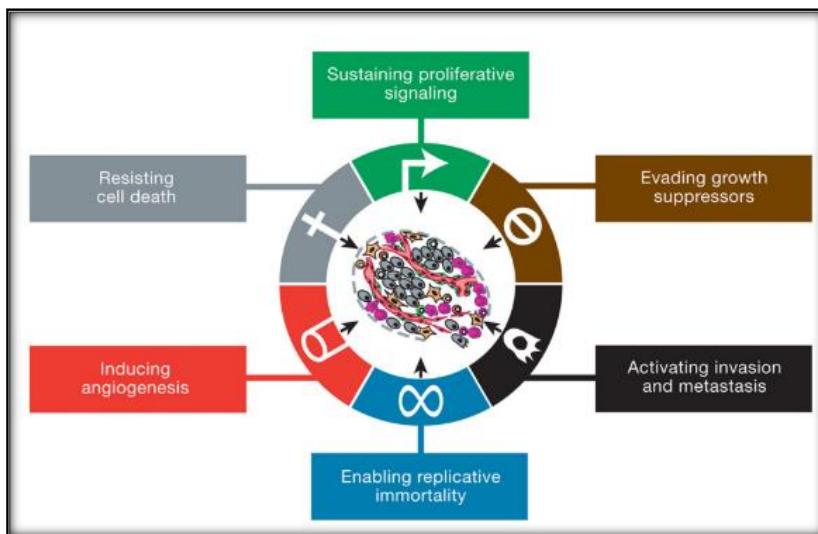
Karsinogenesis merupakan suatu proses bertahap yang disertai dengan perubahan genetik yang spesifik. Faktor penyebab utamanya adalah adanya mutasi gen yang mengakibatkan timbulnya kelainan genetik, morfologi, metabolisme dan fungsi sel. Begitu terbentuk, maka sel



kanker bersifat otonom, dan karakteristiknya diturunkan ke generasi sel berikutnya. Pertumbuhan tumor ganas ini sangat aktif, tidak terbatas dan tidak dapat dikendalikan oleh tubuh.(1,8)

Setiap gen kanker memiliki fungsi khusus masing-masing, sehingga adanya gangguan pengaturan pada gen-gen ini berkontribusi pada perkembangan sel kanker. Gen-gen terkait kanker yang menyebabkan perubahan fisiologis dasar dalam perkembangan kanker, disebut dengan *Hallmarks of cancer* yang secara bersama-sama membentuk fenotipe suatu kanker. (35) *Hallmark of cancer* merupakan suatu kumpulan kemampuan yang didapat oleh sel manusia untuk berkembang dari normal menjadi neoplasia, sehingga kemampuan ini menjadi krusial untuk perkembangan malignansi. Istilah ini pertama kali diperkenalkan oleh Hanahan dan Weinberg pada tahun 2000, yang mencakup 6 kemampuan sel kanker yaitu kemampuan mencetuskan sinyal pertumbuhan sendiri (*self-sufficiency in growth signals* atau *sustaining proliferative signaling*), tidak responsif terhadap sinyal anti pertumbuhan (*insensitivity to anti-growth signals* atau *evading growth suppressors*), menghindari apoptosis (*evading apoptosis* atau *resisting cell death*), angiogenesis berkelanjutan (*sustained angiogenesis* atau *inducing angiogenesis*), invasi jaringan dan metastasis (*tissue invasion & metastasis* atau *activating invasion & metastasis*),

dan potensi replikasi tak terbatas (*limitless replicative potential* atau *enabling replicative immortality*). Perbedaan istilah ini berkaitan dengan perbaruan *hallmark of cancer* oleh Hanahan dan Weinberg pada tahun 2011.(46,47)

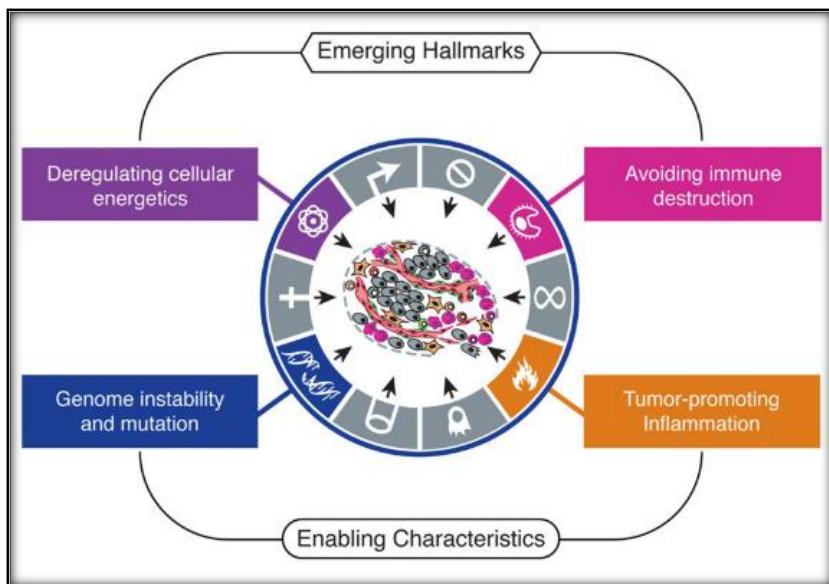


Gambar 3.1. *The Hallmark of Cancer*. (47)

Seperti yang terlihat, *hallmark of cancer* menunjukkan kemampuan sel kanker untuk bertahan hidup, membelah diri, dan melakukan diseminasi, yang diperlukan dalam tumorigenesis berbagai jenis kanker. Pada tahun 2011, Hanahan dan Weinberg menambahkan dua karakteristik baru, dimana salah satu karakteristik yang disebut dengan *enabling characteristic* yang mencakup mutasi dan instabilitas genom serta inflamasi yang menyebabkan tumor, menjadi karakteristik yang menyebabkan suatu sel kanker



memiliki kemampuan-kemampuan inti dari *hallmark of cancer*. Selain itu, pada tahun yang sama, dilaporkan pula terdapat 2 karakteristik baru pada kanker, yang berperan dalam memfasilitasi perkembangan dan progresivitas banyak tipe sel kanker. Dua karakteristik ini yaitu mencakup kemampuan pengaturan ulang energi atau metabolisme selular dan kemampuan dalam menghindari destruksi sistem imun.(47)

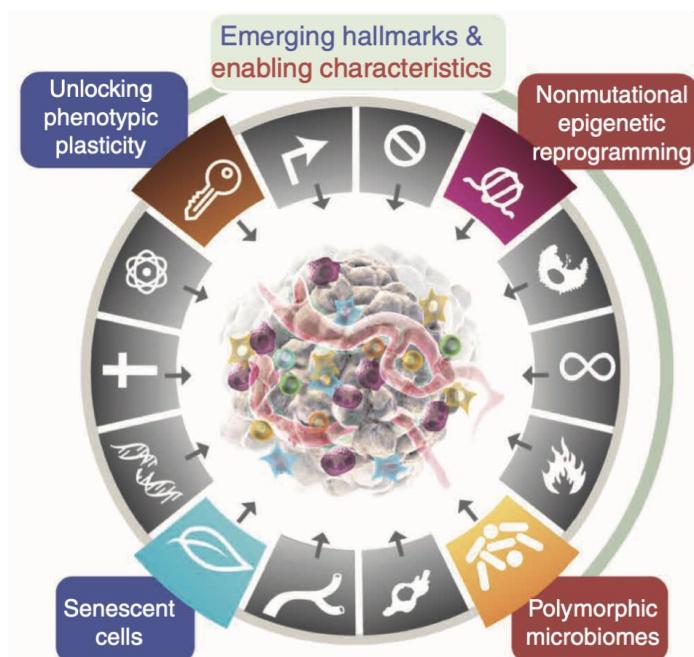


Gambar 3.2. *Emerging Hallmarks* dan *Enabling Characteristics*.(47)

Baru-baru ini, tepatnya pada tahun 2022, Hanahan dan Weinberg menyatakan bahwa 6 karakteristik yang telah disebutkan sebelumnya (2000) merupakan inti dari *hallmark of cancer*. Namun demikian, ke-6 ciri ini tidak dapat

menjelaskan secara kompleks perkembangan kanker secara molekular dan selular. Dalam 1 dekade terakhir banyak sekali penelitian yang telah membuktikan adanya peran lingkungan mikro tumor (TME) pada kanker, yang mengakibatkan adanya interaksi berbagai populasi kanker dan sel punca kanker pada stroma. Sehingga, terdapat karakteristik baru dan merupakan *enabling characteristic* yang memfasilitasi patomekanisme molekular dan selular kanker, yaitu *unlocking phenotypic plasticity, nonmutational epigenetic reprogramming, polymorphic microbiom, dan senescent cells*.

(48) Ke semua karakteristik ini akan dibahas pada BAB ini.



Gambar 3.3. Empat karakteristik baru dari *hallmark of cancer* tahun 2022 oleh Hanahan dan Weinberg.(48)

Semua sel normal di dalam tubuh kita memerlukan stimulasi oleh faktor pertumbuhan (*growth factors*) untuk dapat membelah diri (proliferasi). Pada umumnya faktor pertumbuhan ini diproduksi oleh suatu jenis sel tertentu yang kemudian akan memengaruhi sel di sekitarnya untuk menimbulkan mekanisme pembelahan sel. Namun, sel-sel kanker berbeda. Sel kanker memiliki berbagai strategi agar dapat terus membelah dan menjadi tidak sensitif terhadap pengaturan pertumbuhan normal. Strategi ini yang kemudian disebut dengan karakteristik ***sustaining proliferative signalling***.(8,35,47,49)

Jaringan yang normal tentu dapat mempertahankan pembelahan sel secara normal dengan mengatur produksi dan pelepasan sinyal pertumbuhan, yang bertujuan mempertahankan homeostasis jumlah sel pada struktur dan fungsi yang normal. Sebelum kita membahas lebih lanjut kemampuan sel kanker untuk mempertahankan sinyal proliferasi, kita pahami dulu bagaimana proses normal proliferasi yang mencakup: (35,47)

1. Pengikatan **faktor pertumbuhan** pada **reseptor** spesifiknya di membran sel.

2. Aktivasi sementara atau terbatas pada reseptor faktor pertumbuhan, kemudian terjadi aktivasi transduksi sinyal oleh beberapa **protein pada membran**.
3. Transmisi sinyal melalui sitosol ke nukleus oleh *second messengers* atau kaskade dari molekul transduksi sinyal.
4. Induksi dan aktivasi faktor regulator nuklear yang menginisiasi dan mengatur transkripsi DNA.
5. Sel memasuki siklus sel dan berakhir pada pembelahan sel.

Sel kanker memiliki kemampuan untuk menyintesis dan memproduksi faktor-faktor pertumbuhan, seperti pada glioblastoma, dimana sel kanker mampu memproduksi *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan juga mengekspresikan reseptor PDGF. Sehingga tanpa stimulus dari luar pun, sel ini dapat terus membelah. Mekanisme lainnya yaitu sel kanker dapat menstimulus stroma (jaringan di sekitar tumor) untuk memproduksi faktor-faktor pertumbuhan yang mendukung pembelahan dan pertumbuhan sel kanker. (6,8,35,47,49)

Kemudian, kita lihat pada tahapan transduksi sinyal adalah reseptor faktor pertumbuhan. Beberapa onkogen yang terbentuk dari adanya peningkatan ekspresi atau mutasi reseptor ini telah diidentifikasi. Reseptor mutan ini, uniknya, dapat menyampaikan sinyal mitosis pada sel walau pun tanpa adanya faktor pertumbuhan pada lingkungannya. Begitu pula

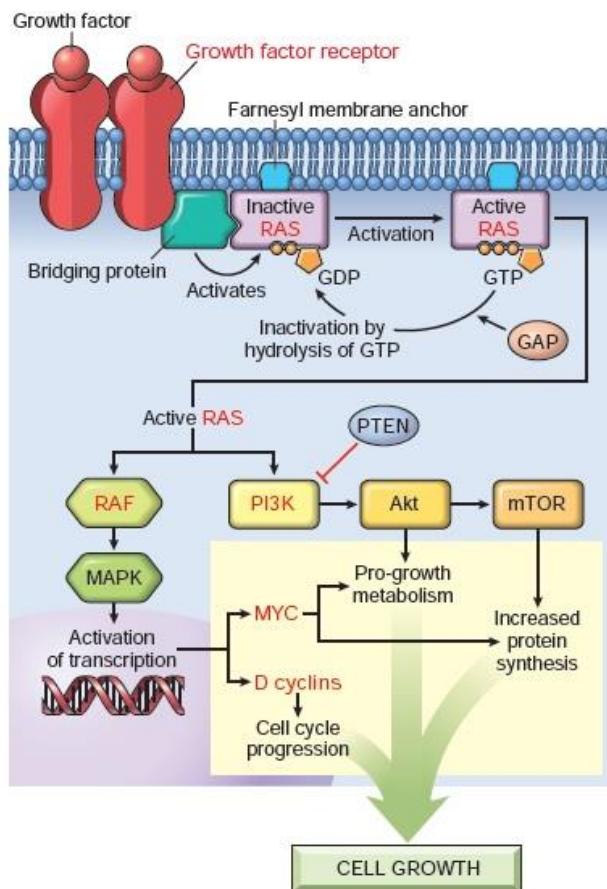
dengan peningkatan ekspresi protein reseptor faktor pertumbuhan pada kanker, menyebabkan reseptor menjadi hiper-responsif terhadap faktor pertumbuhan yang secara normal tidak mencetuskan proloferasi. Sebagai contoh modulasi ini adalah adanya peningkatan ekspresi reseptor faktor pertumbuhan epidermal (*epidermal growth factor*, EGF), ERBB1, yang ditemukan mengalami peningkatan ekspresi pada lebih dari 80% karsinoma sel skuamosa paru, 50% glioblastoma, dan 80-100% tumor epitelial kepala dan leher. Contoh lain adalah adanya mutasi reseptor golongan ini, yaitu gen HER2/NEU (ERBB2) yang mengalami amplifikasi pada 25-30% kanker payudara dan adenokarsinoma paru, ovarium, dan kelenjar saliva. Mutasi ini menyebabkan reseptor menjadi sangat sensitif terhadap sejumlah kecil faktor pertumbuhan.(6,35)

Mekanisme lain yang terlibat dalam autonomi pertumbuhan sel adalah mutasi pada berbagai gen yang menyandi beberapa komponen transduksi sinyal. Dua protein yang cukup penting terlibat dalam kaskade sinyal adalah RAS dan ABL. Pada BAB ini akan diambil salah satu contoh protein yang terlibat dalam autonomi pertumbuhan sel, yaitu RAS.

RAS yang merupakan keluarga protein G (*small G proteins*), adalah protoonkogen yang sering kali mengalami mutasi pada berbagai tumor, paling tinggi kejadiannya pada

kanker kolon dan adenokarsinoma pankreas. Normalnya, RAS inaktif saat berikatan dengan GDP. Adanya stimulasi faktor pertumbuhan seperti EGF dan PDGF dapat mengubah GDP menjadi GTP, sehingga mengaktifkan RAS dan menstimulasi regulator proliferasi menuju nukleus dan terjadi jalur sinyal proliferasi berikutnya. Aktivasi mutasional pada kanker yang mengaktifkan *messenger* menuju nukleus dapat menyerupai efek pertumbuhan akibat aktivasi RAS. Contohnya, mutasi pada BRAF pada jalur RAF/ERK/MAP kinase ditemukan pada lebih dari 60% melanoma, serta mutasi PI3 kinase pada jalur PI3K/AKT sering ditemukan pada berbagai tipe tumor. Protein RAS sering kali teraktivasi oleh mutasi titik residu asam amino pada area pengikatan GTP atau area enzimatik yang penting dalam hidrolisis GTP.(6,35,47,50)





Gambar 3.4. Gambaran aksi RAS pada aktivasi siklus sel. GDP, guanosine diphosphate; GTP, guanosine triphosphate; MAP, mitogen-activated protein; PI3, phosphatidylinositol-3.(6)

Semua jalur transduksi sinyal akhirnya akan memasuki nukleus. Baik RAS atau ABL akan menstimulasi faktor transkripsi nukleus yang selanjutnya akan menyebabkan ekspresi gen yang terlibat pada pertumbuhan sel. Adanya autonomi pertumbuhan pada kanker dapat pula merupakan hasil dari mutasi gen regulator transkripsi DNA.

Contoh onkogen yang berperan sebagai faktor transkripsi adalah MYC, MYB, JUN, FOS, dan REL, yang mengatur ekspresi gen pendorong pertumbuhan seperti siklin. Gen MYC dapat mengaktifasi atau menekan transkripsi gen lainnya. Gen yang diaktifasi contohnya adalah siklin D yang menyebabkan sel masuk ke dalam siklus sel. Sementara CDKIs (CDK *inhibitors*) mengalami represi oleh gen MYC ini. Disregulasi MYC akan meningkatkan tumorigenesis dengan adanya peningkatan ekspresi gen yang terlibat dalam siklus sel. Selain itu, MYC juga merupakan regulator utama pada metabolisme perantara, meningkatkan gen yang mendorong glikolisis aerobik (pada efek Warburg), dan meningkatkan penggunaan glutamin (perubahan metabolismik yang ditemukan pada *hallmark of cancer*). Disregulasi gen ini dapat disebabkan oleh adanya translokasi kromosom (8;14) pada limfoma Burkitt, atau amplifikasi pada kanker payudara, kolon, paru, dan kanker lainnya. (6,35,47)

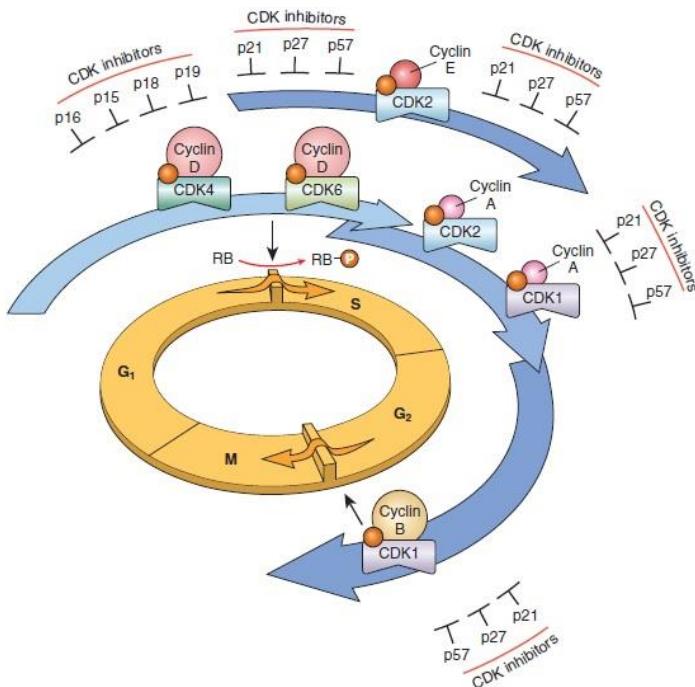
Mekanisme terakhir yang digunakan sel kanker untuk menunjang proliferasi terus menerus adalah memastikan disregulasi siklus sel dengan mutasi atau amplifikasi pada gen-gen terkait. Sebelum membahas lebih lanjut, mari kita ingat lagi proses siklus sel yang normal. Proliferasi sel dikendalikan oleh berbagai molekul yang saling berhubungan satu dengan yang lain. Untuk mencapai replikasi DNA dan pembelahan sel, maka sel harus melalui berbagai tahapan



siklus sel yang terdiri dari beberapa tahap yaitu fase G1 (pre-sintetis), S (sintesis DNA), G2 (pre-mitotik), dan fase M (mitosis). Beberapa jenis sel yang tidak bereplikasi atau regenerasi (*quiescent cells*), tidak akan masuk ke dalam siklus sel dan berada pada fase istirahat (G0) hingga mendapat stimulus tertentu.(6,35,47)

Transisi antara tiap fase ditentukan oleh berbagai molekul, contohnya transisi G1-S diregulasi oleh protein yang disebut dengan siklin (*cyclins*) dan enzim terkaitnya yaitu CDK. Terdapat lebih dari 15 siklin yang telah diidentifikasi yaitu siklin D, E, A, dan B pada siklus sel, dan berikatan pada satu atau lebih CDK. Kompleks ini memfosforilasi protein yang meregulasi transisi siklus sel, salah satunya adalah protein Rb. Aktivasi kompleks CDK-siklin diregulasi oleh CDK inhibitors (CDKIs) yang menghentikan siklus sel pada fase *checkpoint*, yang mana merupakan sistem pertahanan sel untuk memastikan tidak ada kromosom dan DNA yang rusak sebelum memasuki tahap siklus sel berikutnya. *Checkpoint* fase G1-S memastikan integritas DNA sebelum replikasi DNA, sementara pada *checkpoint* G2-M memastikan tidak ada kesalahan produk replikasi dan menentukan apakah sel dapat masuk ke dalam fase pembelahan (mitosis) atau tidak. Jika terdapat kesalahan pada kedua *checkpoints* ini, maka siklus sel akan dihentikan dan akan terjadi aktivasi mekanisme perbaikan DNA (DNA repair). Apabila kerusakan

yang timbul terlalu berat dan tidak dapat diperbaiki maka sel akan dieliminasi melalui proses apoptosis atau masuk ke dalam status non-replikatif yang disebut dengan *senescence*, yang terutama diatur oleh p-53. Mutasi pada gen-gen pengatur *checkpoint* ini menyebabkan sel dengan DNA yang rusak tetap mengalami pembelahan dan menghasilkan sel anak dengan DNA mutan pula. (6,8,35,47)



Gambar 3.5. Peran siklin, *cycline-dependent kinases* (CDKs) dan CDK *inhibitors* (CDKIs) pada siklus sel.(35)

Perubahan pada berbagai protein yang mengatur siklus sel (siklin dan CDK) menyebabkan proliferasi tak terkendali pada sel kanker. Sebagai contoh, peningkatan



ekspresi siklin D atau CDK4 banyak ditemukan pada berbagai kanker termasuk kanker payudara, esofagus, hepar, dan subtipe limfoma serta plasmasitoma. Amplifikasi gen CDK4 sering ditemukan pada melanoma, sarkoma, dan glioblastoma. Mutasi pada siklin B dan E serta CDK lainnya juga mungkin terjadi, namun lebih jarang ditemukan dibandingkan CDK4. Begitu pula kelompok CDKI, sering kali mengalami mutasi atau *gene silencing* pada berbagai keganasan. Delesi atau inaktivasi CDKN2A ditemukan pada 75% karsinoma pankreas, 40-70% glioblastoma, 50% kanker esofagus, dan 20% karsinoma paru tipe *non-small cell*, sarkoma jaringan lunak serta kanker kandung kemih. (6,8,35,47)

## ***Evading growth suppressor***

Pada pembahasan sebelumnya kita sudah mengenal suatu gen penekan tumor, salah satunya yaitu gen Rb. Gen ini merupakan pengatur utama siklus sel (*governor of the cell cycle*), sehingga jika terjadi mutasi atau perubahan pada gen ini, maka siklus sel akan terganggu dan kanker akan tumbuh. Sebagaimana kita ketahui, sel kanker merupakan sel yang sangat pintar memanipulasi pengaturan normal tubuh. Mekanisme ini juga terjadi pada pengaturan penghambatan pembelahan sel yang salah satunya diperankan oleh mutasi gen Rb. Mekanisme inilah yang menggambarkan karakteristik berikutnya yaitu ***evading growth suppressor***. (6,8,35,47)

Produk gen Rb adalah protein terikat DNA yang aktif jika mengalami hipofosforilasi, dan inaktif pada kondisi hiperfosforilasi. Gen ini berperan dalam pengaturan *checkpoint G1-S*, yang dipercaya sebagai “inti” siklus sel karena titik ini sangat penting. Inisiasi replikasi DNA memerlukan aktifitas kompleks siklin E-CDK2, dan ekspresi siklin E ini tergantung pada faktor transkripsinya yaitu E2F. Pada awal fase G1, protein Rb dalam status aktif berikatan dengan E2F, sehingga mencegah transkripsi siklin E. Selain berikatan langsung, Rb juga merekrut protein untuk memodifikasi kromosom yaitu deasetilase histon dan

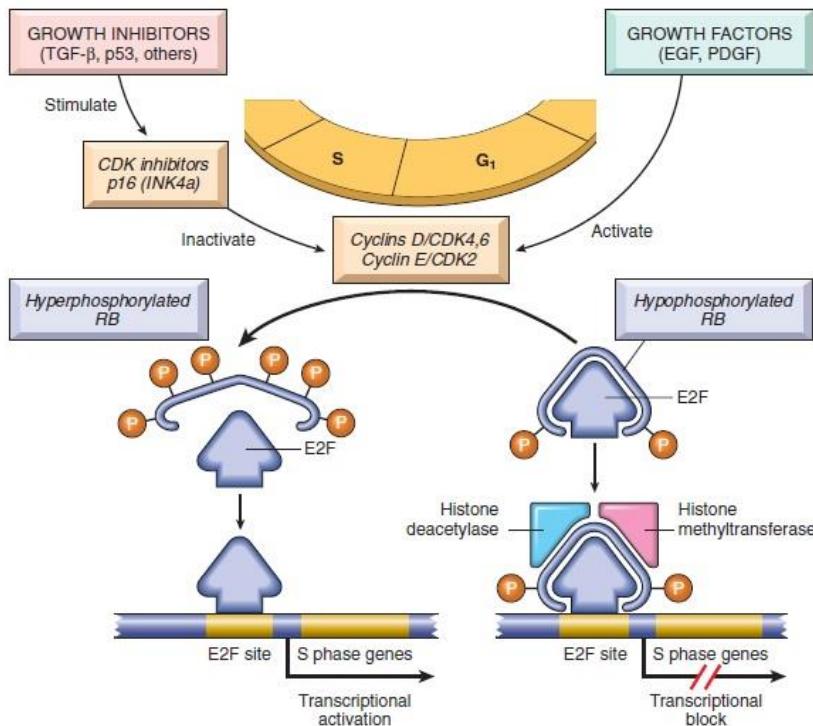


metiltransferase histon (ingat lagi penjelasan pada BAB Epigenetik), yang berikatan pada promoter gen yang akan diaktivasi oleh E2F, contohnya siklin E. Enzim ini memodifikasi kromatin pada area promoter sehingga DNA menjadi tidak sensitif terhadap faktor transkripsi. (6,8,35,47)

Saat terdapat sinyal mitogenik, maka sinyal faktor pertumbuhan menimbulkan ekspresi siklin D dan aktivasi kompleks siklin D-CDK4/6, yang kemudian memfosforilasi Rb dan menyebabkan protein ini menjadi tidak aktif. Inaktivasi Rb menyebabkan pelepasan E2F dan terjadi transkripsi gen yang diatur oleh faktor transkripsi ini, seperti siklin E. Ekspresi siklin E menstimulus replikasi DNA dan sel memasuki fase S, sehingga terjadilah pembelahan sel. (6,8,35,47)

Mutasi pada Rb tidak selalu ditemukan pada beberapa kanker. Sering kali dijumpai terdapat mutasi pada gen lain yang mengatur fosforilasi Rb, sehingga menyerupai efek dari gangguan atau kehilangan Rb walaupun tidak ada mutasi pada gen Rb tersebut. Sebagai contoh, aktivasi CDK4 mutan atau peningkatan ekspresi siklin D menyebabkan fosforilasi dan inaktivasi Rb. Siklin D mengalami peningkatan ekspresi pada beberapa jenis kanker dikarenakan amplifikasi atau translokasi gen. Penyebab lain dari disregulasi Rb ini adalah virus onkogenik. Contohnya protein E7 dari *human papillomavirus* (HPV) yang berikatan pada Rb yang

mengalami hipofosforilasi, mencegah Rb berikatan dengan faktor transkripsi E2F, sehingga terjadi pertumbuhan tak terkontrol.(8,35,47)



Gambar 3.6. Peran Rb dalam siklus sel. Rb mengalami hipofosforilasi pada suatu kompleks yang mengikat E2F, suatu faktor transkripsi yang berikatan pada DNA, merekrut faktor *remodeling* (deasetilasi histon dan metiltransferase histon), menghambat transkripsi gen penghasil protein yang diperlukan untuk fase S siklus sel. Ketika Rb terfosforilasi oleh kompleks siklin D-CDK4, siklin D-CDK6, dan siklin E-CDK2, maka E2F akan dilepaskan dan mengaktifasi transkripsi gen-gen fase S. Fosforilasi Rb dihambat oleh CDKI. EGF, *epidermal growth factor*; PDGF, *platelet-derived growth factor*.(35)



Selain gen Rb, terdapat suatu gen penekan tumor lainnya yaitu gen TP53, yang berperan sebagai “penjaga” integritas genom. Gen ini bekerja sebagai respons dari adanya stres internal sel seperti anoksia (tidak adanya oksigen), aktivitas abnormal dari onkoprotein, dan adanya kerusakan integritas DNA. Gen ini berperan dalam mencegah transformasi ganas dengan 3 cara yaitu: (1) aktivasi mekanisme yang menjadikan siklus sel berhenti secara temporer (*quiescence*), (2) menginduksi siklus sel berhenti secara permanent (*senescence*), dan (3) menginduksi kematian sel terprogram (apoptosis). Pada kanker, lebih dari 70% gen ini mengalami mutasi, sehingga respons terhadap stress internal seperti kerusakan integritas DNA tidak dapat berjalan normal.(3,6,8,35,47)

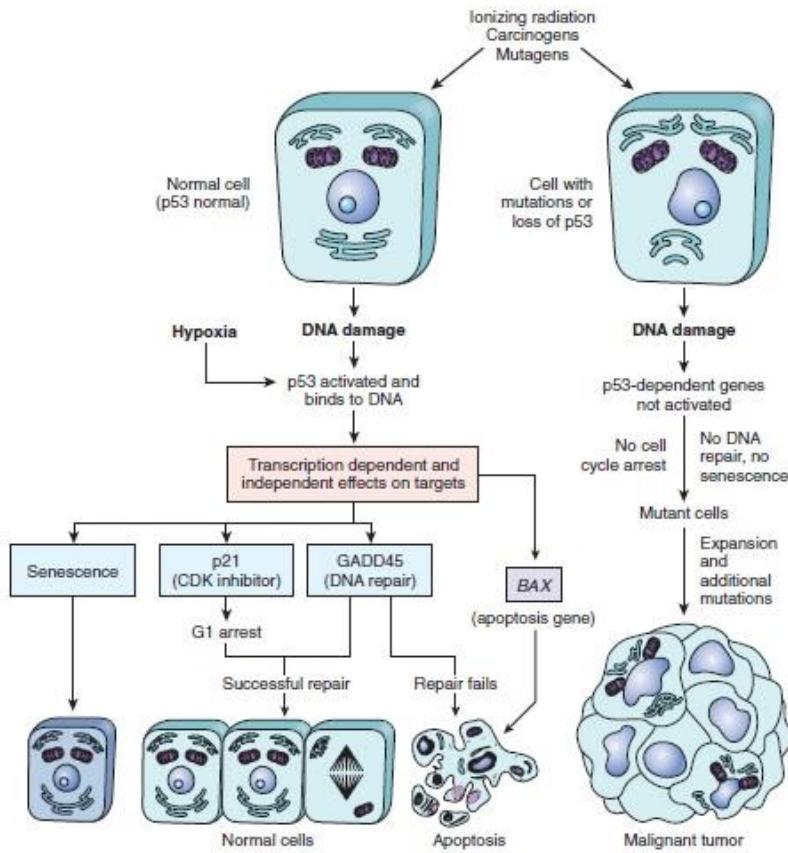
Protein p53 berperan penting pada jalur sinyal yang mendeteksi stres seluler, terutama kerusakan DNA, serta pemendekan telomer, hipoksia, dan stres akibat sinyal pertumbuhan yang berlebihan seperti yang diakibatkan oleh mutasi gen RAS dan MYC. Pada sel sehat, enzim MDM2 menyebabkan p53 yang tidak berfungsi mengalami degradasi oleh proteasom, sehingga p53 tidak akan terdeteksi pada sel normal.(6,8)

Kerusakan DNA maupun hipoksia sel menyebabkan aktivasi p53 melalui inisiasi dua protein kinase, yaitu *ataxia-telangiectasia mutated* (ATM) dan *ataxia-telangiectasia and*

*Rad3 related* (ATR). Gen ATM awalnya diidentifikasi sebagai mutasi *germline* pada individu dengan ataksia-telangiectasia. Pasien dengan penyakit ini dicirikan dengan ketidakmampuan perbaikan pada tipe kerusakan DNA tertentu. Tipe kerusakan DNA yang dideteksi oleh ATM dan ATR berbeda, tapi memiliki efek yang sama. Saat teraktivasi, maka kedua protein ini menstimulus fosfobilasi beberapa protein, termasuk p53 dan MDM2. Modifikasi post-translasional ini menyebabkan gangguan ikatan antara p53 dan MDM2, sehingga degradasi berkurang dan p53 berakumulasi di dalam sel. (3,6,8)

Adanya stres onkogenik juga berperan dalam aktivasi dan akumulasi p53. Aktivasi onkoprotein seperti RAS menyebabkan sinyal pertumbuhan melalui jalur seperti MAPK dan PI3K/AKT. Melalui mekanisme yang belum diketahui, sinyal berlebihan ini menyebabkan stres seluler dan terjadi peningkatan ekspresi p14/ARF yang dikode oleh gen penekan tumor CDKN2A. P14/ARF ini berikatan dengan MDM2 dan menyebabkan penurunan degradasi p53, sehingga jumlahnya meningkat di dalam sel. (3,6,8)





Gambar 3.7. Peran p53 dalam mempertahankan integritas genom. Aktivasi p53 normal oleh adanya kerusakan DNA menyebabkan terhentinya siklus sel pada G1 dan induksi perbaikan DNA oleh upregulasi transkripsional salah satu CDKI, CDKN1A (p21) dan gen GADD45 (*growth arrest and DNA damage*). Jika perbaikan berhasil, maka siklus sel akan berlanjut, jika gagal maka p53 memicu apoptosis maupun senesens. Pada sel dengan TP53 mutan, kerusakan DNA tidak memicu perbaikan DNA atau penghentian siklus sel, sehingga tetap berproliferasi dan membentuk neoplasma malignan. (35)

Mutasi TP53 ditemukan pada berbagai tipe kanker seperti kanker paru, kolon, dan payudara—tiga penyebab utama kematian akibat kanker. Gen TP53 menyandi protein

p53, yang diatur pada berbagai level. Tidak ditemukannya mutasi TP53 pada beberapa tumor menyebabkan banyak peneliti yang mencari penyebab disregulasi dari gen ini. Ternyata terdapat berbagai mutasi pada protein yang mengatur fungsi p53. Contohnya, MDM2 dan protein-protein terkait mencetuskan degradasi p53, dan protein ini sering kali ditemukan mengalami peningkatan ekspresi pada berbagai keganasan dengan alel TP53 normal. Gen MDM2 ini mengalami amplifikasi pada 33% sarkoma, menyebabkan defisiensi fungsional p53. Beberapa onkovirus pun diketahui berikatan dengan p53 dan menyebabkan degradasi protein tersebut. Onkoprotein E6 dari HPV menggunakan mekanisme ini dalam patogenesisnya menyebabkan karsinoma serviks dan subtipe kanker sel skuamosa kepala dan leher. (3,6,8,47)

Selain Rb dan p53, terdapat protein lain yang berpotensi menghambat proliferasi, yaitu TGF- $\beta$ . Pada sel epitelial, endotelial, dan sel hematopoietik normal, protein ini merupakan inhibitor proliferasi yang cukup kuat. TGF- $\beta$  meregulasi berbagai proses seluler dengan berikatan pada suatu kompleks yang terdiri dari reseptor TGF- $\beta$  I dan II. Ikatan ini menyebabkan kaskade sinyal yang menghasilkan aktivasi transkripsional CDKI, serta represi gen pendorong pertumbuhan sel seperti MYC, CDK2, CDK4, dan gen yang menyandi siklin A dan E. (3,6,8,35)



Pada berbagai kanker, jalur penghambatan TGF- $\beta$  terganggu oleh adanya mutasi yang memengaruhi jalur sinyal TGF- $\beta$ . Contoh mutasi ini yaitu pada reseptor TGF- $\beta$  tipe II atau molekul SMAD yang berperan dalam transduksi sinyal anti-proloferatif dari reseptor ke nukleus. Mutasi tipe ini ditemukan pada kanker kolon, lambung, dan endometrium. Inaktivasi mutasional SMAD4 yang terlibat dalam jalur sinyal TGF- $\beta$ , sering ditemukan pada kanker pankreas. Namun, fungsi TGF- $\beta$  ini juga tergantung pada status gen lainnya di dalam sel. Protein ini dapat berfungsi menghambat, tapi juga memfasilitasi pertumbuhan tumor. Pada tumor stadium lanjut, sinyal TGF- $\beta$  dapat mengaktifkan transisi epitel menjadi mesenkim (*Epithelial-to-mesenchymal transition EMT*), suatu proses yang mengawali migrasi, invasi, dan metastasis pada kanker (akan dibahas pada bab selanjutnya).(6)

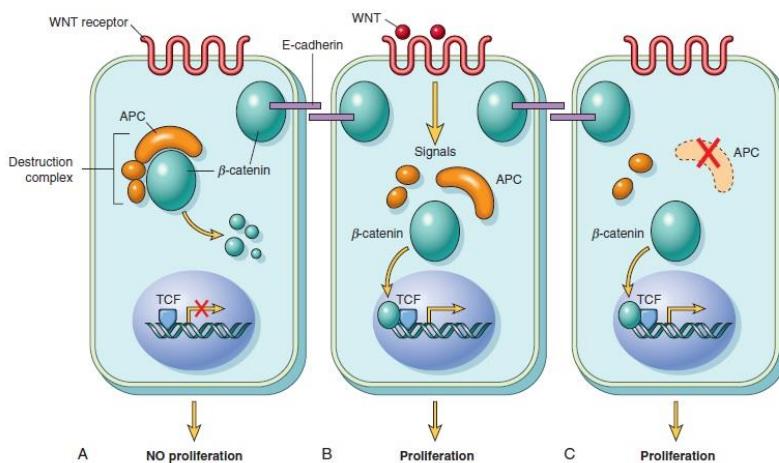
Terdapat satu mekanisme penting lainnya yang diperlukan untuk menghambat proliferasi sel yang tidak terkontrol, yaitu kontak antar sel atau disebut dengan mekanisme “inhibisi kontak”. Mekanisme ini sering lenyap pada sel kanker, sehingga sel tersebut dapat bertumpuk satu sama lain. Kontak antar sel dimediasi oleh interaksi homodimerik antara protein transmembran yang disebut *chaderin*. Pada sel epitel, terdapat *E-cadherin* yang memediasi kontak antarsel. Sebuah gen penekan tumor, NF2, diketahui

berperan dalam mempertahankan kontak antar sel. Produk dari gen ini ialah neurofibromin-2 yang sering dikenal dengan merlin, memfasilitasi inhibisi kontak yang dimediasi oleh *E-cadherin*. Kehilangan homozigot NF2 (*Neurofibromin* 2) dapat menyebabkan pembentukan tumor neural, yaitu neurofibromatosis. (6)

Mekanisme lain dalam regulasi *E-cadherin* melibatkan gen penekan tumor, yaitu APC (*adenomatous polyposis coli*, nama gen diambil dari penyakit herediter). Gen ini menyandi protein sitoplasma yang berperan mengatur kadar intraseluler  $\beta$ -katenin, suatu protein yang berikatan pada bagian sitoplasma *E-cadherin* serta berperan dalam jalur persinyalan WNT (dalam proliferasi sel). Seperti yang sudah kita bahas sebelumnya, bahwa pada sel yang tidak membelah,  $\beta$ -katenin sitoplasma didegradasi. Kompleks yang berperan dalam degradasi ini mengandung APC sebagai komponennya. Pada sel ganas, terdapat disregulasi yang menyebabkan APC tidak terekspresi atau disfungsi, sehingga degradasi  $\beta$ -katenin terhambat. Hal ini menyebabkan transkripsi gen pendorong pertumbuhan, seperti siklin D-1 dan MYC serta regulator transkripsional seperti TWIST dan SLUG yang menekan ekspresi *E-cadherin*. Rentetan jalur ini menyebabkan reduksi inhibisi kontak oleh *E-cadherin*. Dari berbagai jalur ini, dapat kita pahami peran APC sebagai gen penekan tumor. Berbagai kanker juga menggunakan jalur



APC ini untuk mempertahankan proliferasi sel. Ditemukan sekitar 70-80% mutasi APC pada kanker kolon. Uniknya, pada kanker ini pula ditemukan mutasi pada  $\beta$ -katenin yang menyebabkan molekul ini “kebal” terhadap aksi degradasi oleh APC. (3,6,47)



Gambar 3.8. Peran APC dalam pengaturan stabilitas dan fungsi  $\beta$ -katenin. APC dan  $\beta$ -katenin merupakan komponen jalur sinyal WNT. Pada sel istirahat,  $\beta$ -katenin membentuk kompleks makromolekular yang mengandung protein APC, dan menyebabkan destruksi  $\beta$ -katenin. Ketika sel distimulus oleh molekul WNT, kompleks destruksi dinonaktifasi, sehingga degradasi  $\beta$ -katenin tidak terjadi dan kadarnya di dalam sitoplasma meningkat. Terjadi translokasi  $\beta$ -katenin menuju nukleus, berikatan dengan TCF—suatu faktor transkripsi—yang terlibat pada siklus sel. Ketika APC mengalami mutasi atau tidak diekspresikan, maka destruksi  $\beta$ -katenin tidak terjadi, terjadi pembelahan sel terus menerus. (35)

## ***Resisting Cell Death***

Kematian sel dengan jalur apoptosis (kematian sel terprogram) merupakan respons protektif terhadap berbagai kondisi patologis yang dapat mencetuskan keganasan jika dibiarkan. Adanya kerusakan genomik pada sel, umumnya akan dieliminasi dan diinduksi untuk apoptosis jika tidak memungkinkan untuk diperbaiki. Sinyal berupa adanya kerusakan DNA, disregulasi onkoprotein seperti MYC, dan hilangnya perlekatan pada membran basalis, akan mencetuskan apoptosis.(3,6,47)

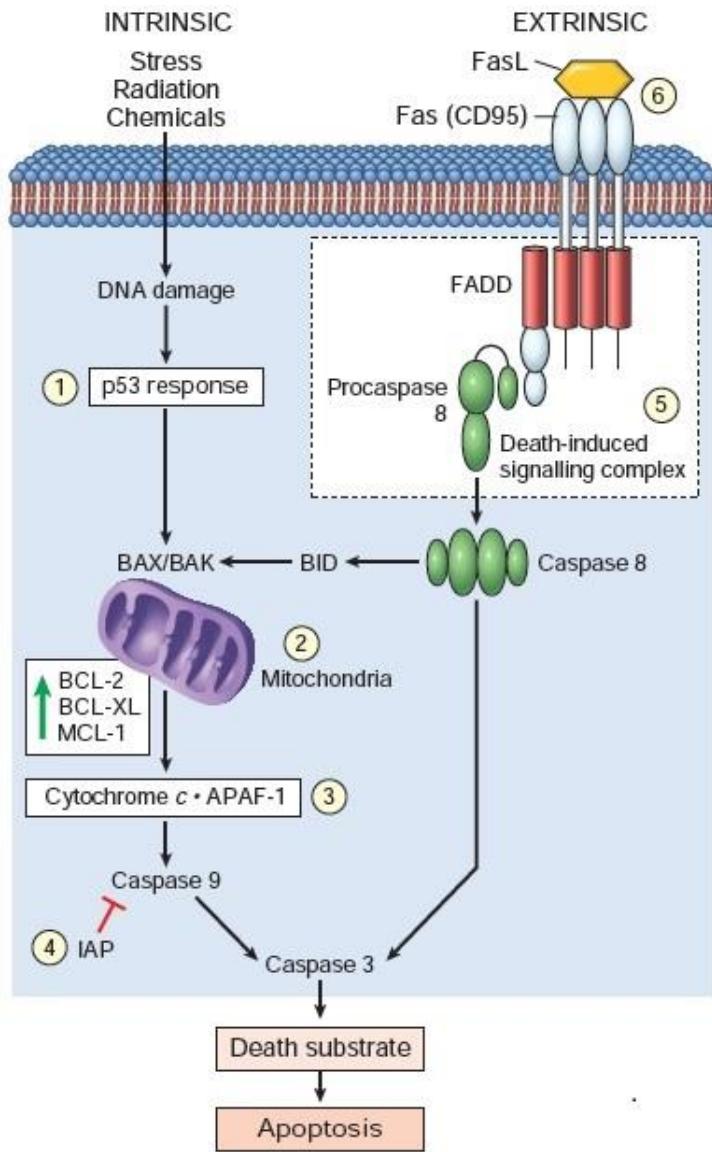
Jalur apoptosis dapat diklasifikasikan menjadi bagian “hulu” sebagai regulator dan “hilir” yang merupakan efektor. Regulator pada jalur ini dibagi lagi menjadi 2 jalur utama yaitu jalur yang menginterpretasikan sinyal ekstraseluler (berasal dari luar sel) dan intraseluler (berasal dari dalam sel). Jalur ekstraseluler (melalui reseptor kematian sel) diinisiasi ketika CD95/Fas berikatan pada ligan-nya, menyebabkan trimerizasi reseptornya dan domain “kematian” pada sisi sitoplasma, kemudian menarik protein adaptor intraseluler yaitu FADD. Protein ini merekrut pro-kaspase 8 untuk membentuk suatu kompleks persinyalan yang menginduksi apoptosis. Untuk dapat aktif, pro-kaspase 8 dipotong menjadi unit lebih kecil membentuk kaspase 8.



Kaspase 8 dapat mengaktifasi BID dan mengaktifasi jalur intrinsik sekaligus. (3,6)

Sementara jalur intrinsik yang melalui jalur mitokondria, umumnya distimulus oleh berbagai faktor seperti stres maupun jejas atau cedera sel. Aktivasi jalur ini menyebabkan peningkatan permeabilitas membran luar mitokondria, sehingga molekul seperti *cytochrome c* dapat keluar dan menginisiasi apoptosis. (3,6)

Integritas membran luar mitokondria diatur oleh protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis yang merupakan golongan protein BCL2. BAX dan BAK, yang merupakan protein pro-apoptosis, diperlukan untuk apoptosis dan secara langsung meningkatkan permeabilitas membran mitokondria. Namun, aktivitas ini dihambat oleh protein anti-apoptosis seperti BCL2, BCL-XL, dan MCL1. Terdapat tiga bagian protein disebut dengan protein khusus BH3—terdiri dari BAD, BID, dan PUMA—yang mendeteksi stimulus apoptosis dan bekerja dengan menetralisasi aksi protein anti-apoptosis seperti BCL2 dan MCL1. Aksi ini diikuti dengan aktivasi BAX dan BAK, yang membentuk pori pada membran mitokondria. Sitokrom c yang dilepaskan kemudian berikatan pada APAF1, dan mengaktifasi kaspase 9. Protein ini berlanjut mengaktifasi kaspase 3 (kaspase eksekutor) yang memotong DNA dan menyebabkan kematian sel. (3,6,47)



Gambar 3.9. Jalur intrinsik dan ekstrinsik apoptosis dan mekanisme yang digunakan sel kanker untuk menghindari kematian sel.(6)

Pada kanker, gen dan protein pada jalur-jalur ini sering kali mengalami perubahan fungsi, sehingga menyebabkan mekanisme yang disebut dengan ***resisting cell death***. Pada keganasan sel limfoid, sel kanker menghindari apoptosis dengan meningkatkan peran BCL2. Sekitar 85% limfoma sel B dicirikan dengan adanya translokasi (14;18)(q32;q21). Seperti yang diketahui bahwa 14q32 merupakan lokasi gen *immunoglobulin heavy chain* (IgH) ditemukan, dan ikut berperan dalam patogenesis limfoma Burkitt. Jajaran posisi ini menyebabkan peningkatan ekspresi protein BCL2 pada sel B yang bertransformasi sehingga terhindar dari apoptosis. (35,47,49)

## *Enabling Replicative Immortality*

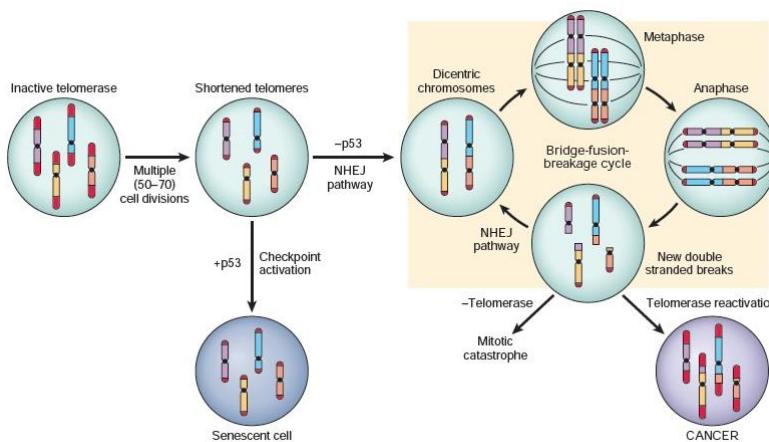
Pada *hallmark of cancer* terdapat suatu mekanisme lain yang membentuk fenotipe kanker yaitu ***enabling replicative immortality***, yaitu suatu potensi pembelahan sel kanker secara terus menerus. Semua sel kanker memiliki kemampuan replikasi tak terbatas (*limitless replicative potential*). Terdapat tiga mekanisme yang tampaknya berkaitan dengan kemampuan sel kanker ini, (1) penghindaran penuaan (*senescence*); (2) penghindaran krisis mitotik, dan (3) kapasitas untuk memperbarui diri sendiri. (3,6,47)

Seperti yang kita ketahui, bahwa suatu sel normal memiliki batasan untuk membelah, yang mana rata-rata kapasitas membelah sel adalah sebanyak 60-70 kali. Setelah memasuki batas maksimal pembelahan, maka sel akan memasuki fase *sensescence* yaitu tidak lagi membelah secara permanen. Kondisi *sensescence* berhubungan dengan upregulasi protein penekan tumor seperti p53 dan INK4a/p16. Protein-protein ini berperan dalam mempertahankan Rb dalam kondisi hopofosforilasi, yang diperlukan agar siklus sel masuk dalam fase istirahat. Seperti yang telah kita bahas sebelumnya, bahwa fase ini sering kali mengalami gangguan pada kanker baik oleh perubahan genetik maupun epigenetik. (3,6,8,47)



Sel yang dapat menghindari penuaan belum tentu dapat mempertahankan aktivitas replikasinya, sehingga diperlukan mekanisme lain untuk menjadikan sel kanker imortal. Bahkan sel yang terus membelah tersebut dapat masuk dalam kondisi krisis mitosis dan mengalami kematian. Proses ini terjadi akibat suatu mekanisme pemendekan telomer yang terletak pada ujung kromosom. Telomer merupakan bagian khusus pada DNA yang berikatan pada beberapa jenis kompleks protein protektif. Sebagian besar sel somatik tidak mengekspresikan telomerase—enzim yang berperan dalam mempertahankan telomer—and setiap kali membelah, telomer akan memendek. Ketika telomer semakin pendek, maka DNA pada ujung kromosom akan diidentifikasi sebagai DNA untai ganda yang rusak. Hal ini mengaktifasi p53 dan sel akan masuk dalam proses apoptosis. Akan tetapi, pada sel kanker terjadi disfungsi p53, sehingga jalur *nonhomologous endjoining* teraktivasi dan menyambungkan dua kromosom yang “telanjang” (tidak ditutupi oleh telomer). Penggabungan ini membentuk kromosom disentrik, yang dipisahkan pada anafase (fase mitosis), menghasilkan DNA untai ganda rusak yang baru. Proses ini terus menerus terjadi, menghasilkan katastrop (bencana) mitosis dan kematian sel. Pada sel yang mengalami instabilitas genomik, terdapat reaktivasi telomerase yang dapat menyebabkan berhentinya pemendekan telomer, sehingga sel dapat menghindari

kematian. Namun, reaktivasi ini menyebabkan penumpukan mutasi di dalam sel sehingga dapat menimbulkan transformasi ganas. Mekanisme ini ditemukan pada 85-95% tipe kanker, di mana ditemukan peningkatan regulasi telomerase.(3,6,8,35,47)



Gambar 3.10. Mekanisme penghindaran sel dari penuaan (*senescence*) dan krisis mitosis yang disebabkan oleh pemendekan telomer.(6)

Jika boleh, saya akan menyebut sel kanker sebagai sel yang jenius. Bagaimana tidak? Selain menggunakan berbagai mekanisme sel untuk menghindari penuaan dan “kematian”, mempertahankan replikasi dan menghindari krisis mitosis yang sering menyertai proses ini, sel kanker memiliki kemampuan lain dalam memperbarui dirinya. Kemampuan ini penting untuk mencapai sifat “imortal” sel kanker.

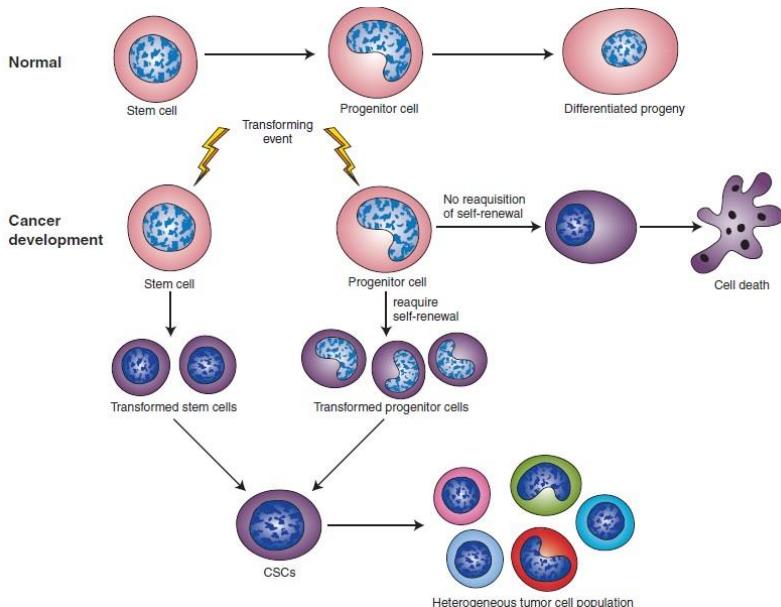


Pada kondisi sel normal, pembaruan diri ini memiliki makna bahwa setiap kali sel punca membelah, paling sedikit terdapat satu atau dua sel anakan yang berfungsi sebagai sel punca pula. Pada pembelahan simetris, kedua sel anakan tetap mirip sel induk yaitu menjadi sel punca (terjadi selama embriogenesis atau ekspansi kelompok sel punca atau selama stres sel). Namun, pada pembelahan asimetrik, hanya satu dari sel anakan yang tetap berfungsi sebagai sel punca, sementara sel anakan lainnya berlanjut pada jalur diferensiasi yang berbeda. Sel-sel ini memiliki potensi proliferasif tinggi, tapi setelah berdiferensiasi mereka akan berhenti membelah.(6,8)

Sel kanker meniru cara ini untuk mendapatkan sifat imortal dan kapasitas proliferasif tak terbatasnya. Sel kanker membentuk sel punca sendiri. Namun tidak diketahui bagaimana sifat sel punca ini didapat oleh sel kanker, apakah memang sel kanker merupakan transformasi ganas dari sel punca, ataukah sel kanker merupakan transformasi sel somatik yang mendapatkan sifat sel punca (*stemness*). (3,6,8,47)

Walaupun belum diketahui dengan jelas bagaimana sifat ini terbentuk, sifat sel punca pada kanker memiliki dampak penting pada terapi kanker. Adanya sel punca kanker menyebabkan sel kanker resistan terhadap terapi konvensional anti-kanker, yang diakibatkan oleh lambatnya

waktu pembelahan sel dan ekspresi faktor-faktor seperti *multiple drug resistance-1* (MDR1).(6,8,47)



Gambar 3.11. Sel punca kanker. Adanya stimulus onkogenik pada sel punca, dapat menyebabkan perluasan kelompok sel punca yang bertransformasi dan membentuk sel punca kanker (*cancer stem cells*, CSCs). Stimulus onkogenik juga dapat memengaruhi sel progenitor sehingga membentuk CSCs.(51)



## *Inducing Angiogenesis*

Berbagai cara dilakukan oleh sel kanker untuk bertahan, tumbuh dan imortal. Namun semua itu tidak dapat membantu tumor untuk membesar dengan diameter lebih dari 1-2 mm, kecuali sel kanker memiliki vaskularisasi (aliran darah) yang cukup. Sama seperti sel normal, sel kanker tentu saja memerlukan oksigen dan zat gizi, serta memerlukan suatu sistem untuk membuang zat sisa metabolismenya. Untuk memenuhi kebutuhan ini, maka sel kanker menstimulus pembentukan pembuluh darah baru (***inducing angiogenesis***), yang tentu saja pembuluh darah baru ini bersifat abnormal yaitu berdilatasi atau melebar dan sangat “bocor”. Adanya pembuluh darah baru ini memiliki efek pada pertumbuhan tumor yaitu dengan menyediakan keperluan zat gizi dan oksigen. Selain itu adanya sel-sel endothelial (pelapis pembuluh darah) yang baru, akan meningkatkan pertumbuhan tumor akibat adanya sekresi faktor-faktor pertumbuhan seperti *insulin-like growth factor* (IGF), *platelet derived growth factor* (PDGF) dan *granulocytemacrophage colony-stimulating factor* (GMCSF). Angiogenesis (pembentukan pembuluh darah) tidak hanya diperlukan untuk pertumbuhan ukuran tumor namun berkaitan pula dengan kemampuan metastasis tumor.(6,35,47)

Angiogenesis merupakan proses percabangan, pembelahan sel, migrasi, dan pembentukan sel endotel dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. Proses ini umumnya dimanfaatkan selama embriogenesis, pasca persalinan, penyembuhan luka, serta pada peradangan kronis. Pengaturan mekanisme ini melibatkan faktor-faktor pro-angiogenik dan anti-angiogenik, yang mempertahankan keseimbangan status *“angiogenic switch”*.(6,49,51)

Kondisi hipoksia merupakan pencetus utama angiogenesis. Sel endotel memiliki mekanisme untuk mendeteksi adanya kekurangan oksigen, terutama diperankan oleh golongan *hypoxia-inducible transcription factor* (HIF). Faktor transkripsi ini mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam angiogenesis, pertahanan sel, metabolisme, dan inflamasi. Pada sel kanker, umum ditemukan kondisi hipoksia yang mencetuskan tingginya kadar HIF dan berkorelasi dengan buruknya prognosis. Pencetus angiogenesis lainnya adalah lingkungan mikro tumor yang bersifat asam, perubahan gen regulator angiogenik, stres mekanik, dan infiltrasi sel radang terutama makrofag. (35,49)

Efektor angiogenesis mencakup berbagai molekul pro-angiogenik, terutama jalur persinyalan VEGF yang dikontrol oleh aktivitas HIF, dan sinyal pertumbuhan. Sementara, VEGF diekspresikan secara berlebihan dalam



berbagai tipe keganasan. dan persinyalan yang diaktifkan pada keganasan ini mengarah pada proliferasi sel endotel, migrasi dan diferensiasi, serta mediasi permeabilitas vaskular. Sebaliknya, faktor-faktor anti-angiogenik (contohnya *thrombospondin-1*, TSP-1) mengalami gangguan dan disregulasi yang mengakibatkan ketidakseimbangan “angiogenic switch” pada sel kanker. (35,49)

### ***Ability To Invade And Metastasis***

Salah satu pembeda tumor jinak dan ganas adalah kemampuannya untuk menginvasi jaringan sekitarnya dan penyebaran pada organ yang lebih jauh (***ability to invade and metastasis***). Penyebaran tumor ganas terjadi melalui suatu proses yang cukup panjang dan kompleks. Langkah-langkah yang dilalui adalah invasi jaringan sekitar (lokal), intravasasi ke dalam pembuluh darah dan saluran limfatis, transit mengikuti aliran darah, ekstravasasi dari dalam pembuluh darah ke luar, pembentukan mikrometastasis pada jaringan yang sesuai, dan pertumbuhan mikrometastasis menjadi tumor yang dapat terlihat secara makroskopik. Kemampuan ini melibatkan suatu mekanisme invasi pada matriks ekstraseluler (lingkungan di sekitar sel tumor) dan diseminasi pembuluh darah.(6,8,47,51) Mekanisme ini akan kita bahas khusus pada BAB selanjutnya (Lingkungan Mikro Kanker dan Metastasis).



Telah banyak kita bahas bersama bahwa terdapat banyak penyimpangan genetik yang meningkat bersamaan dengan tingginya kejadian mutasi pada kanker. Hal ini diperlukan dalam proses transformasi sel ganas dan progresi tumor. Normalnya, walau sel kita terpapar berbagai agen karsinogen, perubahan sel menjadi ganas tidak dengan mudah terjadi. Sel normal memiliki “mesin” perbaikan DNA, kemampuan apoptosis jika kerusakan tidak dapat diperbaiki, penuaan sel akibat adanya induksi onkogenik, serta adanya sistem imun yang mempertahankan homeostasis sel.

Mesin perbaikan DNA sangat diperlukan untuk menjaga integritas genom. Hal ini dibuktikan dengan ditemukannya defek gen penyandi protein yang terlibat dalam perbaikan DNA pada berbagai kelainan yang diwariskan. Individu dengan gangguan protein ini memiliki kecenderungan peningkatan risiko kanker. Uniknya, mutasi pada gen penyandi protein ini, walau tidak bersifat onkogenik, dapat meningkatkan terjadinya mutasi pada gen lain selama proses pembelahan sel normal. **Instabilitas genomik** terjadi saat terdapat defek pada kedua salinan gen perbaikan DNA (beberapa penelitian menyebutkan haplo-insufisiensi pada gen ini juga dapat menyebabkan kanker). *Hallmark* ini merupakan ciri dari kebanyakan sel kanker,

dimana terjadi peningkatan kecenderungan perubahan genomik selama pembelahan sel. (6,8,52)

Mari kita ingat lagi mekanisme sel untuk menjaga integritas genom melalui beberapa mekanisme pertahanan yaitu titik pemeriksaan kerusakan DNA (*DNA damage checkpoint*), mesin perbaikan DNA, dan titik pemeriksaan mitosis. Defek pengaturan mekanisme ini menyebabkan instabilitas genomik, yang menyebabkan sel dapat bertransformasi menjadi sel maligna. Berikut ini akan kita bahas mengenai berbagai mekanisme pertahanan sel dalam mempertahankan integritas genom.

### 1. *DNA Damage Checkpoint*

Protein p53 merupakan suatu penekan tumor poten yang berperan sebagai pusat kompleks transduksi sinyal, jalur p53. Jalur ini merupakan sistem pertahanan utama melawan kanker. Berbagai stres onkogenik pada sel akan disensitisasi oleh jalur ini, dan kemudian ditentukan respons seluler yang cocok untuk meminimalkan dampak tumorigenik agen-agen ini. Aktivasi p53 dapat menginduksi apoptosis atau penuaan (*senescence*) jika kerusakan terlalu berat.(3,6,8,34,51,52)

Kemudian terdapat protein lainnya yaitu ATM (*ataxia telangiectasia-mutated*), sebuah serin/treonin kinase seluler yang berperan dalam memediasi respons seluler terhadap kerusakan DNA. Saat terjadi kerusakan



DNA, ATM terfosforilasi dan menjadi aktif, kemudian mengaktifasi protein lainnya yang mencakup p53, γH2AX, dan Chk2. Tampak bahwa aktivasi p53 melalui fosforilasi ATM merupakan jalur penting dalam fungsi p53. Jalur-jalur ini sering kali dimanfaatkan sel kanker untuk menyebabkan kerusakan DNA sehingga terjadi instabilitas genomik. (3,6,8,34,51,52)

## 2. *DNA Repair Pathway* (Jalur Perbaikan DNA)

Kerusakan DNA yang tidak diperbaiki akan meningkatkan kemampuan transformasi ganas sel kanker, sehingga sel berespons dalam berbagai tahap untuk mengatasi kerusakan ini. Proses perbaikan ini mencakup *nucleotide excision repair* (NER), *base excision repair* (BER), *mismatch repair* (MMR), dan *DNA double strand break repair* (DSBR). (3,6,8,34,52)

Terdapat lebih dari 25 protein yang terlibat dalam mekanisme NER, berperan dalam mengganti nukleotida termodifikasi dengan nukleotida yang seharusnya. Lesi DNA yang diakibatkan oleh radiasi UV, agen kimia seperti aflatoksin B1, dan agen kemoterapi seperti cisplatin, umumnya diperbaiki melalui mekanisme ini. Terdapat tiga jalur NER yang berbeda, yaitu *global genomic repair* (GGR), *transcription-coupled repair* (TCR), dan *differentiation-associated repair* (DAR). Setiap komponen jalur ini sangat penting untuk keberhasilan perbaikan

pada lesi DNA. Defek pada protein di jalur ini diketahui berperan pada berbagai penyakit seperti *Xeroderma Pigmentosum*, *Cockayne's syndrome*, *Trichothiodystrophy*, dan berbagai tipe kanker. Seorang individu dengan penyakit *Xeroderma Pigmentosum* memiliki risiko mendapat kanker kulit, terutama akibat radiasi sinar UV. Seperti yang telah dibahas pada bab pertama, radiasi UV menyebabkan ikatan silang residu pirimidin dan mencegah replikasi DNA yang normal. Perbaikan DNA akibat radiasi ini memerlukan berbagai protein dalam mekanisme NER. (3,6,8,34,52)

Mekanisme selanjutnya adalah *base excision repair* (BER), yang bekerja dengan mengganti basa termodifikasi dengan basa yang benar melalui deaminasi, metilasi, dan oksidasi. Basa termodifikasi tersebut dieliminasi oleh enzim glikosilase DNA spesifik yang berfungsi mengenal dan memotong perubahan struktural basa dari genom. Segera setelah proses pemotongan basa, daerah tanpa basa ini diisi oleh basa yang dihasilkan oleh *polymerase delta/epsilon*. Sementara ujung bebas akan segera diligasi oleh enzim ligase.(3,6,8,34,52)

Sistem *mismatch repair* (MMR) pada mekanisme perbaikan DNA berfungsi menghilangkan basa yang tidak cocok (*mismatch*), yang dibentuk oleh agen eksogen



maupun endogen penyebab deaminasi, oksidasi, dan metilasi basa. Selain itu, sistem ini juga memperbaiki ketidakcocokan basa akibat adanya insersi atau delesi, dan eror pada replikasi. Beberapa protein berpartisipasi dalam mekanisme ini. MutS (MSH1–6, MLH1 and MLH3) dan MutL (PMS1 and PMS2) diketahui berperan dalam mendekripsi basa yang tidak cocok, sementara pemotongan basa dilakukan oleh enzim eksonuklease I, dan nukleotida yang benar akan disintesis oleh enzim polimerase  $\delta$ .(3,52)

Salah satu contoh kanker yang timbul akibat defek pada gen penyandi protein yang terlibat dalam MMR adalah sindrom kanker kolon non-poliposis hederiter (*hereditary nonpolyposis colon cancer*, HNPCC). Sindrom ini merupakan penyakit autosomal dominan yang dicirikan oleh karsinoma familial yang terutama ditemukan di daerah sekum dan kolon proksimal. Pada defek sistem perbaikan ini sering kali ditemukan instabilitas mikrosatelit (pengulangan tandem 1-6 nukleotida yang ditemukan pada genom). Pasien dengan HNPCC, mikrosatelit ini bersifat tidak stabil dan panjangnya dapat bertambah atau berkurang pada sel tumor, yang mana hal ini tidak ditemukan pada sel normal pasien yang sama. Contoh gen yang mengalami mutasi pada HNPCC adalah mutasi sel germinal pada gen

MSH2 dan MLH1, yang ditemukan pada hampir 30% kasus.(6,8,34,52)

Mekanisme terakhir yaitu sistem DSBR yang memperbaiki terputusnya DNA untai ganda. Terdapat dua mekanisme utama sistem ini, yaitu *nonhomologous end joining* (NHEJ) dan *homologous repair* (HR). Pada mekanisme NHEJ, ujung untai DNA yang terputus diligasi oleh enzim ligase spesifik. Namun pada jalur ini, terdapat kekurangan pada sistem kontrol sekuens homolog, sehingga disebut sebagai proses yang rawan kesalahan. Berbagai kesalahan pada genom seperti delesi, inversi, dan abnormalitas lainnya dapat terjadi akibat proses perbaikan ini. Berbeda dengan jalur HR yang minim kesalahan pada proses perbaikannya.(34,47,52)

### 3. *Mitotic Checkpoint*

Pemeriksaan sebelum sel memasuki tahap berikutnya pada siklus sel sangatlah penting untuk memastikan tidak ada cacat pada genom. Titik pemeriksaan mitosis memastikan kesesuaian perlekatan orientasi poros mikrotubulus pada semua kromosom terkondensasi sebelum pemisahan nukleus selama mitosis. Berbagai protein yang terlibat pada mekanisme ini yaitu Bub1, Bub3; Mad1, Mad2, dan Mad3. Diketahui terdapat mutasi pada gen Bub1, Bub1B, Bub3 pada *cell line* kanker kandung kemih. Beberapa protein virus juga menarget



mekanisme ini untuk dapat bertahan hidup. Gen Tax dari HTLV-1 mengacaukan jalur ini pada sel *host*-nya dengan menarget langsung dan mengaktifasi secara prematur APC/C (*anaphase promoting complex/cyclosome*, suatu molekul pada siklus sel) dan Mad 1, sehingga dihasilkan sel aneuploid. Begitu pula onkoprotein EBNA3C dari EBV (*Epstein-barr virus*) yang menurunkan kadar protein BubR1.(34,47,52)

## ***Tumor-Promoting Inflammation***

Kanker adalah luka yang tak pernah sembuh

Jika boleh, saya akan meminjam istilah menarik dari kondisi peradangan yang disebabkan oleh sel kanker, yaitu “luka yang tak pernah sembuh”. Kondisi ini disebabkan oleh reaksi peradangan akibat infiltrasi sel kanker pada jaringan sekitarnya. Bahkan pada stadium lanjut, reaksi radang ini cukup berat hingga menimbulkan gejala dan tanda sistemik seperti anemia, kelelahan, dan kakeksia. Nyatanya, timbul suatu lingkaran setan dimana sel radang juga berefek dalam modifikasi lingkungan mikro kanker sehingga menguntungkan sel itu sendiri. Terjadi interaksi langsung antara sel radang dan sel kanker, maupun melalui efek sel radang pada sel stroma kanker khususnya *cancer-associated fibroblasts* dan sel endotel. (3,6,47,53)

Sebagian kanker diinfiltasi oleh sel radang baik itu dari kelompok sistem imun bawaan maupun adaptif, sehingga peradangan terjadi pada jaringan non-neoplastik di sekitarnya. Dahulu kita berpikir bahwa sistem imun berperan penting dalam eradikasi tumor, akan tetapi ternyata adanya respons anti-tumor ini disertai dengan kemampuan tumor menghindari efek pengrusakan dari sistem imun. Respons peradangan terkait tumor memiliki efek paradoksikal dalam meningkatkan tumorigenesis dan progresivitas tumor.



Inflamasi atau peradangan berkontribusi dengan menyediakan molekul bioaktif ke dalam lingkungan mikro tumor, termasuk faktor pertumbuhan yang mempertahankan sinyal proliferasi, faktor pertahanan yang menurunkan angka kematian sel, faktor pro-angiogenik, enzim yang memodifikasi matriks ekstraseluler untuk memfasilitasi angiogenesis, invasi, dan metastasis, serta sinyal yang dapat mengaktifasi EMT (*epithelial to mesenchymal transition*). Berbagai mekanisme ini akan kita bahas lebih dalam pada bab selanjutnya mengenai lingkungan mikro dan metastasis kanker. (3,6,47)

## ***Reprogramming Energy Metabolism***

Sel yang aktif membelah seperti kanker memerlukan energi yang cukup untuk keperluan pertumbuhan dan pembelahan sel, sehingga diperlukan mekanisme untuk meningkatkan metabolisme energi selnya. Pada kondisi aerobik, sel normal menggunakan glukosa untuk membentuk piruvat melalui glikolisis di dalam sitosol dan menghasilkan karbon dioksida di dalam mitokondria. Pada kondisi anaerob, hanya sedikit piruvat yang diteruskan ke dalam mitokondria. Efek Warburg menunjukkan adanya perubahan metabolisme energi pada sel kanker, dimana walau terdapat oksigen, sel kanker memprogram ulang metabolisme glukosanya dengan membatasi metabolisme energi melalui glikolisis (glikolisis aerob). (6,47,54–56)

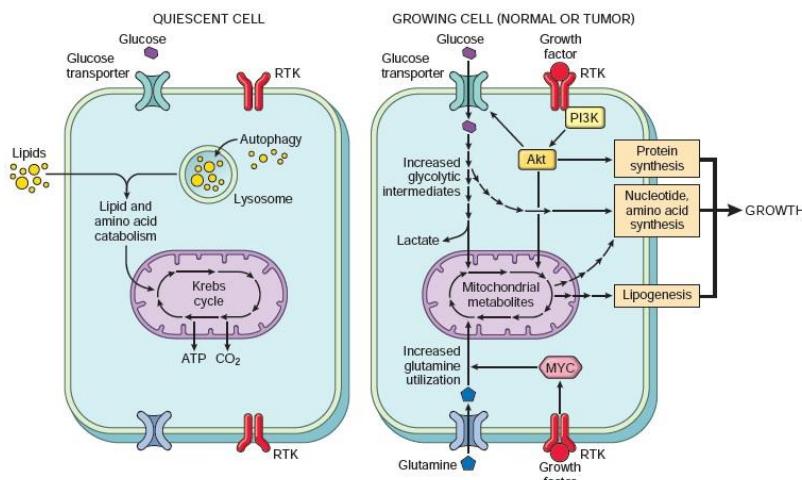
Pergantian mekanisme metabolisme ini memungkinkan sel kanker 18 kali lebih efisien dalam menghasilkan ATP dibandingkan metabolisme melalui fosforilasi oksidatif mitokondria. Sel kanker meningkatkan ekspresi *transporter* glukosa, yaitu GLUT1, sehingga impor glukosa ke dalam sitoplasma dapat meningkat. Mekanisme ini tampaknya berhubungan dengan onkogen teraktivasi dan gen penekan tumor yang telah mutan (contohnya TP53). Tentu saja, perubahan ini digunakan untuk memfasilitasi kemampuan proliferasi sel, menghindari kontrol sitostatik,



dan menurunkan kemungkinan terjadinya apoptosis. Metabolisme glikolisis anaerob dimungkinkan dengan adanya kondisi hipoksia, yang digunakan pada kebanyakan tumor. Adanya kondisi hipoksia dan onkoprotein RAS (secara terpisah) meningkatkan kadar faktor transkripsi yaitu HIF1a dan HIF2a. Sistem respons hipoksia ini berperan dalam meningkatkan ekspresi *transporter* glukosa dan berbagai enzim pada jalur glikolisis. Selain itu, peningkatan glikolisis memungkinkan terjadinya penyimpangan jalur antara (*intermediate*) menjadi berbagai jalur biosintesis seperti pembentukan nukleosida dan asam amino, sehingga memfasilitasi biosintesis makromolekul dan organel yang diperlukan untuk membentuk sel yang baru. (6,47,54–56)

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa sebagian kanker memiliki dua subpopulasi sel yang berbeda dalam jalur pembentukan energinya. Salah satu subpopulasi mengandung sel yang bergantung pada glukosa (*Warburg-effect*) yang menyekresi laktat, sementara sel lainnya menggunakan laktat yang diproduksi oleh sel tetangganya sebagai sumber energi. Tampak bahwa kedua subpopulasi ini berfungsi dengan saling bersimbiosis, dimana sel kanker yang mengalami hipoksia bergantung pada glukosa untuk energi dan mengeluarkan laktat sebagai produk sisa, dan zat sisa ini digunakan sebagai energi untuk sel lainnya. (6,47,54–56)

Berdasarkan pemaparan di atas, disimpulkan bahwa deregulasi metabolisme energi seluler merupakan inti dari *hallmark of cancer*. Pengalihan metabolisme energi ini utamanya diperankan oleh protein yang terlibat dalam jalur-jalur pemrograman pada penanda kanker. Sebagai contoh, glikolisis aerobik merupakan gambaran fenotipe yang diprogram oleh onkogen pemicu proliferasi. Mutasi teraktivasi pada enzim *isocitrate dehydrogenase 1/ 2*(IDH) telah diidentifikasi pada glioma dan tumor lainnya. Walaupun mutasi ini terjadi secara selektif memiliki kemampuan dalam mengubah metabolisme energi, ternyata dapat meningkatkan oksidasi dan stabilitas faktor transkripsi HIF1 yang kemudian berpengaruh pada stabilitas genom dan angiogenesis/ invasi. (47,55,56)



Gambar 3.12. Metabolisme dan pertumbuhan sel(6)

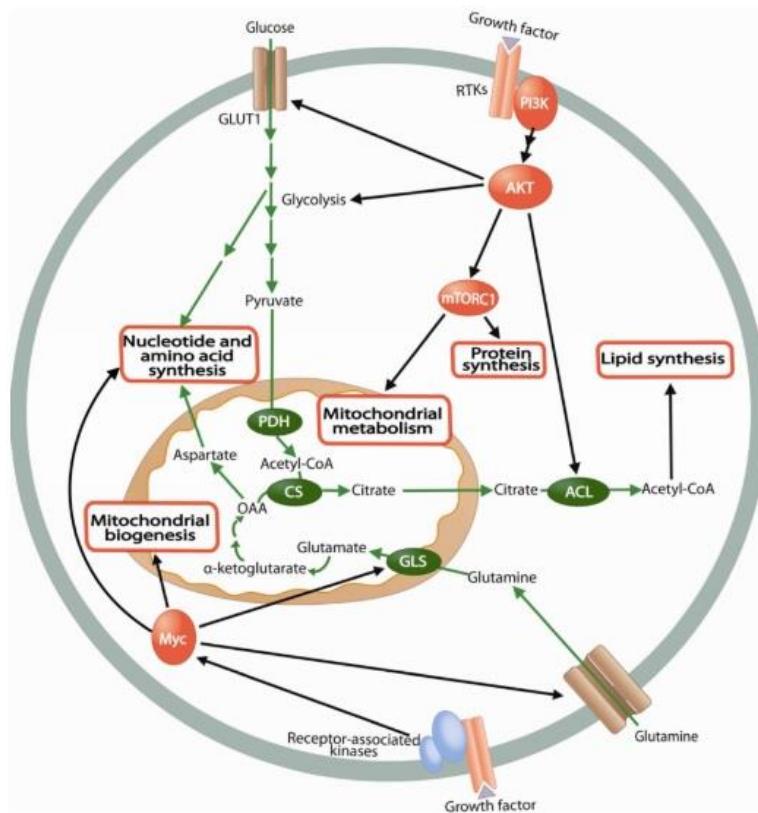


Pemrograman ulang akibat kaskade sinyal yang dimulai oleh reseptör faktor pertumbuhan, merupakan hasil deregulasi jalur-jalur normal sebagai efek dari mutasi onkogen maupun gen penekan tumor pada kanker. Pada sel normal, glikolisis aerobik akan berhenti segera setelah jaringan tidak lagi mengalami pertumbuhan, akan tetapi pada sel kanker proses ini terus berlangsung karena adanya aktivitas onkogen dan hilangnya fungsi gen penekan tumor. Berbagai jalur persinyalan terkait pemrograman ulang ini akan kita bahas sebagai berikut. (6,8,47,54–56)

## 1. Persinyalan PI3/AKT

Jalur sinyal ini meningkatkan aktivitas *transporter* glukosa pada permukaan sel dan berbagai enzim glikolisis seperti *hexokinase* (untuk *uptake* glukosa ke dalam sel melalui fosforilasi). Hal ini tentu saja akan meningkatkan glikolisis, mempromosikan pergeseran jalur antara mitokondria menjadi biosintesis lipid yang mencakup asam lemak, kolesterol, dan sintesis *isoprenoid* yang memerlukan *acetyl-CoA*, serta menstimulus berbagai faktor yang diperlukan untuk sintesis protein. Kompleks *pyruvate dehydrogenase* (PDH) yang mengkonversi piruvat yang berasal dari glukosa menjadi *acetyl-CoA* hanya berada di mitokondria. *Acetyl-CoA* mitokondrial ini tidak bisa secara langsung diekspor ke sitoplasma, sehingga harus berkondensasi dulu dengan

*oxaloacetate* untuk membentuk sitrat melalui aktivitas enzim mitokondrial yaitu *citrate synthase*. Di dalam sitoplasma, sitrat yang telah diekspor dari mitokondria kemudian dikonversi kembali menjadi *acetyl-CoA* oleh *ATP-citrate lyase* (ACL). AKT berperan dalam aktivasi dan fosforilasi ACL.(6,8,47,54–56)



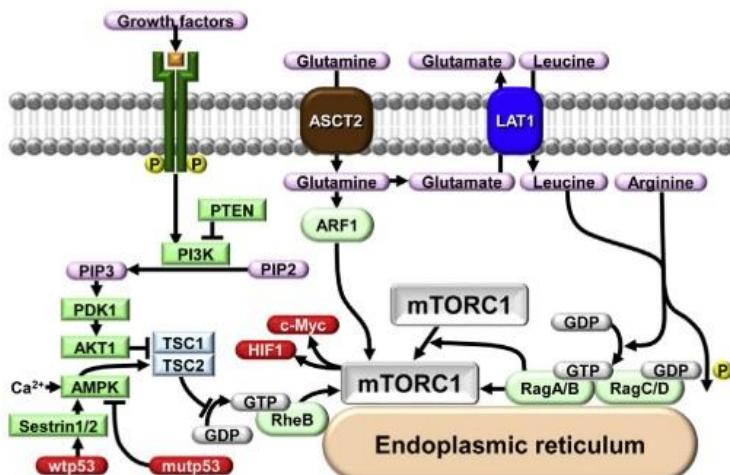
Gambar 3.13. Perubahan metabolisme sel dalam meningkatkan ambilan nutrien dan biosintesis.(55)



Persinyalan PI3K/AKT mengaktifasi mTORC1 sehingga menghasilkan pertahanan hidup dan pertumbuhan sel. Terdapat lima komponen molekul mTORC1, yaitu mTOR, *regulatory associated protein of mTOR* (RAPTOR), *DEP domain containing mTOR interacting protein* (DEPTOR), *proline-rich AKT substrate of 40-kDa* (PRAS40); dan *mammalian lethal with SEC13 protein 8* (mLST8). PI3K/AKT juga menginduksi ekspresi HIF1 dan c-MYC, yang terlibat dalam glikolisis. Persinyalan asam amino berlebihan akan mengaktifasi mTORC1 yang bergantung pada Rab1A, sehingga terjadi peningkatan pertumbuhan dan metastasis. Asam amino seperti glutamin, *leucin*, dan arginin meningkatkan aktivasi mTORC1 dan menyebabkan autofagi. Glutamin meningkatkan protein-G, *ADP ribosylation factor 1* (ARF1), sehingga mengaktifasi mTOR. Sementara *leucin* dan arginin menstimulasi rekrutmen mTORC1 pada permukaan lisosom dengan aktivasi *RagA/B affecting kinase*. Protein pengikat GTP yaitu RheB dapat meningkatkan aktivitas kinase dari mTOR. Di sisi lain, *wtp53* (*wild type p53*) mengaktifasi persinyalan *AMP-activated protein kinase* (AMPK)/TSC2 dengan menginduksi ekspresi *sestrin 1/ 2*, menghasilkan inaktivasi jalur RheB/mTORC1. Sementara *mutp53*

(mutant *p53*) menghambat AMPK sehingga dapat mengaktifasi mTORC1. (54–56)

Regulator pertumbuhan, mTORC1, yang merupakan hilir dari aktivasi jalur PI3K/AKT juga memiliki efek pada metabolisme mitokondria. Regulator pertumbuhan ini diketahui dapat mempromosikan translasi mRNA dan sintesis protein dengan menghambat faktor inisiasi translasi, 4E-*binding protein* (4E-BP1) dan aktivasi *ribosomal protein S6 kinase* (S6 K). MTORC1 juga dapat menghambat ULK1 dan HIF1, yang menginduksi autofagi dan glikolisis; menginduksi inflamasi; dan sintesis lipid melalui NF $\kappa$ B dan *sterol regulatory element binding protein 1* (SREBP1). (54–56)

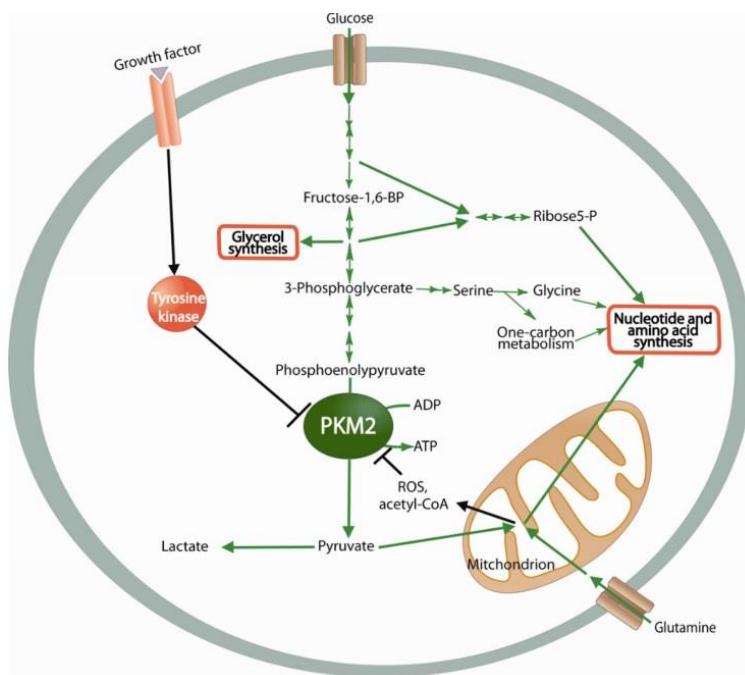


Gambar 3.14. Regulasi mTORC1(54)



## 2. Aktivitas reseptor *tyrosine kinase*

Baik sel yang sedang membelah, normal maupun maligna, mengekspresikan isoform M2 *piruvate kinase* (PKM2) yang mengkatalisis tahap akhir jalur glikolisis untuk mengonversi *phosphoenolpyruvate* menjadi piruvat. Reseptor *tyrosine kinase* memfosforilasi PKM2, sehingga melemahkan aktivitas enzimatiknya. Proses ini berefek pada meningkatnya jalur antara glikolisis, yang digunakan untuk sintesis DNA, RNA, dan protein.

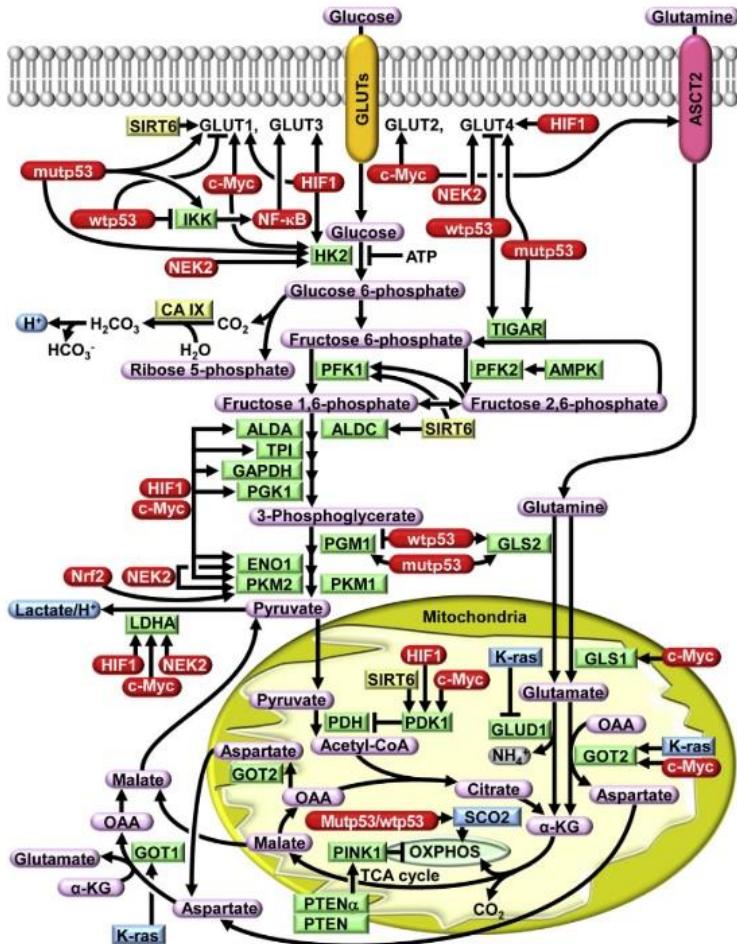


Gambar 3.15. Ekspresi *Pyruvate kinase M2* (PKM2) pada sel yang berproliferasi diatur oleh persinyalan *tyrosine kinase* dan metabolisme mitokondria untuk memfasilitasi sintesis makromolekul. (55)

### 3. Hipoksia

Seperti yang sudah dibahas sebelumnya, kondisi hipoksia menstimulus produksi laktat pada tumor, dengan mengaktivasi ekspresi gen yang tergantung pada *hypoxia-inducible transcription factor 1α* (HIF1α) seperti *glucose transporter 1* (GLUT 1), *hexokinase 2* (HK2), *pyruvate kinase M2* (PKM2), *pyruvate dehydrogenase kinase 1* (PDK1), *enolase 1* (ENO1), dan *lactate dehydrogenase A* (LDHA). Konversi piruvat menjadi laktat diperankan oleh LDHA, sementara PDK1 menghambat kerja PDH. Hipoksia menginduksi ekspresi *monocarboxylate transporter 4* (MCT4), yang berfungsi sebagai *proton-coupled transporter* untuk laktat saat melewati membran sel. Di sini dapat terlihat bahwa hipoksia memperkuat efek Warburg dengan meningkatkan sekresi laktat dari sel tumor. (54,55)





Gambar 3.16. Berbagai produk onkogen dan gen penekan tumor meregulasi metabolisme glukosa dan glutamin pada kanker. Pada sel tumor, glikolisis merupakan jalur utama penghasil ATP dibandingkan fosforilasi oksidatif. *Transporter* glukosa dan enzim metabolismik glikolisis diautoregulasi oleh onkogen, c-MYC. P53 mutan mengaktifkan *IkB Kinase* (IKK). Aktivitas *glucose transporter 4* (GLUT4) dan *phosphoglycerate mutase* (PGMI) diatur oleh p53. Hipoksia meningkatkan ketergantungan pada glikolisis untuk produksi energi melalui aktivasi HIF-1. *Malate* dan *oxaloacetate* (OAA) pada siklus TCA dimetabolisme menjadi piruvat di sitosol. Jalur ini penting untuk metabolisme glutamin. ASCT2, *neutral amino acid transporter* ; SIRT6, *distant mammalian Sir2 homolog* (sirtuin)

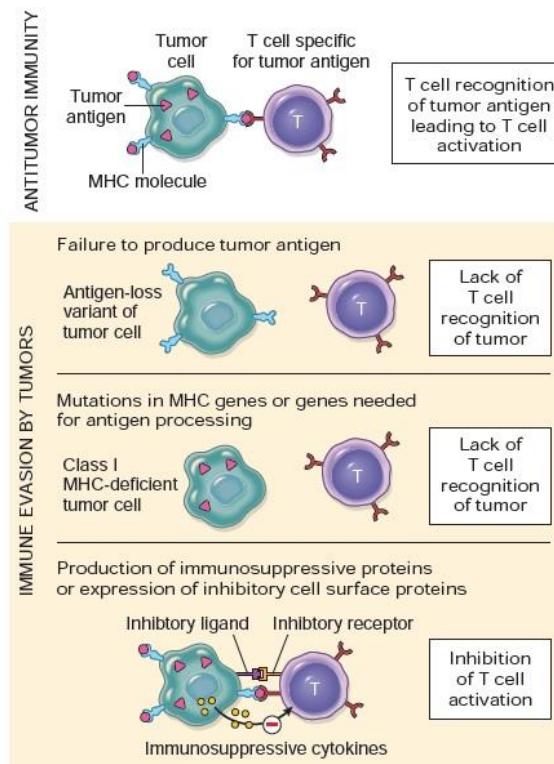
6); NEK2, *never in mitosis gene A-related kinase 2*; NF- $\kappa$ B, *nuclear factor- $\kappa$ B*; HK2, *hexokinase 2*, TIGAR, *TP-53-induced glycolysis and apoptosis regulator*; PFK1/2, *6-phosphofructo 1-kinase 1/2*; AMPK, *AMP-activated protein kinase*; ALDA/C, *aldolase A/C*; TPI, *triosephosphate isomerase*; GAPDH, *glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase*; PGK1, *phosphoglycerate kinase 1*; PGM1, *phosphoglycerate mutase 1*; ENO1, *enolase 1*; PKM1/M2, *pyruvate kinase M1/M2*; LDHA, *lactate dehydrogenase A*; Nrf2, *NF-E2-related factor 2*; PDH, *pyruvate dehydrogenase*; PDK1, *pyruvate dehydrogenase kinase 1*; PTEN, *tensin homolog on chromosome ten*; PINK1, *PTEN-induced putative kinase 1*; SCO2, *cytochrome c oxidase assembly factor 2*; GLS1/2, *glutaminase 1/2*; GLUD1, *glutamate dehydrogenase 1*; TCA cycle, *tricarboxylic acid cycle*.(54)



Lingkungan tumor—seperti yang akan kita bahas pada bab selanjutnya—berperan penting dalam menunjang sistem imun untuk mengeradikasi formasi dan progresi sel kanker hingga mencegah mikro-metastasis. (6,47,57) Sistem imun tampaknya berperan sebagai *barrier* untuk pembentukan dan progresi tumor. Diketahui bahwa adanya defisiensi fungsi ataupun perkembangan sel limfositik T sitotoksik CD8+ (CTLs), sel T *helper* Th1 CD4+, atau sel *natural killer* (NK), menyebabkan peningkatan insidensi tumor. Epidemiologi juga menyebutkan adanya respons imun anti-tumor pada sebagian kanker. Sebagai contoh, pasien dengan tumor kolon dan ovarium yang jaringannya diinfiltasi oleh CTL dan sel NK memiliki prognosis yang lebih baik dibandingkan mereka yang kekurangan sel imun tersebut. Tampak bahwa kedua sistem imun baik bawaan maupun adaptif, turut bekerja sama dalam *immuno surveillance* dan eradikasi tumor.

*Immune surveillance* pada respons imun terhadap kanker, berperan dalam mengenali dan mengeliminasi sel kanker. Sehingga untuk menghindari respons imun ini, sel kanker memerlukan berbagai jalur untuk menghindari deteksi atau melimitasi eradikasi oleh sistem imun. Beberapa mekanisme yang digunakan sel kanker di antaranya adalah:(3,6,47)

1. Pertumbuhan terbatas varian *antigen-negative*,
2. Hilang atau berkurangnya ekspresi molekul MHC,
3. Aktivasi jalur imunoregulator,
4. Sel kanker menyekresi faktor-faktor imunosupresan,
5. Induksi sel T regulator (Tregs).



Gambar 3.17. Mekanisme yang digunakan sel tumor untuk menghindari sistem imun. (6)



Mari diingat kembali, bahwa pertumbuhan dan perkembangan atau maturasi sel terjadi melalui beberapa tahapan. Dari progenitornya, sel akan mengalami diferensiasi hingga mencapai tahap akhir maturasi untuk dapat menjalankan fungsinya. Pada tahapan ini, sel akan mengalami penghentian pembelahan sel atau proliferasi. Namun, pada sel kanker hal ini bisa saja tidak terjadi. Bahkan proses ini dapat terjadi sebaliknya, dimana sel yang telah matur mengalami perubahan sehingga memiliki sifat seperti sel punca atau progenitor. Kemampuan inilah yang disebut dengan plastisitas fenotipeik, yang digunakan sel kanker untuk dapat menghindar dari kondisi diferensiasi terminal. Kapabilitas ini terjadi melalui tiga jenis mekanisme berbeda, yaitu dediferensiasi, hambatan atau blokade diferensiasi, dan transdiferensiasi. (48)

## 1. Dediferensiasi

Sel kanker yang berasal dari sel dewasa atau sudah mengalami diferensiasi terminal normal, dapat membalik proses diferensiasi untuk kembali pada status sel progenitor. Mari kita ambil contoh patomekanisme dediferensiasi pada karsinogenesis kolon. Pada kanker ini, terjadi mekanisme baik dediferensiasi pada kanker yang berasal dari sel epitel matur maupun mekanisme

hambatan diferensiasi pada kanker yang berasal dari sel progenitor atau sel punca. Proses dediferensiasi memerlukan hambatan maupun ekspresi berlebihan berbagai gen maupun faktor transkripsi. Dua faktor transkripsi yang berperan dalam perkembangan sel yaitu HOXA5 dan SMAD4, dan terlibat dalam transmisi sinyal BMP, diekspresikan cukup tinggi pada fase diferensiasi sel epitelial kolon. Diketahui bahwa ekspresi kedua protein ini mengalami penurunan pada karsinoma kolon stadium lanjut. Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa peningkatan ekspresi HOXA5 pada sel kanker kolon, berperan dalam mengembalikan penanda diferensiasi sel, menekan fenotipe sel punca, dan memperbaiki kondisi invasi dan metastasis. Sementara SMAD4 berperan untuk mengembalikan diferensiasi dan menekan proliferasi yang diperankan oleh adanya sinyal onkogenik WNT.(48)

## 2. Blokade Diferensiasi

Mekanisme plastisitas ini cukup berbeda dengan mekanisme dediferensiasi yang telah dibahas sebelumnya. Diferensiasi sel progenitor yang tidak selesai, sering kali diakibatkan oleh perubahan pengaturan yang akhirnya memblokade diferensiasi sel menuju fase terminalnya, yang normalnya tidak akan berproliferasi. Contoh adanya blokade ini dapat dilihat



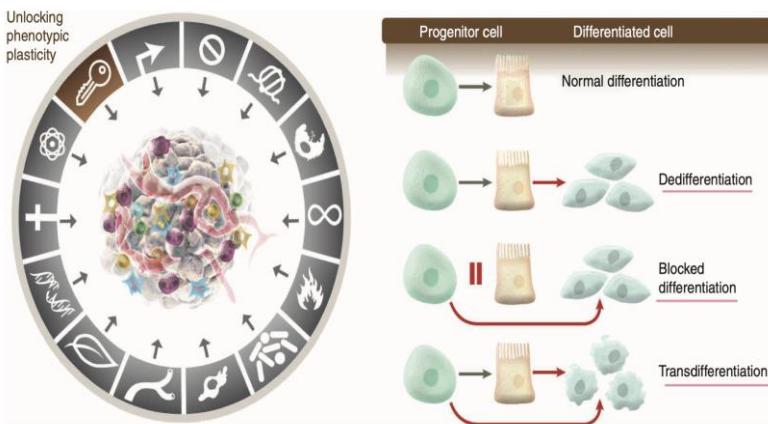
pada salah satu keganasan darah yaitu leukemia promielositik akut (APL), yang diakibatkan oleh translokasi kromosomal, dimana terjadi fusi lokus PML dengan gen yang mengkode *retinoic acid  $\alpha$  nuclear receptor* (RAR $\alpha$ ). Sel progenitor mieloid yang mengalami translokasi ini, tidak dapat melanjutkan proses diferensiasinya menuju diferensiasi terminalnya yaitu granulosit, sehingga sel tetap pada status proliferatif, yaitu sel progenitor promielositik. (48)

Contoh lainnya yaitu pada melanoma, dengan melibatkan suatu faktor transkripsi yaitu SOX10 yang normalnya mengalami penurunan ekspresi selama diferensiasi melanosit. Penelitian menunjukkan pada melanoma yang diinduksi BRAF, ekspresi faktor transkripsi ini cenderung meningkat, yang menyebabkan blokade diferensiasi sel progenitor neural menjadi melanosit, sehingga terbentuklah melanoma.(48) Hal ini menunjukkan berbagai mekanisme yang digunakan sel kanker untuk memperoleh kapabilitas blokade diferensiasi, untuk mempertahankan status progenitornya, agar dapat aktif membelah.

### 3. Transdiferensiasi

Konsep transdiferensiasi ini mirip dengan proses metaplasia, yang telah lama kita kenal, dimana sel mengubah morfologinya sehingga dikenal sebagai jenis

sel lainnya. Sebagai contoh yaitu pada esofagus Barrett's, dimana inflamasi kronis pada epitelium skuamosa berlapis yang melapisi esofagus menginduksi transdiferensiasi menjadi epitelium kolumnar yang merupakan karakteristik khas pada mukosa intestinal. Hal ini dapat mendorong terjadinya adenokarsinoma.(48)



Gambar 3.18. Kapabilitas membuka plastisitas fenotipeik pada kanker sebagai karakteristik kanker yang baru. (48)

Plastisitas sel tumor tentu saja dapat berperan dalam mempertahankan heterogenitas populasi sel intratumor, yang merupakan kunci dari evolusi kanker, respons terhadap terapi, dan progresivitas kanker. Selain berperan dalam menyebabkan heterogenitas, plastisitas ini menyebabkan pula timbulnya sel punca kanker, yang disebut *cancer stem cell* (CSC), yang



memiliki kemampuan dalam *self-renewal*, potensi diferensiasi, dan karakteristik tumorigenik dan metastasis. Kemampuan sel kanker dalam plastisitas fenotipnya, mengubah status terminal diferensiasi menjadi sel punca, atau sebaliknya, berperan penting dalam pertahanan hidup sel kanker tersebut.(58)

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## ***Nonmutational Epigenetic Reprogramming***

Salah satu karakteristik kanker yang menjadi faktor yang mendorong atau memfasilitasi munculnya 6 karakteristik inti lainnya, adalah instabilitas dan mutasi genom (DNA). Akan tetapi, dengan kemajuan penelitian di bidang kanker, ditemukan pula mekanisme lain selain mutasi genom sebagai penyebab kanker dan memfasilitasi karsinogenesis, yaitu pemrograman ulang genom dengan mekanisme pengaturan epigenetik, yang berfokus pada perubahan ekspresi gen, dan disebut dengan pemrograman ulang epigenetik non-mutasi. (48,58,59)

Apa saja perubahan pengaturan epigenetik ini? perubahan Regulasi epigenetik mencakup perubahan pada modifikasi histon dan gen, struktur kromatin, dan stimulus ekspresi gen yang berubah-ubah antara umpan balik positif maupun negatif. Konsep pengaturan epigenetik nonmutasi ini telah dikenal lama, dimana secara normalnya pengaturan ini digunakan pada perkembangan embrionik, diferensiasi, dan organogenesis. Adanya perubahan epigenetik dapat berakibat pada perubahan ekspresi gen, dan dapat mendorong terjadinya perkembangan tumor dan progresi maligna.(48,58)



## 1. Pemrograman ulang epigenetik yang dipengaruhi oleh lingkungan mikro tumor

Lingkungan mikro tumor dapat menyebabkan perubahan yang cukup besar pada epigenom, hingga menyebabkan pertumbuhan sel kanker. Salah satu karakteristik kanker adalah adanya hipoksia, yang terjadi akibat vaskularisasi yang tidak memadai. Kondisi ini dapat menyebabkan penurunan aktivitas demetilase TET, sehingga terjadi perubahan substantif pada metilom, khususnya hipermetilasi. Insufisiensi vaskular akan membatasi nutrien, dan hal ini akan mengubah pengaturan translasional dan meningkatkan fenotipe malignan sel kanker.(48)

Contoh lainnya pengaruh lingkungan mikro tumor pada perubahan epigenetik adalah pada pengaturan pertumbuhan yaitu mekanisme transisi epitelial menjadi mesenkim (EMT) yang akan kita bahas pula pada BAB selanjutnya pada buku ini. Pengatur utama EMT adalah ZEB1, yang menginduksi ekspresi metiltransferase histon, SETD1B, yang kemudian berperan dalam mempertahankan ekspresi ZEB1 sebagai umpan balik positif untuk mempertahankan EMT.(48,58) Dalam hal menimbulkan EMT, ZEB1 ini diketahui berperan dalam menekan E-cadherin, sebagai penanda sel epitel. Pada penelitian yang telah kami lakukan pada jaringan

anomali prostat (pada sampel *Benign prostatic hyperplasia* / BPH, *High Grade Intraepithelial Neoplasia* / HGPIN, dan *Prostate Carcinoma* / PCA), terbukti bahwa peningkatan ekspresi ZEB1 akan menurunkan ekspresi E-cadherin, sehingga meningkatkan proses EMT.(60) Sehingga, lingkungan tumor yang memengaruhi epigenetik, akan dapat menginduksi berbagai mekanisme lainnya yang dapat mendorong dan memfasilitasi progresivitas kanker, salah satunya yaitu dalam mekanisme metastasis.

## 2. Epigenetik memengaruhi heterogenitas sel kanker

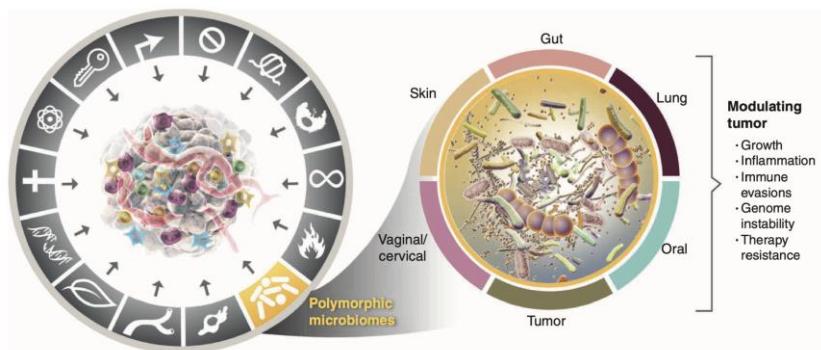
Pada berbagai jenis kanker, telah diketahui bahwa terdapat heterogenitas fenotipe sub-populasi. Hal ini terutama berkaitan dengan instabilitas genomik kronik atau episodik, yang sebagai konsekuensinya terdapat heterogenitas genomik pada populasi sel sebuah tumor. Dalam 10 tahun terakhir, telah banyak penelitian membuktikan bahwa regulasi epigenetik non-mutational juga turut berperan dalam menyebabkan heterogenitas populasi sel ini. Sebagai contohnya, pada karsinoma sel skuamosa oral (OSCC), dimana sel kanker memperoleh karakteristik invasif dari EMT pasial (pEMT), yang sedikit level penanda mesenkimalnya, tapi memiliki ekspresi gen EMT lainnya yang tidak ditemukan pada inti dari jaringan tumornya. Sehingga pada jaringan tumor ini,

didapatkan populasi sel dengan penanda p-EMT tinggi dan populasi dengan penanda p-EMT rendah. (48)

### **3. Regulasi epigenetik pada populasi sel stroma di lingkungan mikro tumor**

Terdapat beberapa sel asesorius pada lingkungan mikro tumor yang berperan dalam mendorong munculnya karakteristik kanker, yang umumnya tidak mengalami instabilitas dan mutasi genomik. Sel-sel ini yaitu *cancer-associated fibroblast* (CAFs), sel imun bawaan, dan sel endotelial dan perisit pada pembuluh darah tumor. Sel-sel ini mengalami pemrograman ulang secara epigenetik, karena rekrutmen oleh berbagai faktor yang dikeluarkan oleh lingkungan mikro tumor. Modifikasi epigenom ini dapat mencakup induksi pertukaran sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan yang dapat mengubah jalur persinyalan pada seluruh sel yang berada pada lingkungan mikro tumor ini. (48)

## Polymorphic Microbiomes



Gambar 3.20. Peran mikrobiom polimorfik pada kanker. (48)

Ekosistem yang dibentuk oleh mikrobiota (bakteri dan jamur) yang menjadi residen pada mukosa internal seperti saluran gastrointestinal, paru, payudara, dan sistem urogenital dan tubuh manusia, memberikan dampak pada kesehatan dan penyakit. Variabilitas polimorfik mikrobiom di antara individu pada suatu populasi dapat berpengaruh pada fenotipe kanker. Hal ini berpengaruh pada dampak protektif maupun hambatan pada progresi kanker, progresi maligna, dan respons terhadap terapi. (48)

Pada kanker kolon, contohnya, mikrobiota usus dapat memiliki peran yang berbeda, bisa berperan dalam proteksi terhadap kanker maupun sebagai faktor pendorong terjadinya kanker, tergantung pada jenis mikrobiomnya. Salah satu mekanisme yaitu, bakteri dapat memproduksi toksin dan molekul lainnya yang dapat merusak DNA secara



langsung, maupun mengacaukan sistem yang berperan dalam pertahanan integritas genomik, atau menyebabkan stres pada sel yang secara tidak langsung merusak proses replikasi dan perbaikan DNA. Contoh bakteri yang menggunakan sistem ini adalah *E.coli*, yang membawa lokus PKS, suatu mutagen genom manusia dan berperan dalam timbulnya mutasi. Mekanisme lain dari induksi tumor oleh mikrobiota yaitu, dengan kemampuan bakteri dalam memproduksi ligan yang dapat menstimulus proliferasi epitel, dan berkontribusi dalam menimbulkan ciri neoplastik (*hallmark*) untuk persinyalan pembelahan sel. (48)

Mikrobiom polimorfik juga dapat menginduksi respons imun inang dengan cara mengaktifasi sensor kerusakan epitel atau sel imun residen, sehingga terjadilah ekspresi berbagai kemokin dan sitokin yang dapat meningkatkan jumlah sel imun di epitel kolon dan stroma, serta kelenjar getah bening di sekitarnya. Bakteri tertentu juga dapat menghasilkan biofilm protektif bagi dirinya, dan menyebabkan kerusakan taut erat antar sel epitel kolom. Hal ini menyebabkan bakteri menginvasi masuk ke dalam stroma, dan memicu aktivasi respons imun bawaan dan adaptif. Mikrobiom polimorfisme ini dapat menyebabkan inflamasi yang mendorong tumorigenesis, serta penghindaran dari pengrusakan sel akibat imun adaptif, yang berakibat pada tidak hanya prognosis tapi juga terhadap

respons akan imunoterapi yang melibatkan inhibitor *checkpoint* imun dan modalitas terapi lainnya.(48)

Mikrobiom juga dapat memberikan efek antitumoral, berbeda dengan efek yang kita bahas sebelumnya. Mikrobiom usus memodulasi aktivitas sistem imun adaptif dengan meningkatkan respons antitumor dengan blokade *checkpoint* imun, atau menimbulkan respons sistemik maupun imunosupresi lokal. Sebagai contoh peran ini yaitu *strain* tertentu *Enterococcus* dapat mengekspresikan hidrolase peptidoglikan yang disebut SagA, yang melepaskan mukopeptida dari dinding bakteri dan bersirkulasi secara sistemik dan berdampak pada meningkatnya respons sel T.(48)



Penuaan sel merupakan suatu proses ireversibel yang menunjukkan adanya proses penghentian pembelahan sel, dan merupakan suatu mekanisme protektif untuk mempertahankan homeostasis jaringan, serta sebagai mekanisme pendamping pada apoptosis untuk mengeliminasi penyakit, sel yang disfungsional, dan sel yang tidak dibutuhkan. Pada mekanisme penuaan ini terdapat adanya perubahan pada morfologi sel dan metabolismenya, yang utamanya berkaitan dengan adanya aktivasi *senescence-associated secretory phenotype* (SASP), mencakup pelepasan kemokin, sitokin, dan protease yang jenisnya bergantung pada tipe sel dan jaringan yang mengalami penuaan (*senescent*). Penuaan sel ini diinduksi oleh berbagai hal, seperti stres lingkungan mikro sel seperti kurangnya nutrisi dan kerusakan DNA, kerusakan organel dan infrastruktur intraseluler, serta ketidakseimbangan jalur persinyalan selular. (48)

Telah lama diketahui bahwa penuaan sel merupakan mekanisme protektif terhadap penyakit, salah satunya kanker. Akan tetapi penelitian saat ini telah mengungkapkan bahwa sel yang mengalami *senescent* dapat menginduksi perkembangan tumor dan progresi maligna. Mekanisme utama yang digunakan sel-sel tua untuk meningkatkan

fenotipe tumor adalah melalui SASP, yang dapat menyampaikan sinyal secara parakrin ke sel-sel kanker yang berada di sekitarnya, serta pada sel lain di lingkungan mikro tumor (TME). Sel-sel kanker tua juga terbukti berkontribusi pada persinyalan proliferatif, menghindari apoptosis, menginduksi angiogenesis, menstimulus invasi dan metastasis, serta menekan imunitas anti tumor. (48)

Efek lainnya dari sel kanker tua dalam memperoleh fenotipe kankernya adalah adanya kemampuan transitoris, yaitu status penuaan sel yang reversibel, sehingga sel kanker dapat menghindari ekspresi SASP, kondisi non-proliferatif, dan dapat melanjutkan pembelahan selnya. Kemampuan ini berpengaruh pada resistensi terapi kanker, dengan berada pada status dorman dan tidak menjadi target terapi kanker yang umumnya menarget sel yang aktif membelah, dan kemudian mengalami transit menjadi status lainnya yang dapat meningkatkan perkembangan tumor, progresi maligna, dan metastasis. (48)



## Notes

### ***Highlight:***

- Definisi Karinogenesis
- Proses *Hallmark of Cancer*

Buku ini tidak diperjualbelikan.



## Notes

Buku ini tidak diperjualbelikan.





Buku ini tidak diperjualbelikan.

# **BAB IV**

# **IMUNOLOGI KANKER**

***“Recall Prinsip Dasar Sistem Imun”***

**“Bagaimana Hubungan Sistem Imun dan  
Tumorigenesis?”**

**“Bagaimana Kanker Dapat Menghindari dan  
Menekan Respons Imun?”**



## SISTEM IMUN DAN KANKER

**“Mengingat Kembali Dasar Sistem Imun”**

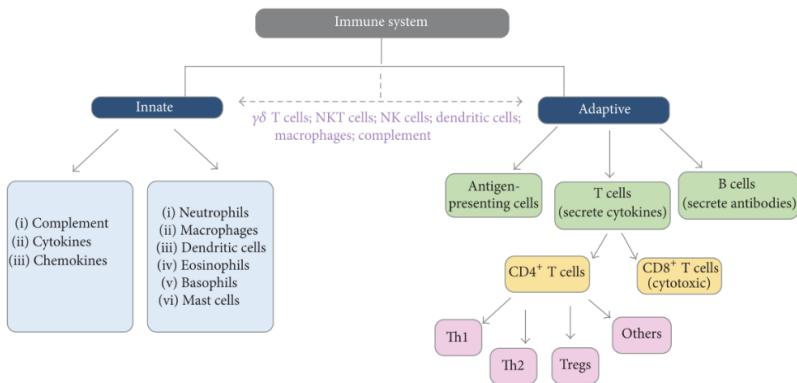
**“Bagaimana Kaitan Sistem Imun dan Kanker?”**

### **Pengantar Sistem Imun**

Pada BAB *hallmark of cancer* kita telah sedikit mendiskusikan mengenai peran sistem imun dalam menghambat maupun meningkatkan perkembangan kanker. Berbagai sel imun dan sitokin digunakan tubuh manusia untuk melawan kanker, akan tetapi sel kanker dapat memanipulasi pertahanan tubuh manusia. Dasar hubungan kanker dan sistem imun mencakup bagaimana sistem imun mendeteksi antigen *nonself* dari patogen atau sel ganas, peran sistem imun menjalankan fungsi efektor terhadap targetnya, dan pembentukan memori melalui respons imun adaptif sebagai mekanisme pertahanan selanjutnya.(4) Lalu bagaimana sel kanker dapat memanipulasi sistem pertahanan ini? Sebelum kita membahas lebih dalam, mari kita ingat lagi prinsip dasar sistem imun.

Sistem imun terdiri dari elemen sel dan non-sel seperti molekul bioaktif terlarut mencakup sitokin dan kemokin, yang secara bersama-sama mengenali dan melindungi individu dari serangan antigen dan protein *non-self*. Terdapat dua respons sistem imun dalam mempertahankan homeostasis, yaitu respons imun bawaan dan adaptif. (4,61)





Gambar 4.1. Gambaran umum sistem imun. (62)

Sistem imun bawaan memerlukan respons imun nonspesifik dan segera. Respons ini bersifat sementara dan tidak dapat membentuk memori imunologik. Namun, sistem imun bawaan (*innate*) ini dapat membedakan antara antigen *self* dan *non-self* seperti mikroba patogen, antigen alergik, dan molekul *non-self* lainnya. Sistem ini melalui *Toll Like Receptors* (TLR), mengenali patogen dan molekul berbahaya lain seperti *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) dan *damage associated molecular patterns* (DAMPs). Sel-sel yang berperan pada sistem imun bawaan ini yaitu sel fagosit dan sel NK. Sel fagosit bekerja dengan “menelan” sel yang mengekspresikan antigen *non-self* atau antigen *self* yang mengalami perubahan. Sementara sel NK bekerja melindungi sel yang mengekspresikan MHC-I pada permukaannya (yang secara normal diekspresikan pada hampir seluruh sel tubuh yang memiliki nukleus). Sel ini menghasilkan perforin atau

granzim, yang menginduksi apoptosis pada sel yang mengekspresikan MHC-I abnormal. Selain itu terdapat sel lain seperti eosinofil, basofil, dan mastosit yang berperan dalam perekrutan lebih banyak sel imun pada lokasi target. Mekanisme lain pada sistem imun ini adalah sitokin dan komplemen. Kerja sitokin bergantung pada sel yang menyekresi, lokasi reseptor, dan jalur persinyalan yang diaktifkan. Sementara komplemen teraktivasi melalui 3 jalur yaitu jalur klasik, alternatif, dan lektin.(4,61–64)

Sebaliknya, sistem imun adaptif dapat menghasilkan memori imunogenik terhadap antigen spesifik. Pembentukan respons ini membutuhkan waktu yang lebih lama dan bukan merupakan respons segera. Pemeran utama respons ini adalah *antigen presenting cells* (APCs), sel T, dan sel B (walaupun sel APC lebih dikenal sebagai perantara sistem imun adaptif dan bawaan). Sel APC diperankan oleh sel dendritik dan sel Makrofag (kedua sel ini berperan utama pada sistem imun bawaan), yang membawa “pesan” kepada sel T *naive* untuk dapat diaktivasi. (4,61–64)

Terdapat dua subset sel T pada sistem ini, yaitu sel T CD4+ dan sel T CD8+ (sitotoksik). Sel T CD4+ *naive* yang teraktivasi akan menjadi sel T efektor, sebagai akibat adanya ikatan antara MHC-II pada sel APC dan reseptor sel T (TCR). Bergantung pada sitokin dan faktor transkripsi tertentu, sel T CD4+ akan berdiferensiasi menjadi Th1 (*T helper 1*), Th2 (*T*



*helper 2*), Th17 (T *helper 17*), atau Treg (T *regulator*). Setiap sel efektor ini memproduksi sitokin tertentu untuk aktivasi respons berikutnya. Sementara sel TCD8+ *naive* berikatan dengan MHC-I pada sel bernukleus melalui reseptornya, dan mengalami maturasi menjadi sel T sitotoksik. Ikatan ini menyebabkan sel T sitotoksik mengeluarkan perforin dan granzim untuk menstimulus kematian sel target. Kedua jenis sel T ini mengekspresikan penanda permukaan lainnya seperti CD28 dan CTLA-4 yang masing-masing berperan mengaktifkan atau menghambat aktivasi sel T *naive*, melalui persinyalan kostimulator. Pada permukaan sel T juga terdapat PD-1, yang jika berikatan dengan ligannya-PD-L1 atau PD-L2—pada permukaan sel APC, berakibat hambatan aktivasi sel T. Uniknya, sel kanker menggunakan mekanisme ini, dengan cara mengekspresikan lebih banyak PD-L, sehingga dapat menghindari respons imun. Sel B, pada sistem imun adaptif berperan sebagai APC sekaligus sebagai sel plasma yang mampu membentuk antibodi setelah teraktivasi. (4,61–66)

## Sistem imun dan kanker

Selama patogenesis kanker, berbagai komponen sistem imun bawaan diaktivasi dengan tujuan untuk meminimalkan inflamasi akibat kanker. Aktivasi jalur ini ikut mengaktivasi sistem imun adaptif untuk membentuk respons yang spesifik

terhadap kanker. Namun, terdapat perubahan baik genetik maupun epigenetik pada sel kanker, yang berkaitan dengan perubahan pada protein permukaan sel kanker dan menghasilkan *tumor associated antigen* (TAA). Antigen ini dapat dikenali oleh **sistem komplemen**, sehingga memungkinkan terjadinya kematian sel kanker. Perubahan lainnya yaitu pada molekul MHC-I pada permukaan sel kanker, yang berakibat berkurangnya ekspresi MHC-I atau terdapat ekspresi MHC-I abnormal. Hal ini mengaktifkan **sel NK** melalui reseptornya yaitu NKG2D, dan menyebabkan apoptosis sel kanker. NKG2D ini berikatan dengan suatu glikoprotein permukaan yaitu MICA/B pada sel tumor. Apoptosis ini terjadi melalui beberapa mekanisme, seperti akibat pelepasan granula sitoplasma (perforin dan granzim) yang bergantung pada adanya TNF- $\alpha$ ; sitotoksitas terkait antibodi (ADCC, *antibody-dependent cellular cytotoxicity*) akibat adanya reseptor antibodi (CD16) pada permukaan sel NK; dan pelepasan sitokin seperti IFN- $\gamma$  yang memediasi aktivasi dan maturasi APC seperti **sel dendritik (DC)**. (4,62,64)

Sel lainnya yang masuk dalam respons imun bawaan yaitu **netrofil**, yang berperan dalam mempromosikan progresi sel kanker. Protease seperti elastase yang terdapat pada granula netrofil membantu pemecahan protein matriks ekstraseluler, sehingga meningkatkan invasi dan metastasis



kanker. Netrofil juga mengandung *phagolosome* yang mengandung enzim seperti oksidasi NADPH yang dapat mengoksidasi radikal superokside dan *reactive oxygen species* (ROS) lainnya. ROS, seperti yang kita ketahui, dapat mempromosikan kanker dengan modifikasi genetik melalui kerusakan DNA, namun bersamaan dengan itu dapat pula menginisiasi sitotoksitas melalui pengrusakan membran sel pada tumor.(62)

Terdapat pula beberapa tipe sel yang berperan sebagai penghubung antara respons imun bawaan dan adaptif, seperti **sel NKT (Natural Killer T Cells)**. Kita ambil contoh pada mekanisme sel NKT yang menyekresi IFN- $\gamma$  sebagai respons terhadap sel tumor, yang dapat mengaktifasi fungsi efektor seperti sel NK atau sel T CD8+ untuk memediasi lisis sel tumor. Menariknya, sel NKT dapat berinteraksi dengan sel dendritik melalui persinyalan ligan CD40, yang dapat meningkatkan aktivasi dan sekresi IL-12. CD40 diekspresikan pada beberapa tipe APC dan berperan sebagai sinyal kostimulator ketika berikatan dengan ligan CD40 di sel NK, sel mast, makrofag, sel B, sel epitel, sel endotel, dan sel T teraktivasi. IL-12 sendiri dapat mengaktifasi sel NK atau sel T CD8+ untuk melisikkan tumor dan menekan progresi kanker. (62)

Dogma sentral konsep imunitas kanker mencakup pembentukan neo-antigen, seperti antigen baru yang

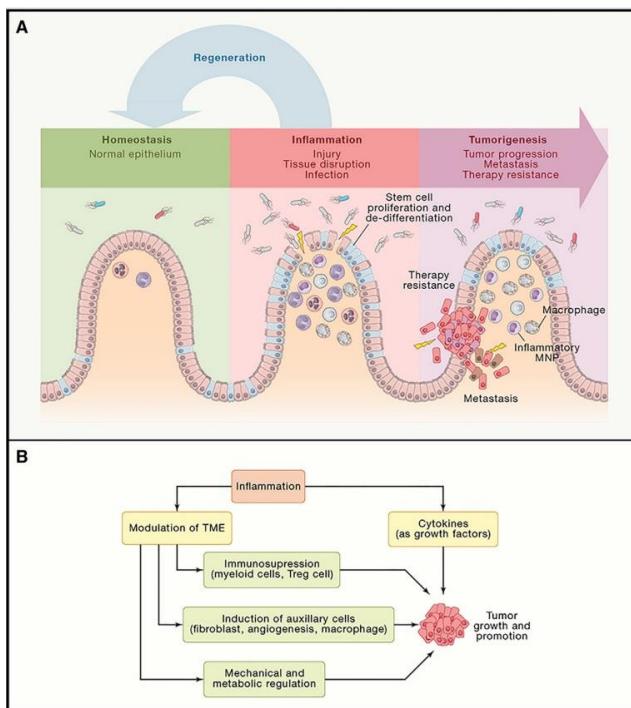
difagosit oleh APC atau mengalami pinositosis oleh sel dendritik untuk pemrosesan antigen. Molekul MHC-II mempresentasikan peptida eksogen dari antigen tumor, sementara MHC-I mempresentasikan peptida endogen dari antigen kanker. Antigen tumor ini kemudian dipresentasikan APC pada sel T CD4+ atau CD8+ untuk aktivasi kedua sel ini. Sel T yang teraktivasi akan memproduksi IL-2, yang akan mempromosikan proliferasi sel T selanjutnya. Berbagai sitokin pada lingkungan mikro tumor ikut menentukan diferensiasi sel T efektor (akan dibahas pada BAB V Lingkungan Mikro Tumor). (4,62,67)

### **Inflamasi dan Tumorigenesis**

Peradangan merupakan proses yang mencakup aktivasi, rekrutmen, dan aksi dari sel imun bawaan dan adaptif. Sel makrofag dan netrofil merupakan produsen potensial dari ROS dan *nitrogen (RNI) species*, yang dapat menginduksi mutasi. Sehingga, induksi inflamasi tentu saja dapat meningkatkan mutagenesis sebagai akibat akumulasi mutasi pada jaringan normal. Sebagai contoh, inflamasi kronik intestinal menyebabkan akumulasi mutasi TP53 dan gen terkait kanker lainnya pada sel epitel intestinal dan dapat mencetuskan pembentukan tumor tanpa adanya mutagen ekstrinsik lainnya. Persinyalan oleh sitokin yang diproduksi oleh sel radang juga dapat mengaktifasi proses epigenetik



pada sel epitel yang mencakup komponen modifikasi DNA dan histon, serta modulasi level ekspresi onkogen dan gen penekan tumor melalui miRNA, dan *long non-coding RNA* (lncRNA). Peradangan kronik mencetuskan kerusakan jaringan yang dapat menurunkan kemampuan fungsi barier serta mengekspos sel punca pada lingkungan karsinogen, atau membawa sel punca mendekat pada sel radang aktif yang menghasilkan senyawa genotoksik. (4,53,62,64,67–69)



Gambar 4.2. Aksi pro-tumorigenik peradangan pada progresivitas, metastasis, dan pertumbuhan kanker.

(A) Jejas, infeksi, atau gangguan fungsional jaringan (contoh: selama transformasi ganas) menyebabkan aktivasi

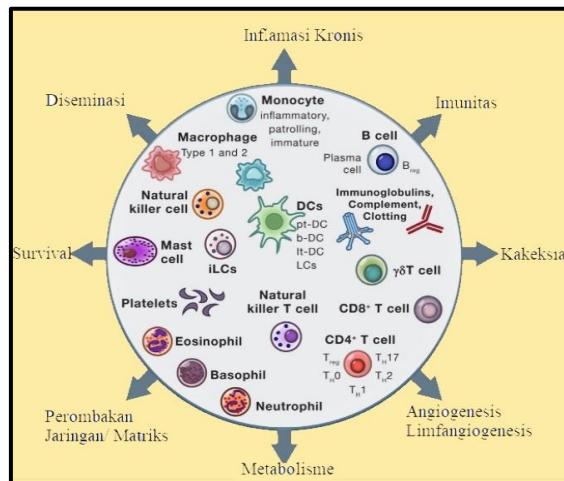
respons inflamasi yang meningkatkan ekspansi cadangan sel punca melalui proliferasi sel punca atau diferensiasi sel epitel menjadi sel punca. Proses ini normalnya dirancang untuk restitusi dan normalisasi epitel dan fungsi bariernya, contoh: menyebabkan regenerasi normal. Namun, jika sel punca telah mengalami mutasi onkogenik, dan berperan sebagai sel punca kanker, ekspansi sel punca ini menyebabkan metastasis dan resistensi terapi. Proses ini diatur oleh berbagai stimulus inflamasi yang berpengaruh pada regenerasi, progresi tumor, metastasis, dan resistensi. (B) Komponen inflamasi seperti sitokin dan faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh sel imun ke dalam lingkungan mikro tumor, memiliki efek langsung pada sel pre-malignan dan sel kanker dengan meningkatkan proliferasinya dan resistensi terhadap kematian sel, sehingga secara langsung mempromosikan pertumbuhan dan progresi tumor. Sinyal inflamasi dapat pula membentuk lingkungan mikro tumor untuk menginduksi penekanan sistem imun melalui aktivitas Treg, sel mieloid imatur, dan pemeran supresif lainnya, untuk meningkatkan rekrutmen, proliferasi, dan fungsi sel protumorik lainnya seperti fibroblas, sel ieloid, dan endotel.(69)

Pemeran utama peradangan kronis adalah sel makrofag. Sel-sel ini menghasilkan TNF- $\alpha$ , suatu sitokin yang membantu meningkatkan respons inflamasi dengan menginduksi molekul efektor. Berbagai produk pro-inflamasi



seperti TNF- $\alpha$  ini bersama dengan interleukin dan kemokin memediasi berbagai proses tumorigenesis seperti proliferasi, apoptosis, angiogenesis, dan metastasis. Ekspresi berbagai produk ini diatur oleh NF $\kappa$ B, yang diinduksi oleh karsinogen termasuk produk virus onkogenik, produk spesifik makrofag yaitu TNF- $\alpha$ , protein CagA *H. pylori*, stres, dan agen kemoterapi. Faktor transkripsi ini merupakan penghubung antara inflamasi dan kanker. (3,4,69)

Peradangan dapat berperan sebagai faktor pertumbuhan untuk tumor yang sedang tumbuh. Faktor-faktor inflamasi sangat penting dalam pembentukan plastisitas sel pada lingkungan mikro tumor, yang kemudian memengaruhi pertumbuhan tumor dengan berbagai mekanisme. Sebagai salah satu contoh, peran inflamasi pada promosi tumor muncul dari penelitian mengenai inaktivasi NF $\kappa$ B pada sel mieloid, dimana ablasi inhibitor *nuclear factor- $\kappa$ B (IKK $\beta$ ) kinase* menyebabkan reduksi pertumbuhan tumor pada model kanker terkait kolitis. NF $\kappa$ B merupakan pengatur utama ekspresi sitokin pada sel imun, yang bekerja pada sel epitel dan kanker dalam mempromosikan ketahanan hidup dan proliferasi, serta ekspresi kemokin yang penting dalam rekrutmen dan pembentukan lingkungan mikro tumor. (4,53,62,64,67-69) Berbagai peran sel imun terhadap perkembangan kanker dirangkum pada gambar di bawah ini.



Gambar 4.3. Peran berbagai sel imun dalam pertahanan tumor.

Gambaran dan manifestasi penyakit dari interaksi multifaktor ini diperankan oleh tiga kompartemen yaitu kanker, sistem imun, dan *host*. Hasil interaksi ini beragam dan saling bertentangan, baik lokal maupun sistemik. Imunitas dapat mengontrol kanker; inflamasi kronik berkaitan dengan proses perombakan jaringan; dan perubahan metabolik dapat menyokong pertahanan sel neoplastik dan perkembangan tumor primer; angiogenesis dan limfangiogenesis dapat menyokong diseminasi metastasis; begitu pula konsekuensi sistemik untuk *host* termasuk kakeksia.(67)



**“Bagaimana Peran Sistem Imun Meng eradikasi Sel Kanker?”****“Bagaimana Kanker Dapat Menghindari Sistem Imun?”**

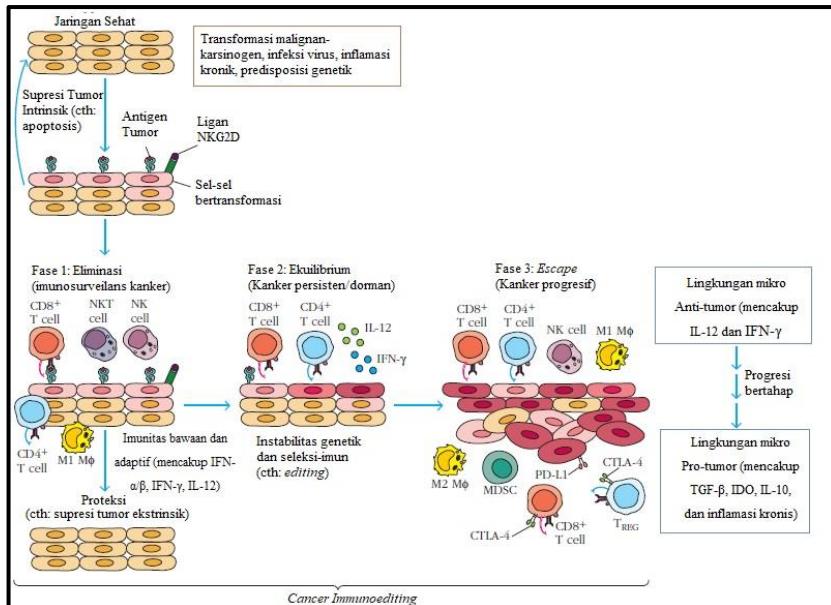
Sistem imun berperan dalam melindungi *host* melawan kanker. Sebagian besar sistem imun melindungi kita dari infeksi virus dan bakteri yang dapat menyebabkan kanker. Sistem ini juga mencegah inflamasi yang dapat mencetuskan kanker. Dan, sistem imun berperan penting dalam mengenali dan membunuh sel tumor. Konsep ini dikenal dengan *immunosurveillance*, yang pertama kali dikemukakan pada pertengahan abad ke-20.(3)

Sementara itu, *Immunoediting* kanker merupakan suatu proses dimana sistem imun mengontrol pertumbuhan dan pembentukan imunogenitas tumor. Proses ini terdiri dari tiga fase, yaitu eliminasi, ekuilibrium, dan *escape*. Prinsip utama *immunoediting* kanker adalah pengenalan sel T terhadap antigen tumor yang mengarah pada destruksi imunologik atau mempresentasikan pertumbuhan kanker. (3,62,68,70)

Fase eliminasi merupakan komponen dari teori *immunosurveillance* kanker, dan merujuk pada kemampuan sistem imun bawaan dan adaptif untuk mengenali dan

mengeradikasi sel kanker. Lisis sel kanker terjadi melalui sekresi perforin dari sel imun sitotoksik (seperti sel NK, sel NKT, sel T dan sel T CD8+), ADCC (*antibody-dependent complement cytotoxicity*) atau CDC (*complement dependent cytotoxicity*). Fase selanjutnya, yaitu fase ekuilibrium berfokus pada status dinamik sel kanker untuk mengatur secara negatif sistem imun dan mengakibatkan hambatan fase eliminasi dari *immunoediting* dan transisi menjadi fase ekuilibrium. Pada fase ini sistem imun masih aktif melawan sel tumor, dimana sel imun membantu meregulasi pertumbuhan atau metastasis kanker, serta mempertahankan kanker dalam kondisi dorman. Fase ekuilibrium diduga sebagai fase terpanjang pada proses *immunoediting*. Walau terdapat kontrol *checkpoint* yang dimodulasi sistem imun, heterogenitas dan variasi genetik pada sel kanker menyebabkan sel kanker memiliki kemampuan menghindari sistem imun dan melarikan diri dari fase ekuilibrium untuk ekspansi dan merugikan sel *host*. Fase ini dimediasi oleh beberapa mekanisme imunosupresif, salah satunya adalah penurunan regulasi atau ekspresi menyimpang pada MHC-I pada permukaan sel kanker, sehingga melindunginya baik dari efek sitotoksik sel imun bawaan maupun adaptif. (3,62,68,70)





Gambar 4.4. Tiga tahap *cancer immunoediting*

Pengenalan dan penargetan sel tumor oleh sistem imun terjadi dalam 3 fase. Fase 1, Eliminasi: sel kanker dikenali oleh sistem imun melalui antigen tumor dan menjadi target untuk proses penghancuran. Pada proses ini, sebagian sel terlah mengalami mutasi dan dapat bertahan dari destruksi imun. Fase II, Ekuilibrium: sel abnormal masih ditemukan pada jumlah sedikit, tapi tetap terjadi proliferasi dan penyebaran sel kanker. Fase III, *Escape*: mutasi lanjut terjadi pada sel yang bertahan hidup, menimbulkan kemampuan pertumbuhan tak terbatas dan metastasis. M $\phi$ , makrofag; MDSC, *myeloid-derived suppressor cells*; PD-L1, *programmed death ligand1*.(71)



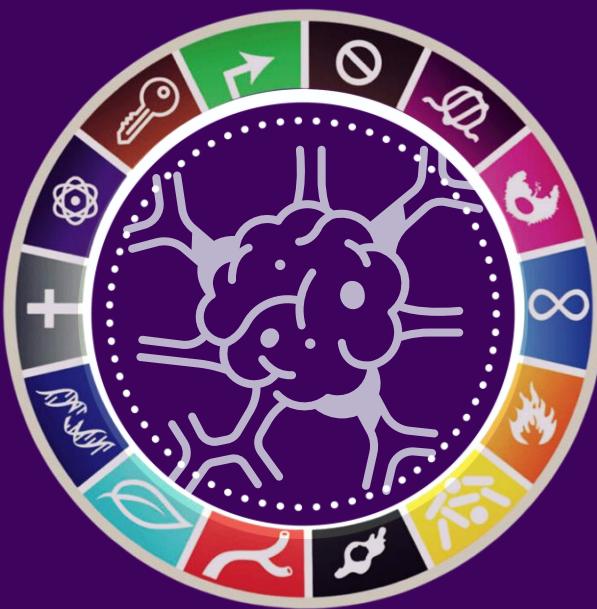
## Notes

***Highlight:***

- Prinsip Dasar Sistem Imun
- Sistem Imun dan Kanker
- Immunosurveillance
- immunoediting

Buku ini tidak diperjualbelikan.





Buku ini tidak diperjualbelikan.

# **BAB V**

# **LINGKUNGAN MIKRO**

# **TUMOR DAN METASTASIS**

**“Bagaimana Peran Lingkungan Mikro Tumor  
Terhadap Progresivitas Kanker?”**

**“Apa Itu Epithelial To Mesenchymal Transition?”**

**“Bagaimana Proses Metastasis Terjadi?”**



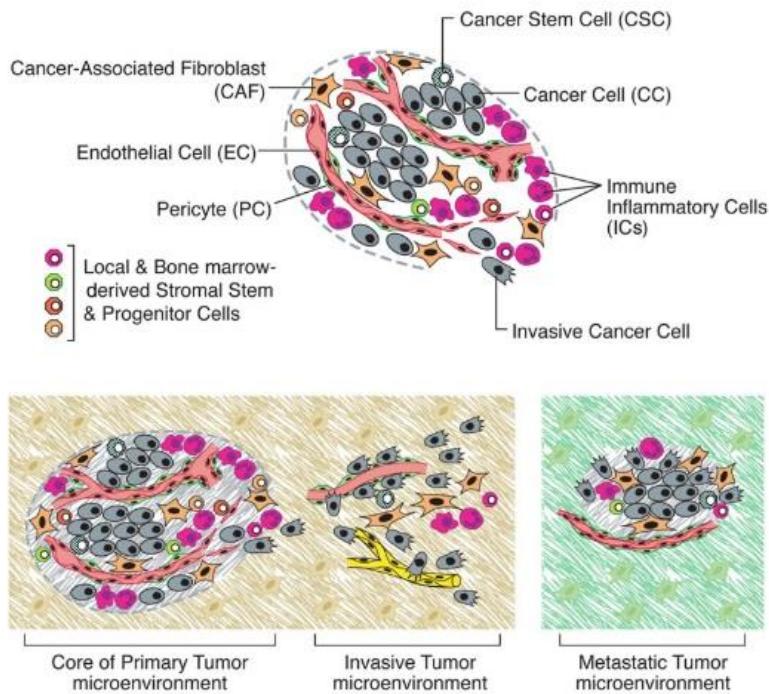
## LINGKUNGAN MIKRO TUMOR

### “Komponen Lingkungan Mikro Tumor” “Bagaimana Peran Lingkungan Mikro Tumor terhadap Tumorigenesis dan Metastasis?”

Terdapat interaksi antara sel kanker metastatik (*seed*) dan lingkungan mikro organ targetnya (*soil*)

Sebuah hipotesis “*seed and soil*” yang disampaikan oleh Stephen Paget—seorang dokter bedah pada tahun 1889—menyebutkan bahwa terdapat interaksi antara sel kanker metastatik (*seed*) dan lingkungan mikro organ tertentu (*soil*). Ia menyatakan bahwa jaringan dalam lingkungan mikro tersebut memengaruhi perilaku sel tumor. Tampaknya hal ini berlaku pada beberapa kanker, dimana sel kanker tertentu hanya dapat bermetastasis pada organ tertentu. Sementara sebagian tumor lainnya dapat bermetastasis pada tulang, otak, hepar, dan paru. (4,72–74) Apa saja faktor yang berpengaruh pada mekanisme ini? Bagaimana interaksi antara lingkungan mikro tumor dan sel kanker, serta pengaruhnya pada invasi dan metastasis? Akan kita bahas pada BAB ini.





Gambar 5.1. Sel Kanker dan Lingkungan Mikro Tumor.

Kedua parenkim dan stroma tumor mengandung berbagai tipe dan subtipe sel yang memfasilitasi pertumbuhan dan progresi tumor. Sel imun yang berada pada TME memiliki sifat anti-tumor maupun pro-tumor. Berbagai tipe sel stroma menghasilkan lingkungan tumor yang mendukung perubahan tumor untuk dapat menginvasi jaringan normal dan berkoloniasi pada jaringan yang jauh.(47)

Kita mengenal tumor sebagai penyakit dengan kompleksitas tinggi. Tumorigenesis sendiri merupakan suatu

proses kompleks dan dinamis, yang mencakup tiga tahap yaitu inisiasi, progresi, dan metastasis. Tumor dikelilingi oleh matriks ekstraseluler (ECM, *extracellular matrix*) dan sel-sel stromal. Secara fisiologis, lingkungan mikro tumor (TME, *tumor microenvironment*) berhubungan erat dengan setiap tahapan tumorigenesis. Komponen utama TME adalah fibroblas dan miofibroblas, sel neuroendokrin, sel adiposa, sel imun dan sel radang, jejala vaskular dan limfatis, serta ECM. (4,72,73)

Tumor padat memiliki dua komponen yaitu parenkim dan stroma. Parenkim ini mempresentasikan sel-sel kanker, sementara stroma melingkupi sel-sel non-kanker dan elemen jaringan ikat di sekitar tumor. Sel kanker dapat menyebabkan perubahan patogenik stroma, di antaranya migrasi sel-sel stroma, *matrix remodelling*, ekspansi vaskularisasi, perubahan tingkat keasaman, hipoksia, akumulasi mutasi gen, dan menyebabkan repopulasi sel kanker sehingga terbentuk heterogenitas sel tumor.(4,47)

Sel-sel tumor dapat mengendalikan fungsi komponen seluler (stromal) dan non-seluler (ECM) melalui persinyalan kompleks, sehingga sel non-kanker dapat memfasilitasi pertumbuhan dan perkembangan kanker. Komunikasi interseluler yang terjadi melibatkan peran dari sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, mediator inflamasi, dan enzim yang terlibat dalam *matrix remodelling*. Sel tumor yang



bersirkulasi (*circulating tumor cells*, CTCs), eksosom, *cell-free DNA* (cfDNA) dan badan apoptotik, berperan sebagai mediator dalam mentransfer gen secara horizontal (HGT, *horizontal gene transfer*) baik menuju sel kanker lainnya maupun sel normal. (4,47,72,74)

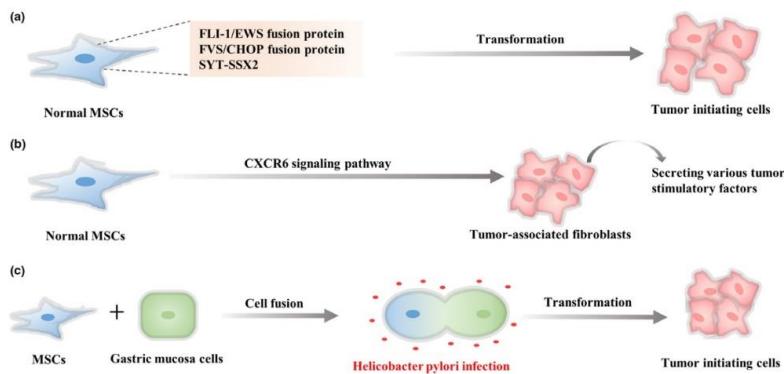
### **Sel mesenkim dan sel punca mesenkim (MSC, *mesenchymal stem cell*)**

Sel-sel MSC merupakan sel-sel pluripoten yang berpotensi berkembang menjadi berbagai jenis sel jaringan ikat. Sel punca mesenkim ini jika berada di daerah sekitar tumor, akan berdiferensiasi menjadi sel mesenkim matur seperti *cancer associated fibroblast* (CAFs), *Tumor Associated Fibroblast* (TAFs) makrofag atau endotel. MSC ini menunjukkan perubahan karakteristik morfologi, yaitu sel menjadi lebih panjang, sifat adhesi berkurang, sitoskeletal yang kaku, dan meningkatnya kemampuan migrasi. Pada sel kanker, MSC dapat berperan dalam aktivitas anti-tumor maupun pro-tumor. (4,47,72,74)

Interaksi MSC dan sel tumor dapat meningkatkan pertumbuhan tumor baik secara langsung maupun tidak langsung melalui mekanisme autokrin/parakrin. MSC merupakan sumber TAF yang penting untuk menyusun stroma tumor. Bahkan, MSC memiliki peran penting dalam **“memberi kesuburan” pada lingkungan mikro tumor**

dengan memodulasi angiogenesis dan sistem imun, serta struktur stroma tumor. Komunikasi antara sel kanker dan MSC dapat **meningkatkan sifat *stemness*** sel kanker. Pada kanker payudara ditemukan adanya peran sitokin yang melibatkan IL-6 dan CXCL7. Perubahan lainnya akibat interaksi ini adalah peningkatan kemampuan migrasi sel kanker dengan **induksi EMT** (*epithelial to mesenchymal transition*) oleh MSC. Selain itu, MSC dapat memproduksi VEGF sehingga dapat meningkatkan migrasi endotel dan **mempromosikan terjadinya angiogenesis**.

(47,49,72,75,76)

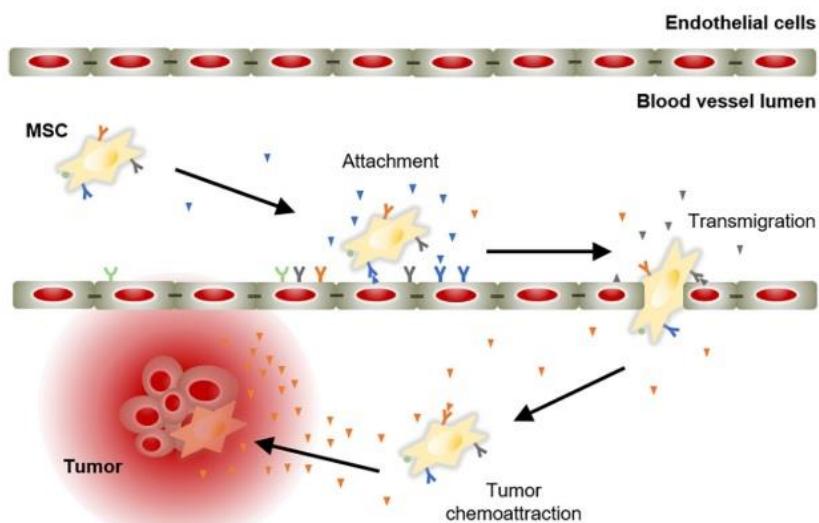


Gambar 5.2. Aktivasi berbagai onkoprotein pada MSC (*mesenchymal stem cells*) menginduksi transformasi keganasan. (75)

*Mesenchymal stem cell* (MSC) normalnya dapat **bergerak menuju daerah yang mengalami kerusakan** dengan diinduksi oleh berbagai faktor dan mekanisme, salah



satunya sinyal kemokin. Sebagai contoh, *C-X-C motif chemokine ligand 12* (CXCL12) merupakan faktor pencetus tersering penyebab migrasi MSC, bekerja dengan berikatan pada reseptornya (*C-X-C chemokine receptor type 4*) yang diekspresikan pada permukaan MSC. Selain itu, MSC juga mengekspresikan berbagai reseptor kemokin seperti CCR1, CCR2, CCR4, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR4, CXCR5, CXCR6, dan CX3CR1. MSC juga mengekspresikan molekul perlekatan, seperti CD49d, CD44, CD54, CD102, dan CD106. Berbagai reseptor dan molekul perlekatan ini sangat penting untuk merespons adanya sinyal dari daerah yang mengalami jejas. (4,75–77)



Gambar 5.3. Migrasi MSC menuju lesi tumor akibat adanya induksi kemokin.

MSC bermigrasi melalui pembuluh darah menuju area jejas. Pengikatan ligan-reseptor menyebabkan MSC menempel pada dinding sel endotel. MSC mengaktifasi dan menginisiasi proses transmigrasi melewati dinding sel endotel menuju jaringan targetnya. (77)

Sekali MSC bermigrasi ke area target, MSC dapat berkontribusi dalam perbaikan jaringan dan regenerasi melalui aktivasi berbagai mekanisme. Sebagai respons dari sinyal jejas, MSC menghasilkan mediator perbaikan jaringan seperti anti-apoptosis, anti-inflamasi, imunomodulator, anti-fibrotik, dan agen angiogenik. Sebagai respons terhadap inflamasi, MSC melepaskan faktor-faktor terlarut, seperti *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), *indoleamine 2,3-dioxygenase* (IDO), *tumor necrosis factor  $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *interleukin 10* (IL-10), dan *interferon  $\gamma$*  (IFN $\gamma$ ), yang **memodifikasi respons inflamasi**. Penelitian menyebutkan adanya peran MSC dalam menghambat proliferasi sel B dan sel T, menekan aktivasi sel NK, dan mencegah maturasi *monocyte-derived dendritic cells*. Sebaliknya, MSC meningkatkan bangkitan sel T regulator, sehingga efek imunosupresif akan meningkat. Selain faktor terlarut yang dihasilkan MSC untuk modulasi sistem imun, nyatanya kontak antar sel imun dan MSC pun memainkan peran penting. Contohnya, kontak langsung MSC dan makrofag pro-inflamasi (akan dijelaskan pada bahasan berikutnya) dapat



menginduksi produksi *TNF-stimulated gene-6* (TSG-6). Keseluruhan proses ini memungkinkan MSC memfasilitasi perbaikan jaringan dan regenerasi dengan tujuan penyembuhan luka, pembentukan parut, dan fibrosis, pada kondisi jaringan non-tumor. (47,49,75–77)

Berbagai faktor terlarut yang dihasilkan oleh sel tumor ditambah dengan kondisi hipoksia dapat merekrut MSC. Faktor terlarut ini, yaitu *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ), *transforming growth factor- $\beta$ 1* (TGF- $\beta$ 1), dan *stromal cell-derived factor 1 $\alpha$*  (SDF-1 $\alpha$ ), mempromosikan migrasi dan pertahanan hidup MSC. Sementara itu, MSC ini pun menghasilkan sitokin seperti *CCL5* (*Chemokine (C-C motif) ligand 5*), yang meningkatkan migrasi, invasi, dan metastasis sel kanker. (4,75–77)

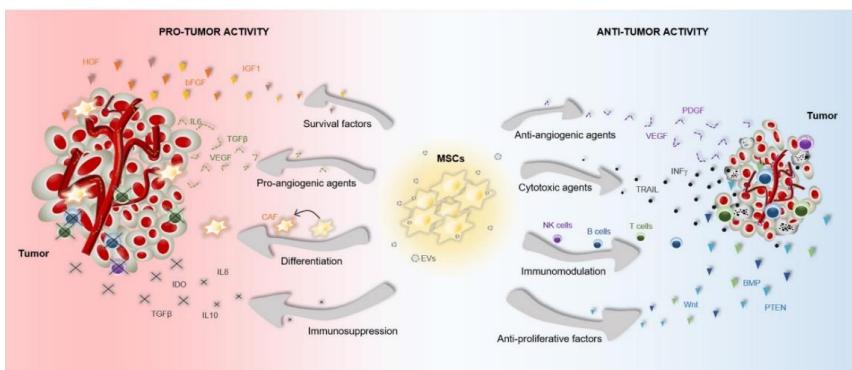
Dapat kita lihat bersama, terdapat suatu efek menguntungkan dan merugikan dari MSC ini terhadap pertumbuhan kanker. Berbagai penelitian dilakukan untuk menarget MSC sebagai kandidat terapi kanker, dengan memanfaatkan mekanisme fungsi normal MSC dalam penyembuhan luka. Strategi ini digunakan untuk terapi kanker. Salah satu jalur yang sering dipelajari adalah aksis CXCL12/CXCR4, sebagai jalur migrasi MSC ke lingkungan tumor. Kemampuan migrasi MSC ternyata tidak hanya bergantung pada aksis tersebut, tapi juga diatur oleh sitokin seperti IL-8, faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ 1 atau *platelet*

*derived growth factor* (PDGF), dan molekul matriks ekstraseluler seperti *matrix metalloproteinase 2* (MMP2). Fungsi parakrin MSC yang merupakan mekanisme utama mengatur sel kanker dimediasi oleh berbagai faktor, seperti faktor pertumbuhan dan sitokin. Faktor parakrin ini memengaruhi proses seluler seperti siklus sel tumor, pertahanan hidup sel, angiogenesis, dan imunosupresi/imunomodulasi, yang menyebabkan MSC dapat mengatur sel kanker. Hambatan pada jalur persinyalan seperti PI3K/AKT oleh MSC, menyebabkan siklus sel terhenti dan menghambat pertumbuhan tumor, sehingga mekanisme ini dianggap sebagai **aktivitas anti-tumor** dari MSC.(47,49,75-77)

**Aktivitas pro-tumor** MSC tampak dari perannya menghambat apoptosis pada sel tumor dengan menyekresikan VEGF dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF). Pada kasus lain, kanker payudara contohnya, sel kanker metastatik dari jenis kanker ini dapat menginduksi sekresi (C-C motif) *ligand 5* (CCL5) dari MSC, yang berakibat pada peningkatan invasi sel kanker. Berbagai penelitian juga menyebutkan adanya kontribusi MSC dalam patogenesis kanker dengan melepaskan faktor inflamasi yang meningkatkan efek imunosupresif. Suatu studi menunjukkan MSC yang diisolasi dari tumor gaster memediasi inisiasi dan progresivitas kanker dengan menyekresi IL-8, sehingga



terjadi rekrutmen leukosit, seperti makrofag dan netrofil. MSC juga menghasilkan TGF- $\beta$  yang meningkatkan infiltrasi makrofag dan memfasilitasi penghindaran sel tumor dari *immune surveillance*. MSC juga dapat berdiferensiasi menjadi CAF, yang berkontribusi langsung pada progresi kanker (47,49,75–77)



Gambar 5.4. Efek anti- dan pro-tumor MSC.(77)

### ***Cancer Associated Fibroblast (CAFs)***

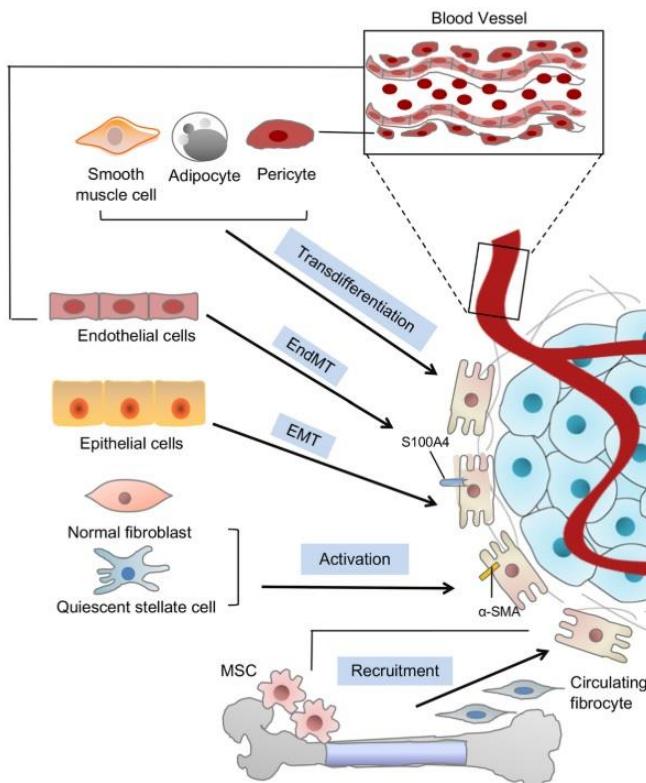
Fibroblas diketahui merupakan residen utama pada stroma dan menghasilkan matriks ekstraseluler (ECM). Pada jaringan normal, sel ini menghasilkan berbagai subtipe kolagen yang berbeda dan fibronektin, yang menyusun membran basalis jaringan. Fibroblas menyekresi keluarga protein yang mengikat heparin (*fibroblast growth factors*, FGF) yang mengaktifkan kinase RAS-MAP dan jalur PI3K/AKT, dan meningkatkan proliferasi dan pertahanan hidup sel. (4,47,73,74,78)

Aktivasi CAF diinduksi oleh berbagai sitokin yang disekresi oleh sel kanker dan sel stroma lain, mencakup TGF- $\beta$ , *epidermal growth factor* (EGF), PDGF, FGF2, dan CXCL12. Aktivasi ini juga diperankan oleh komunikasi antar sel melalui molekul adesi seperti ICAM1 dan *vascular-cell adhesion molecule* 1. Berdasarkan berbagai studi menyebabkan CAF dapat berasal dari berbagai tipe sel melalui mekanisme yang berbeda, seperti fibroblas residen pada jaringan sekitar kanker, MSC, sel punca hematopoiesis, sel epitel melalui EMT (*epithelial to mesenchymal transition*), dan sel endotel melalui EndMT (*endothelial to mesenchymal transition*). Hal ini menyebabkan heterogenitas CAF. (79,80)

Fenotipe CAF berbeda jauh dari fibroblas normal. CAF mengekspresikan  $\alpha$ -smooth *muscle actin* dan varian fibronektin—seperti pada fibroblas pada jaringan yang luka—yang berkontribusi pada kontraksi sel dan penutupan luka. Bedanya, setelah teraktivasi CAF tidak kembali menjadi bentuk inaktif atau mengalami apoptosis. Terjadi peningkatan ekspresi reseptor- $\beta$  PDGF (*platelet-derived growth factor*) pada CAF, yang menyebabkan proliferasi dan pertahanan hidup sel ini. CAF juga menyekresi faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ , *hepatocyte growth factor* (HGF), dan *insulin-like growth factor 1/2*; serta kemokin (*monocyte chemotactic protein 1* dan IL-1) yang memungkinkan proliferasi dan invasi sel kanker. CAF menghasilkan *matrix*



metalloproteinases (MMPs), umumnya MMP-9 dan MMP-2, dan enzim pemodifikasi matriks lainnya termasuk *urokinase-type plasminogen activator* (uPA) yang bersama-sama bekerja mendegradasi ECM dan **membantu invasi dan metastasis tumor**. (74,76,79–82)

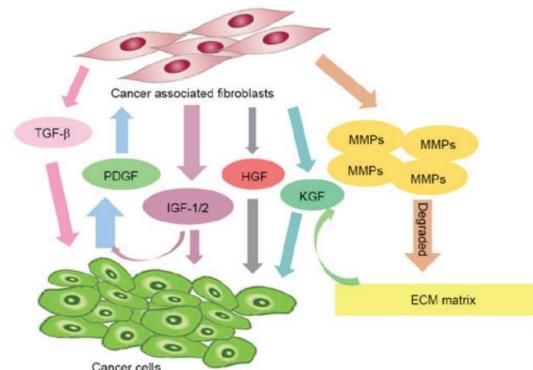


Gambar 5.5. Sumber seluler potensial untuk pembentukan *Cancer-associated Fibroblast* (CAFs).

Sumber CAF dapat berasal dari fibroblas residen dan sel stelata yang teraktivasi, sel epitel melalui EMT (*epithelial to mesenchymal transition*), sel endotel melalui EndMT

(*endothelial to mesenchymal transition*), sel punca mesenkimal (MSC), dan rekrutmen fibroblas sirkulasi, serta perisit, sel otot polos, dan adiposit melalui diferensiasi. ECM, *extracellular matrix*;  $\alpha$ -SMA,  $\alpha$ -Smooth muscle actin; S100A4, *fibroblast specific protein-1* yang juga dikenal sebagai FSP-1. (80)

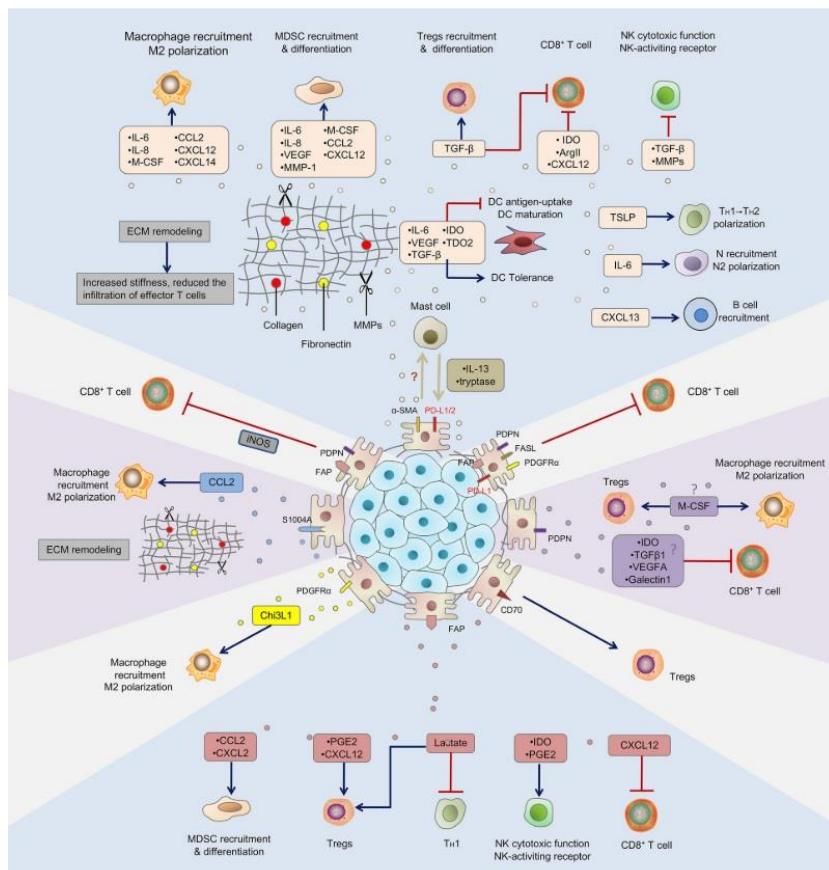
*Cancer-associated fibroblast* (CAF) juga dapat memengaruhi angiogenesis dengan menyekresi VEGF dan faktor angiogenik lainnya. Pertumbuhan dan progresi kanker, seperti yang telah kita ketahui bersama, sangat tergantung pada angiogenesis dengan VEGF sebagai kuncinya. Faktor angiogenik diinduksi oleh kondisi hipoksia dan berbagai faktor kimia lainnya. Berbagai sitokin yang diproduksi sel kanker dapat menstimulasi pembentukan CAF dan meningkatkan sekresi IL-6. Sementara IL-6 ini diperlukan untuk meningkatkan fungsi VEGF yang diproduksi oleh fibroblas dan **menginduksi angiogenesis**. (79,80,82)



Gambar 5.6. Interaksi sel kanker dan CAF.

Sel kanker menginduksi aktivasi fibroblas dan pelepasan sitokin yang diikuti dengan pertumbuhan tumor diinduksi CAF dan metastasis. TGF- $\beta$ , *transforming growth factor- $\beta$* ; PDGF, *platelet-derived growth factor*; KGF, *keratinocyte growth factor*; MMPs, *matrix metalloproteinases*; ECM, *extracellular matrix*. (82)

Fungsi lainnya dari CAF dalam progresivitas kanker adalah berkaitan dengan supresi sistem imun. **Miofibroblas ( $\alpha$ -SMA $^+$  CAF)**, suatu subtipe CAF, berperan dalam fungsi ini melalui modifikasi parakrin dan ECM. Sel imun bawaan dan sel radang pada kanker, yaitu *Tumor Associated Macrophage* (TAM) berkaitan erat dengan populasi CAF ini. Pada kanker pankreas diketahui bahwa CAF menyekresi *macrophage colony-stimulating factor-1* (M-CSF), IL-6, dan CCL2 untuk meningkatkan rekrutmen monosit sehingga terjadi diferensiasi makrofag dan polarisasi M2. Sekresi berbagai sitokin oleh CAF, seperti IL-6, IL-8, TGF- $\beta$ , dan IL-10, juga memfasilitasi diferensiasi makrofag menjadi fenotipe M2 (anti-inflamasi). Sebaliknya, TAM dengan fenotipe M2 ini juga mengaktivasi CAF, membentuk suatu lingkaran dalam meningkatkan progresi kanker. (79,80,82)



Gambar 5.7. Fungsi supresi imun oleh berbagai subtipe CAF.(80)

Selanjutnya, IL-6 yang disekresi oleh miofibroblas dapat merekrut netrofil, mengaktifasi transduser sinyal yang berakibat pada imunosupresi pada karsinoma hepatoseluler. Pada karsinoma ini pula dilaporkan aktivasi sel mas, sekresi *mast cell-derived* IL-3, dan *tryptase* yang kemudian mengaktifasi CAF. Sel mas yang teraktivasi akan berdampak pada imunitas tumor. *Mast cell-derived* IL-3 dan adenosin dapat memfasilitasi polarisasi makrofag M2 dan memblokade



akses sel T sitotoksik. Sel mas juga menyebabkan infiltrasi MDSC dan Treg pada TME.(79,80,82)

Sel NK juga diatur aktivitasnya oleh subtipe CAF ini, dengan berbagai mekanisme. Seperti yang telah diketahui bahwa TGF- $\beta$  dapat menekan aktivasi sel NK dan aktivitas sitotoksiknya. Secara tidak langsung, TGF- $\beta$  menginduksi ekspresi miR-183 yang dapat menghambat transkripsi DAP12 dan menurunkan ekspresi *NK-activating receptor* NKp30 dan *NK Group 2D* (NKG2D), sehingga efek sitotoksik NK terhambat. Secara langsung, TGF- $\beta$  mengurangi sekresi IFN- $\gamma$  oleh sel NK, yang merupakan stimulator sel TH1 CD4 $^{+}$ . Sel lainnya, yaitu sel dendritik (DC) juga terhambat fungsi dan maturasinya akibat adanya sekresi TGF- $\beta$  dan IL-6 oleh sel CAF. Sinyal IL-6 mengakibatkan sel monosit cenderung berdiferensiasi menjadi makrofag dibandingkan sel dendritik. Sekresi TGF- $\beta$  oleh CAF juga menghambat fungsi sel T sitotoksik dengan menurunkan ekspresi perforin, granzim A/B, FASL (*FAS ligand*), dan IFN- $\gamma$ . (79,80,82)

Subtipe lainnya dari kelompok CAF, yaitu FAP+ CAF dapat menginduksi rekrutmen monosit dan diferensiasinya menjadi TAM. Pada melanoma, kanker hepatoseluler, dan kolorektal, *FAP+ CAFs-derived prostaglandin* (PGE2) dan IDO menurunkan ekspresi reseptor aktivasi NK, perforin, dan granzim B. Hal ini tentu saja berdampak pada penurunan fungsi sitotoksik dan produksi sitokin oleh sel NK. Subtipe

CAF ini juga menggunakan CCL5 dan *FAP+ CAF-derived lactate* untuk rekrutmen Treg dan menyebabkan pergeseran polarisasi sel T CD4 dari fenotipe TH2 menjadi TH1. Dalam perannya mengubah ECM, FAP+ CAF memproduksi TGF- $\beta$ , VEGF, dan berbagai enzim pengolah matriks, sehingga secara tidak langsung menyebabkan gangguan pada infiltrasi sel T sitotoksik pada lingkungan tumor. (79,80,82)

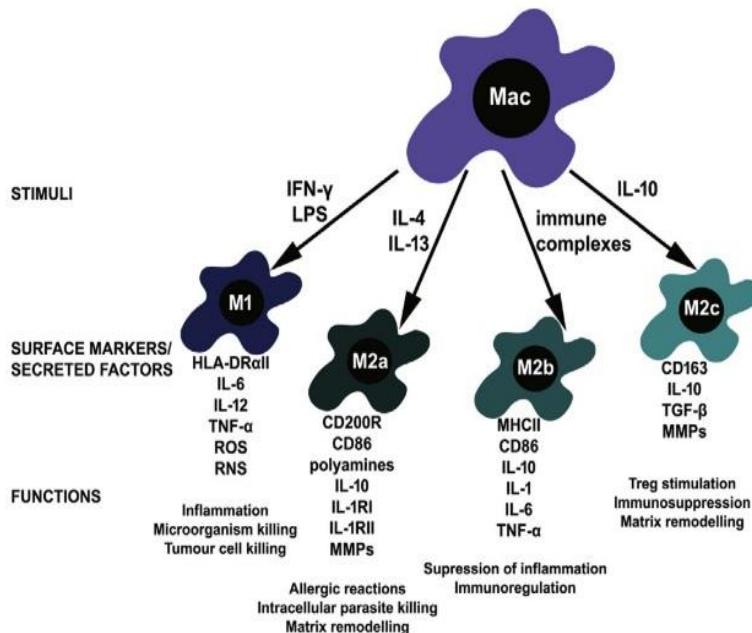
## **Sel Imun**

Saat ini sel imun telah menjadi sorotan baik di bidang penelitian maupun praktisi kanker. Telah banyak vaksin dan imunoterapi menarget sel imun untuk dapat mengeradikasi sel kanker. Sel imun yang terlibat seperti makrofag dan limfosit T dipercaya sebagai tentara sistem imun untuk “membunuh” sel kanker. Akan tetapi, sel kanker dengan berbagai mekanisme dapat memproduksi sitokin yang menyebabkan sel-sel imun tadi tidak dapat berfungsi.

Peran salah satu sel imun yang mengalami pergeseran fungsi akibat komunikasi antar sel dengan sel kanker, *Tumor-Associated Macrophages* (TAM), masih menjadi perdebatan. Pada kanker tertentu seperti kanker paru *non-small cell* (NSCL) dan kanker tiroid, tingginya kepadatan TAM pada TEM berhubungan dengan buruknya prognosis. Akan tetapi, pada sebagian kanker serviks, kepadatan TAM berhubungan dengan prognosis yang lebih baik. Peran TAM pada tumor



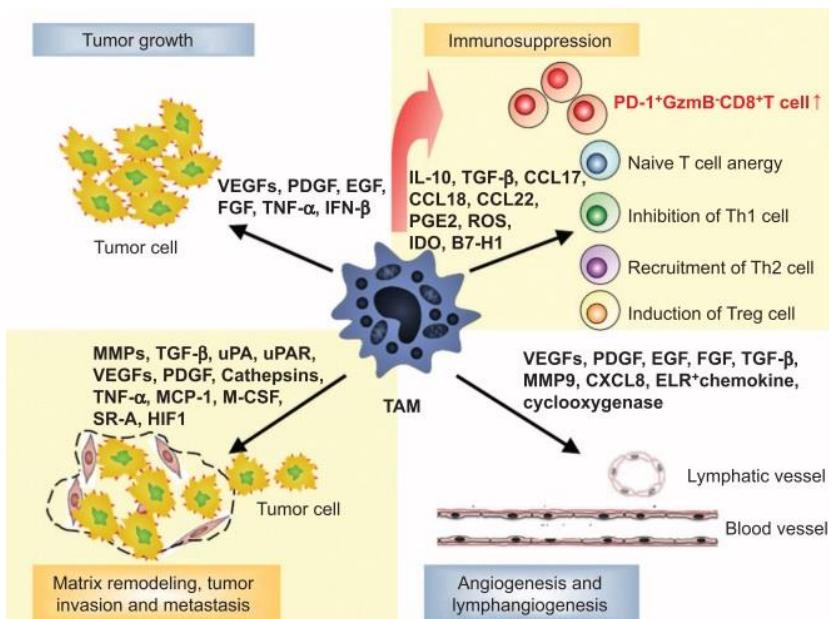
memang masih belum jelas dan sangat bervariasi, tergantung pada tipe kanker. Peran TAM ini, apakah menghambat atau meningkatkan progresi kanker tampaknya berkaitan dengan fenotipenya. Monosit yang direkrut ke dalam lingkungan mikro tumor dari sirkulasi dapat berdiferensiasi menjadi salah satu dari dua lini makrofag matur, yang dipengaruhi oleh sitokin yang beredar di sekitar tumor. Makrofag yang diaktivasi oleh *interferon gamma* (IFN- $\gamma$ ) berdiferensiasi menjadi M1 (pro-inflamasi). M1 ini bersifat fagositik, sitotoksik, dan menghambat progresi tumor. Sebaliknya, makrofag yang diaktivasi oleh IL-4 dan IL-13 berdiferensiasi menjadi M2 (anti-inflamasi), yang dapat memfasilitasi perbaikan jaringan, angiogenesis, dan produksi sitokin yang dapat menekan sistem imun. Sehingga berbeda dengan M1, fenotipe M2 dapat meningkatkan progresi tumor. (47,73,74,78,83,84)



Gambar 5.8. Polarisasi Makrofag(85)

Aktivitas sitotoksik makrofag M1 pada tumor, dihambat oleh IL-4, IL-6, TGF- $\beta$ 1, dan *myocardiac depression factor* yang disekresi oleh sel kanker. Akan tetapi sebaliknya, inflamasi dipromosikan oleh aktivasi jalur terkait NF $\kappa$ B pada makrofag melalui aksi IL-12 dan TNF- $\alpha$  oleh sel kanker. *Tumor-Associated Macrophages* (TAM) dengan fenotipe M2 memfasilitasi angiogenesis pada tumor dengan menghasilkan VEGF dan IL-8, yang dapat menstimulus pembelahan *tumor-associated endothelial cells*. TAM juga memproduksi MMP, uPA, dan reseptor uPA, yang dapat memfasilitasi degradasi ECM berkolaborasi dengan CAF. (47,73,74,78,83,84)





Gambar 5.9. Berbagai peran *Tumor-Associated Macrophages* (TAM) pada progresi kanker.(86)

Sistem imun adaptif terhadap tumor diperankan oleh sel T, sering kali mengalami anergi akibat sitokin yang diproduksi oleh sel kanker dan lingkungannya. CCL2 yang diproduksi sel kanker dan sel stroma seperti TAM dan CAF, menyebabkan sel T yang menginfiltrasi tumor menjadi Treg. Di dalam tumor, Treg memproduksi TGF- $\beta$  dan IL-10 yang dapat menghambat sel T sitotoksik dan sel NK. Treg ini juga berikatan dengan IL-2, menyebabkan sitokin di lingkungan mikro tumor tidak dapat mengaktifasi sel imun lainnya. (47,73,74,78,83,84)

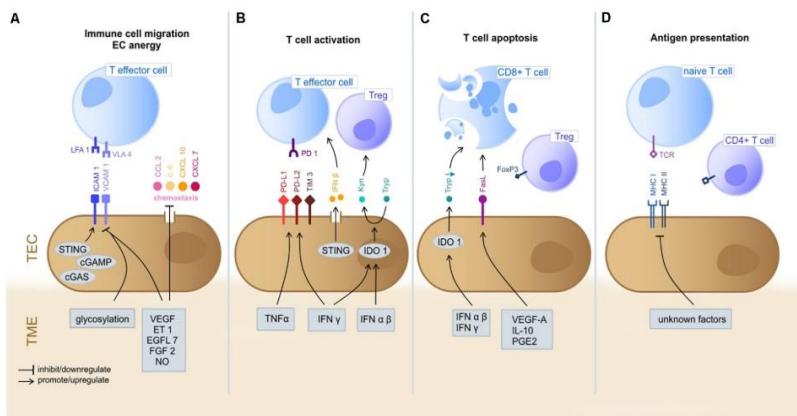
## Sel Endotel

Peran penting sel endotel pada jaringan normal sangat penting terutama dalam *immune surveillance* dan angiogenesis. Berbeda dengan sel endotel tumor (TEC, *tumor endothelial cells*) yang memiliki morfologi dan fenotipe genetik yang berbeda dari sel endotel normal. TEC memiliki permukaan ireguler, fenestrasi dalam pada sel dinding pembuluh darah, dan kekurangan taut antarsel, contohnya perisit. Ditemukan perubahan struktur kromosom dan mutasi pada TEC. Sel ini memiliki kemampuan mirip sel punca, yang merupakan kemampuan kunci dalam mekanisme angiogenesis tumor. TEC juga berperan dalam pembentukan *tertiary lymphoid structures* (TLS), yang penting dalam meningkatkan imunitas anti-tumor yang efektif. Subpopulasi sel endotel, yaitu *lymphatic endothelial cells* (LECs) berhubungan dengan metastasis limfatisik dan saat ini menjadi target terapi anti-angiogenik. TEC diyakini berkaitan erat pula dengan progresi dan metastasis, serta modulasi sistem imun pada kanker. (87)

Terdapat abnormalitas pada TEC yang ditandai dengan nukleus yang lebih besar dan kariotipe aneuploidik, serta adanya abnormalitas kariotipe termasuk delesi, translokasi, dan sentrosom abnormal. Terdapat pula perubahan epigenetik pada TEC, yang ditunjukkan dengan metilasi pada promoter, contohnya CYP24A1 pada kanker



prostat. Berbagai perubahan ini diperkuat lagi dengan pelepasan berbagai faktor di TME akibat adanya hipoksia dan *reactive oxygen species* (ROS). Faktor pro-angiogenik seperti VEGF juga dapat menginduksi perombakan ulang genetik TEC dan mengubah interaksi TEC dengan sel imun.(87-89)



Gambar 5.10. Fungsi TEC dalam memodulasi sistem imun pada TME.

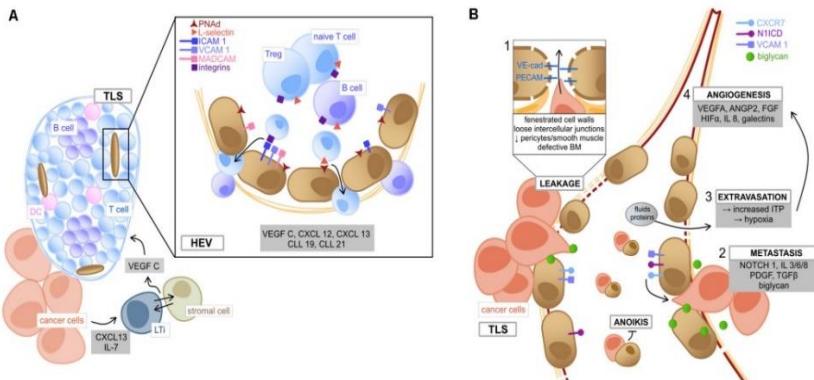
(A) Ekstravasasi sel T ke dalam TME dimulai dengan proses perlekatan, termasuk dalam proses ini pengikatan integrin LFA1 dan VLA4 pada ligan ICAM1 dan VCAM1 sel T. TEC dapat menurunkan ekspresi ge dari molekul adhesi seperti ICAM1 dan VCAM1 untuk mengatur infiltrasi sel imun. Sementara, sitokin dari TME (VEGF, ET1, EGFL7, dan FGF2) juga menghambat ekspresi molekul adhesi dan kemoatraktan dari TEC, seperti CCL2, IL6, CXCL10, dan CXCL7. Glikosilasi molekul permukaan memodulasi sifat perlekatan TEC dan meningkatkan atau menurunkan migrasi sel imun. (B)

pengikatan PD-1 (*inhibitory immune checkpoint*) pada sel T CD8+ dengan ligannya pada TEC, menghambat aktivasi sel T. TEC dapat meningkatkan regulasi faktor proinflamasi TME seperti IFN $\gamma$  dan TNF $\alpha$ . Sekresi IFN $\beta$  menyebabkan STING mengaktifasi sel T. Metabolisme Tryp menjadi Kyn yang dipromosi oleh IDO1, menyebabkan aktivasi Treg. Deplesi Tryp, menyebabkan apoptosis sel T dan menghambat proliferasi sel T. IFN ( $\alpha/\beta$ ) tipe 1 yang dihasilkan di dalam TME, meningkatkan ekspresi IDO1 oleh TEC. (C) apoptosis sel T dapat dicetuskan oleh deplesi Tryp oleh IDO1. (D) TEC mempresentasikan antigen pada sel T melalui molekul MHC I dan MHC II, tapi kekurangan penanda ko-stimulator CD80 dan CD86 yang dibutuhkan untuk aktivasi sel T naive. TEC, *tumor endothelial cells*; TME, *tumor microenvironment*; LFA1, *lymphocyte function-associated antigen 1*; VLA4, *very late antigen-4*; ICAM1, *Intercellular Adhesion Molecule 1*; VCAM1, *Vascular cell adhesion protein 1*; VEGF, *Vascular Endothelial Growth Factor*; ET-1, *Endothelin-1*; EGF-like domain-containing protein 7; FGF2, *Fibroblast Growth Factor 2*; PD-1, *programmed death receptor 1*; PD-L1/2, *programmed death receptor ligand 1/2*; Tryp, *tryptophan*; Kyn, *kynureneine*; IFN, *interferon*; IDO1, *indoleamine 2,3-dioxygenase 1*; MHC, *major histocompatibility complex*; FasL, *Fas ligand*.(87)

Sel endotel tumor berperan penting dalam modulasi migrasi dan aktivasi sel imun. Seperti yang kita ketahui



bahwa migrasi leukosit ke tempat targetnya memerlukan beberapa tahap yang dimulai dengan penempelan leukosit pada dinding pembuluh darah. Tahap ini mencakup tiga langkah utama yaitu perguliran yang dimediasi *selectin*, aktivasi yang dimediasi kemokin (contohnya CXCL4), dan pemberhentian leukosit oleh integrin. Sel endotel dapat mengekspresikan *selectin* (E-*selectin* dan P-*selectin*), ligan integrin (contohnya VCAM1 dan ICAM1) dan molekul adhesi (contohnya glikosamin). Kemudian langkah berikutnya adalah migrasi transeluler yang terutama berlokasi pada dinding sel endotel yang tipis, dan mencakup *vesiculo-vacuolar organelles* (VVO) yang membentuk kanal intraseluler untuk migrasi leukosit. Leukosit dapat melewati membran basalis endotel dan lapisan peristik, terutama pada daerah dengan penumpukan protein yang rendah dan melalui *gap* peristik. Hanya sel endotel teraktivasi yang dapat menginisiasi pergerakan leukosit. Aktivasi sel ini terjadi akibat stimulasi TNF $\alpha$ , umumnya melalui aktivasi jalur NFkB. (87,89)



Gambar 5.11. Sel endotel tumor.

(A) TEC pada *high endothelial venules* (HEV). Sel tumor menyekresi sitokin ke dalam TME (CXCL13 dan IL17) menginduksi pembentukan LTi, yang berinteraksi erat dengan sel stroma untuk memproduksi VEGF C dan menginduksi pembentukan TLS. HEV berlokasi pada TLS perifer dan memediasi migrasi sel imun. TEC yang membatasi HEV dicirikan dengan penanda spesifik, PNAd. Ikatan antara L-selectin yang diekspresikan pada permukaan sel T dengan PNAd, menyebabkan adhesi limfosit yang diikuti oleh interaksi sel lainnya, seperti ikatan ligan integrin (ICAM1, VCAM1, MADCAM1) dengan reseptor masing-masing (LFA1, VLA4,  $\alpha$ 4 $\beta$ 7). Interaksi antara limfosit dan sel dendritik setelah bertransmigrasi ke area TLS, menyebabkan sel ini menjadi aktif. (B) Peran TEC dalam metastasis. Proses metastasis TME dicetuskan oleh kebocoran dan lemahnya struktur pembuluh darah tumor (termasuk dalam hal ini adalah kehilangan ikatan perlekatan interseluler molekul VE-cad dan PECAM).



yang menyebabkan sel kanker mengalami disintegrasi dari matriks ekstraselulernya, dan berpindah ke dalam pembuluh darah tumor melalui ikatan dengan reseptor kemokin CXCR7. Proses metastasis ini diperkuat oleh sitokin inflamasi pada TME (contohnya IL 3/6/8) dan faktor pertumbuhan (contohnya PDGF dan TGF $\beta$ ). Persinyalan NOTCH1 pada TEC serta ekspresi reseptor NOTCH1 teraktivasi, juga memfasilitasi metastasis seperti pada peningkatan regulasi ligan integrin VCAM1. Berbagai molekul angiogenik juga dihasilkan oleh TEC untuk memfasilitasi metastasis sel kanker. Sel kanker yang bermetastasis sering kali berikatan dengan TEC bersirkulasi, untuk meningkatkan kemampuan menghindari apoptosis (anoikis). Ekstravasasi cairan dan protein yang meningkatkan ITP, menyebabkan hipoksia dan pelepasan faktor angiogenik oleh sel pada TME, sehingga menyebabkan pembentukan pembuluh darah baru. TLS, *tertiary lymphoid structures*; TME, *tumor microenvironment*; LTi, *lymphoid tissue inducer cells*; HEV, *high endothelial venules*; PNAd, *peripheral lymph node addressin*; ICAM1, *intercellular adhesion molecule 1*; VCAM1, *vascular cell adhesion protein 1*; MADCAM1, *mucosal addressin cell adhesion molecule-1*; LFA1, *lymphocyte function-associated antigen 1*; VLA4, *very late antigen-4*; VE-cad, *vascular endothelial cadherin*; PECAM, *platelet endothelial cell adhesion molecule*; PDGF, *platelet derived growth factor*;

TGF $\beta$ , *transforming growth factor beta*; N1ICD, *NOTCH1 intracellular domain*; ITP, *intra-tumoral interstitial pressure*.(87)

## Perosit

Perosit pertama kali ditemukan pada abad ke 19 dengan nama awal yaitu *adventitial cells*, oleh Rouget. Terminologi perosit baru dipergunakan pada tahun 1923 oleh Zimmermann. Sel ini terutama berlokasi pada dinding pembuluh kecil (*microvessel*), di dalam membran basalis. Sel ini berbentuk sangat panjang, ramping, dan bercabang, dengan proyeksi longitudinal dan mengelilingi dinding pembuluh darah. Perosit dicirikan dengan ekspresi  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), *desmin*, CD146, reseptor PDGF $\beta$  (PDGFR $\beta$ ), dan proteoglikan *nerve/glial antigen-2* (NG2), walaupun berbagai penanda ini tidak spesifik hanya ditemukan pada perosit tapi juga pada sel lain seperti sel endotel dan otot polos, serta terekspresi secara dinamis. Sel ini di dalam TME, berperan dalam memfasilitasi angiogenesis, metastasis, sifat *stemness* sel kanker, resistensi terhadap terapi dan kematian pasien, serta imunomodulasi. (47,90–92)

Angiogenesis—seperti yang telah banyak kita bahas—merupakan suatu proses kompleks yang diperankan oleh banyak molekul dan sel, tak terkecuali sel endotel dan perosit. Perosit menyekresi berbagai faktor pertumbuhan untuk

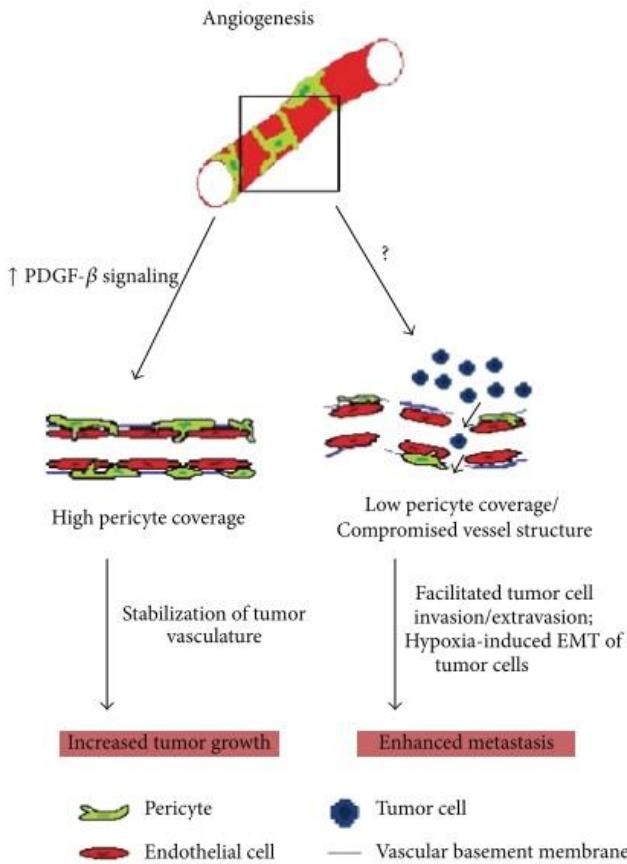


menstimulasi proliferasi sel endotel, serta menyekresi protease yang berperan dalam perombakan ECM dan memodulasi pergerakan sel endotel. Sebaliknya, sel endotel juga melepaskan sinyal yang menginduksi rekrutmen perisit. Kepadatan perisit di sini tampak sangat penting untuk perombakan pembuluh darah, maturasi, dan stabilisasi. Kontak langsung antara sel endotel dan perisit, persinyalan parakrin, dan jalur persinyalan kemomekanikal, digunakan untuk interaksi antara kedua sel ini. Berbagai molekul yang digunakan yaitu *angiopoietin-1/2* dan *Tie 2* (Ang/Tie2), TGF- $\beta$ , dan PDGF $\beta$ , yang fungsinya berkaitan erat dengan viabilitas sel endotel, diferensiasi sel mural, dan rekrutmen perisit. Pembuluh darah yang baru terbentuk, tentu saja tidak stabil. Sehingga perisit di sini berperan untuk stabilisasi pembuluh darah dan mempertahankan hidup sel endotel dengan melepaskan VEGF dan Ang-1. (47,90-92)

Terdapat suatu proses yang unik dari mekanisme metastasis yang diinduksi oleh perisit. Suatu mekanisme yang disebut *Epitelial to Pericyte Transition* (EPT), yang diinduksi oleh TGF- $\beta$ , yang juga mengaktivasi EMT. Sehingga keduanya bersamaan meningkatkan perkembangan tumor dan sel perisit tumor. Pada mekanisme ini pula, sebagian sel tumor akan berdiferensiasi menjadi perisit, yang bertujuan untuk membantu vaskularisasi jaringan tumor dan meningkatkan kemampuan metastasisnya. (91)

Kemampuan plastisitas perisit telah lama diketahui. Sel ini dapat berdiferensiasi menjadi *vascular smooth muscle cells* (vSMCs) pada kondisi hipoksia. Berbagai penelitian menunjukkan adanya kemiripan antara perisit dan MSC, dibuktikan dengan ekspresi antigen permukaan perisit seperti CD44, CD73, CD90, dan CD105, yang juga ditemukan pada MSC. Sementara MSC juga mengekspresikan penanda perisit, seperti NG2, Sca-1,  $\alpha$ -SMA, dan PDGF $\beta$ -R. Kedua sel ini juga berbagi kemampuan yang sama, yaitu dapat berproliferasi dan bermigrasi sebagai respons terhadap sinyal kemotaksis dan bahaya. (90,91)





Gambar 5.12. Peran perosit dalam progresi kanker.

Persinyalan PDGF- $\beta$  mengatur rekrutmen perosit selama proses angiogenesis. Peningkatan aktivasi jalur ini di dalam TME dapat meningkatkan cakupan perosit dan memperbaiki stabilitas pembuluh darah dan perfusi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kanker. Namun sebaliknya, jika cakupan perosit menurun, akan menyebabkan gangguan integritas pembuluh darah, menjadi mudah “bocor,

memfasilitasi invasi sel kanker dan ekstravasasi. Bersama dengan adanya proses EMT, meningkatkan kemungkinan metastasis sel kanker. (90)

### **Sel Kanker dan Sel Punca Kanker (CSC)**

Sel kanker pada lingkungan tumor, tentu saja menjadi pusat penyakit ini. Sel ini menginisiasi jaringan tumor, menentukan progresi penyakit, mengandung onkogen dan gen penekan tumor yang mutan, sehingga menunjukkan bahwa kanker merupakan penyakit genetik. Sebelumnya kita beranggapan bahwa sel kanker merupakan populasi sel yang homogen dengan instabilitas genetik yang serupa. Namun, ternyata adanya instabilitas genetik ini menyebabkan kanker memiliki banyak subpopulasi dan bersifat heterogen. Adanya perbedaan subpopulasi di dalam suatu jaringan kanker, menyebabkan gambaran histopatologinya pun berbeda-beda dengan berbagai tingkatan diferensiasi, proliferasi, vaskularitas, inflamasi, dan atau sifat invasifnya. Beberapa tahun belakangan, ditemukan adanya subklonal sel kanker yang bersifat dan berfungsi sebagai sel punca kanker (*Cancer Stem Cells*, CSCs). (47,93,94)

Sel punca kanker dicirikan dengan subpopulasi sel yang memiliki karakteristik mirip sel punca, seperti keadaan dorman, siklus sel lambat, mengekspresikan faktor transkripsi sel punca embrional, dan regulasi epigenomik

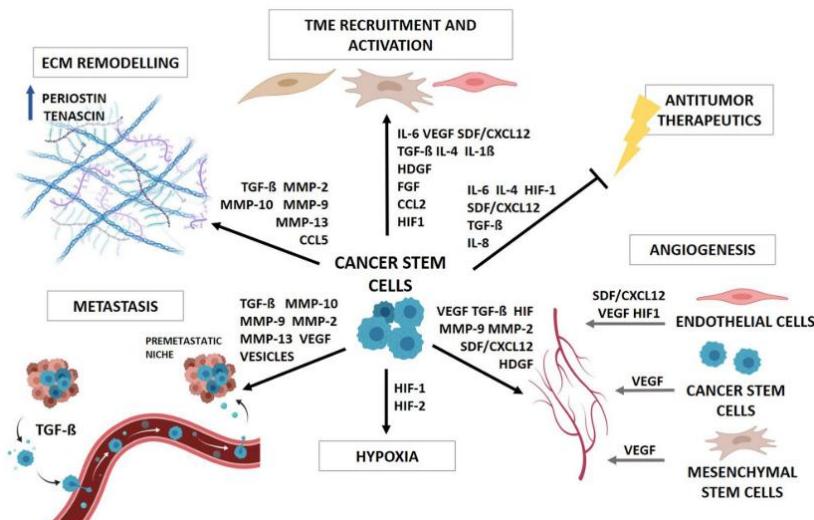


oleh mikroRNA. CSC ini memiliki kemampuan memperbarui diri dan membelah secara asimetrik untuk dapat menghasilkan sel anakan yang membentuk jaringan tumor. Berbagai ciri ini menyebabkan sel kanker mengalami resistensi terhadap kemoterapi, terutama akibat sifat dormansi dan kemampuan aktivasi mekanisme perbaikan DNA. (47,93,94)

Sel punca kanker dapat mengatur *hallmark of cancer* seperti angiogenesis, pertumbuhan tumor, metastasis, resistensi obat, dan disregulasi imun melalui *secretome*—molekul yang disekreasi oleh suatu sel dari membrannya yang berperan dalam komunikasi antar sel. CSC berkomunikasi dengan TME melalui pelepasan mikrovesikel (MV) dan eksosom, serta berbagai faktor terlarut yang mencakup kemokin, sitokin, faktor pertumbuhan, hormon, dan metabolit. MV berbeda dengan eksosom pada ukuran (MV berukuran diameter 50-10.000 nm sementara eksosom 30-150 nm), mekanisme sekresi, dan kargo yang dibawa. (93,94)

Komunikasi antara CSC dan lingkungannya dipengaruhi oleh berbagai faktor, di antaranya IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , VEGF, dan berbagai MMP yang dilepaskan langsung pada ruang ekstraseluler maupun dikemas di dalam eksosom dan MV. Berbagai sitokin selerti CCL2 atau CCL5, TGF- $\beta$ , dan *hypoxia-inducible factor 1* (HIF-1) dapat pula dilepaskan menuju TME melalui eksosom. Berbagai faktor ini berfungsi

dalam pembentukan dan aktivasi TME, kondisi hipoksia, vaskularisasi, metastasis, hingga resistensi terhadap kemoterapi dan radiasi. (93,94)



Gambar 5.13. Komunikasi antara CSC dan komponen TME.

CSC menghasilkan berbagai faktor terlarut untuk merekrut dan mengaktifkan sel stroma dan modifikasi ECM, serta meningkatkan angiogenesis, metastasis, hipoksia, penghindaran imun, dan progresi tumor. (93)

Sel punca kanker juga berinteraksi dengan berbagai sel stroma untuk membentuk lingkungan tumor yang menguntungkan untuk pertumbuhan dan progresivitas sel kanker. Komunikasi ini melibatkan MSC, CAF, sel imun, dan sel endotel. Sebagaimana yang telah kita bahas sebelumnya, MSC memiliki banyak sekali peran dalam perkembangan



kanker, termasuk pengaturan proses inflamasi, angiogenesis, metastasis, mempertahankan CSC, dan pertumbuhan tumor. CSC merekrut dan berinteraksi dengan MSC melalui jalur sitokin yang cukup rumit. CSC menyekresi IL-6 untuk menarik MSC ke lokasi tumor primer, dan memicu respons lainnya di lingkungan tumor. IL-6 menginduksi produksi CXCL7 oleh MSC, yang berperan dalam promosi invasi dan metastasis tumor dan membantu pertumbuhan tumor dengan cara berikatan dengan reseptor CXCR2. Ikatan dengan CXCR2 ini menginduksi sintesis sitokin lainnya, termasuk IL-6 dan IL-8. (93,94)

Sel punca kanker juga meningkatkan ekspresi IL-1 $\beta$  untuk menarik MSC dengan mempromosikan sekresi MMP-1. Ekspresi sitokin IL-1 $\beta$  ini juga menginduksi ekspresi beberapa kemokin melalui jalur NF $\kappa$ B, suatu regulator utama untuk ekspresi kemokin. IL-1 $\beta$  juga berinteraksi dengan tipe sel lain dan memicu berbagai jalur untuk membantu pertumbuhan tumor, angiogenesis, dan invasi, dengan menginduksi sekresi faktor angiogenik oleh sel tumor dan stroma. (93,94)

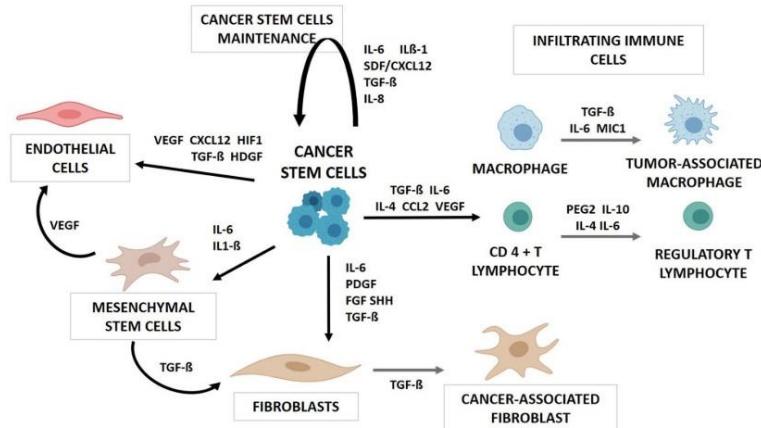
Komponen seluler penting TME lainnya yaitu CAF. CSC merekrut sel ini dengan mengaktifkan fibroblas residen, CAF, atau transformasi MSC, melalui sekresi berbagai faktor seperti PDGF, FGF, IL-6, dan TGF- $\beta$ . CSC menginduksi diferensiasi MSC menjadi CAF, dengan menyekresi TGF- $\beta$

yang mengaktifasi jalur TGFBR1/Smad. CSC tampaknya juga menghasilkan *Hedgehog* (Hh) *ligand Sonic Hedgehog* (SHH), yang mengaktifasi jalur persinyalan pada CAF, dan berakibat pada peningkatan proliferasi CAF dan deposisi ECM, serta produksi faktor lainnya seperti ACTIVIN A, IGF-1, dan *leukemia inhibitory factor* (LIF). Proses ini menyebabkan pertumbuhan dan perbaruan diri CSC. (93,94)

Selain MSC dan CAF, CSC juga berkomunikasi dengan sel imun di TME. Fungsi interaksi ini tidak hanya untuk menarik dan mengaktifasi sel pada lingkungan tumor, tapi juga untuk menghindari respons imun. CSC memproduksi sitokin dan kemokin pro-inflamasi seperti CCL2, IL-6, IL-4, VEGF, dan TGF- $\beta$ , untuk merekrut makrofag. Ketika makrofag mencapai TME, maka akan berdiferensiasi menjadi TAM melalui faktor yang disekresi oleh CSC yaitu IL-4, TGF- $\beta$ , dan *macrophage inhibitory cytokine 1* (MIC-1). Faktor-faktor ini juga dapat menghambat aktivitas fagositik dari makrofag. (47,93,94)

Sitokin TGF- $\beta$  yang dihasilkan oleh CSC juga dapat menginduksi diferensiasi sel T menjadi sel Treg, sehingga timbul efek imunosupresif. Treg sendiri menyebabkan penurunan imunitas terhadap tumor, dengan melepaskan sitokin berupa TGF- $\beta$  dan IL-10. (93–96)





Gambar 5.14. Komunikasi antara CSC dan sel TME. (93)

Sel kanker memodulasi berbagai jalur untuk dapat memfasilitasi perkembangan dan metastasis sel kanker, salah satunya adalah dengan promosi angiogenesis. CSC memodulasi peningkatan vaskularisasi lingkungan tumor salah satunya melalui VEGF. CSC menarik sel endotel menuju lingkungan tumor dan menginduksi angiogenesis dengan menyekresi HIF-1, VEGF, dan SDF-1/ CXCL12. Uniknya, CSC memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi sel endotel dan sel progenitor endotel (EPCs, *endothelial progenitor cells*) dan membentuk suatu proses yang disebut “*vascular mimicry*”, yang dimediasi oleh VEGF. Dalam transformasi menjadi sel endotel dan EPC, CSC menunjukkan tingginya ekspresi *vascular-endothelial cadherin* (VE-cadherin) dan Notch, serta MMP-2 dan MMP-9 yang menyebabkan perombakan ECM dan pembentukan pembuluh darah baru. (47,93–96)

## Matriks Ekstraseluler (ECM)

Matriks ekstraseluler (ECM, *extracellular matrix*) merupakan suatu kompartemen dinamis yang berperan dalam menyokong struktur jaringan dan mengatur berbagai fungsi sel seperti adhesi, migrasi, proliferasi, dan diferensiasi. Kompartemen ini disusun terutama oleh proteoglikan dan serabut protein. Protein yang sering diteliti pada ECM yaitu kolagen, elastin, fibronektin, dan laminin. Kolagen terdiri dari tiga rantai  $\alpha$  peptida, membentuk sebuah struktur *triple helical*. Elastin, disekresikan sebagai protein prekursor, tropoelastin, yang berkelompok membentuk suatu serat dengan tautan yang begitu padat karena adanya residu lisin. Sementara fibronektin, disekresi sebagai sebuah dimer yang dibentuk oleh dua rantai yang ditautkan oleh ikatan disulfid dua ujung C, yang berikatan pada komponen EM lainnya seperti dimer fibronektin dan kolagen, atau reseptor integrin pada permukaan sel. (97–99)

Perombakan ECM diatur oleh ekspresi maupun aktivitas berbagai enzim ECM pada beberapa tahap. Salah satu contoh enzim ini yaitu MMP, sebuah disintegrin dan metaloproteinase dengan motif trombospondin, dan *serine protease plasmin*. Aktivitas dari enzim ini dapat menghancurkan jaringan dan menyebabkan kematian organisme. Sehingga, enzim ini perlu diatur tidak hanya pada tahap transkripsional dan translasional, tapi juga pada tahap



post-translasional. Namun, pengaturan ini dapat saja mengalami perubahan. Kontributor utama perubahan aktivitas enzim dan metabolisme ECM abnormal adalah sel stromal, termasuk CAF (*cancer associated fibroblasts*) dan sel imun. (98,99) Mari kita diskusikan berbagai peran ECM abnormal pada perkembangan, angiogenesis, hingga progresi sel kanker.

1. Peran ECM pada angiogenesis, limfangiogenesis, dan inflamasi

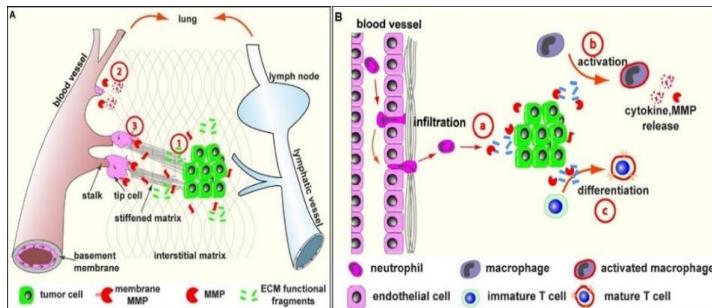
Peran ECM dalam angiogenesis tumor, dihasilkan oleh berbagai fungsi dari komponen ECM dalam pembentukan pembuluh darah, mencakup *endostatin*, *tumstatin*, *canstatin*, *arresten*, dan *hexastatin* yang merupakan kelompok kolagen tipe IV dan XVIII. Fragmen-fragmen ini memiliki potensi efek stimulus ataupun inhibisi pada angiogenesis. Berbagai fragmen ini berkolaborasi dengan faktor pro- atau anti-angiogenik yang mencakup VEGF, dalam menentukan lokasi inisiasi percabangan pembuluh darah maupun bentuk akhirnya. Pada tahap inisiasi percabangan pembuluh darah, membran basalis pembuluh darah harus dirombak terlebih dahulu. MMP yang diekspresikan oleh ECM menginduksi sel endotelial untuk memainkan peran ini. Selain itu, hipoksia juga berperan dalam peningkatan produksi LOX (*lysyl oxidase*)-*like protein* 2 dan meningkatkan ikatan silang

dan kekakuan ECM, sehingga terjadi angiogenesis. (4,98,99)

Selain meningkatkan angiogenesis dan limfangiogenesis, ECM juga meningkatkan rekrutmen sel radang ke lokasi tumor. ECM berpengaruh pada perilaku sel imun, termasuk infiltrasi, diferensiasi, dan aktivasi fungsi sel-sel tersebut. Komponen ECM dapat berfungsi sebagai kemoatraktan terhadap sel imun. Sebagai contohnya, fragmen elastin dapat merekrut monosit, tripeptida Pro-Gly-Pro terasetilasi yang dihasilkan dari proteolisis kolagen I oleh MMP8 atau MMP9 dapat berfungsi mirip dengan CXCL8 terhadap netrofil. (97–99)

Aktivasi sel imun turut pula diatur oleh ECM. Peningkatan kekakuan ECM dapat mempromosikan kompleks adhesi yang dimediasi integrin dan mengaktifasi sel T. Kolagen tipe I juga meningkatkan infiltrasi sel imun, serta berperan dalam inhibisi kemampuan sel makrofag membunuh sel kanker dengan memblok polarisasi dan aktivasi makrofag.(99)





Gambar 5.15. Peran ECM pada angiogenesis, limfangiogenesis, dan inflamasi.

(A) Proses angiogenesis dan limfangiogenesis tergantung pada ECM. Sel tumor memproduksi berbagai komponen, termasuk VEGF dan fragmen angiogenik dan anti-angiogenik ECM untuk meregulasi pembentukan pembuluh darah. Selama inisiasi pembentukan percabangan vaskuler, sel endotel menyekresi protease untuk memecah membran basal, sehingga dapat terjadi pertumbuhan tunas (calon pembuluh darah). Pertumbuhan ini didorong oleh dua jenis sel yaitu *tip cells*, yang menyebabkan migrasi, dan *stalk cells*, yang bergantung pada ECM dan turunannya untuk bertahan hidup dan berproliferasi dalam pembentukan vessel. Limfangiogenesis bergantung pada ECM dan bersama dengan angiogenesis, menyediakan rute untuk metastasis sel kanker dan infiltrasi sel imun. (B) ECM berperan penting dalam inflamasi pada tumor. Komponen ECM berfungsi sebagai kemoatraktan

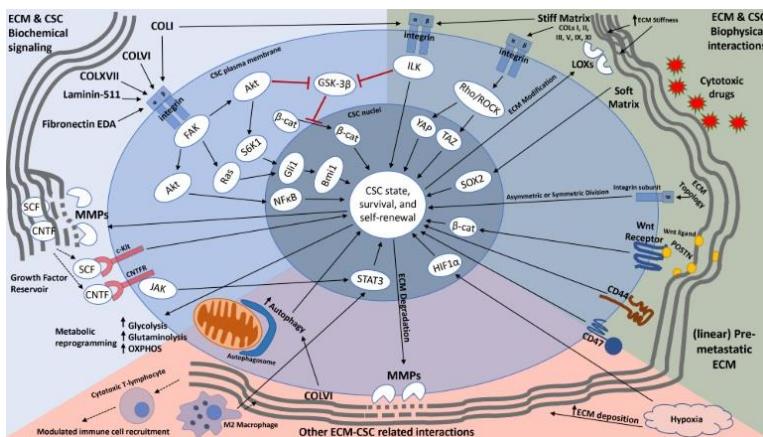
terhadap sel imun. Aktivasi makrofag tergantung pada ECM dalam pelepasan sinyal sitokin dan proteasenya. Diferensiasi sel imun, termasuk maturasi sel T *helper*, memerlukan partisipasi komponen ECM.(99)

## 2. Peran ECM pada sifat *stemness* kanker

Perubahan kekakuan ECM maupun peningkatan deposisi kolagen dapat meningkatkan persinyalan integrin dan mempromosikan pertahanan diri dan proliferasi sel. Kedua abnormalitas ini, merupakan hasil dari peningkatan produksi LOX, meningkatkan adhesi fokal serta persinyalan ERK dan PI3 kinase, dan memfasilitasi transformasi onkogenik. Deregulasi perombakan ECM juga menyebabkan penghindaran apoptosis oleh sel mutan. (97,99)

Matriks ekstraseluler abnormal dapat mengonversi ceruk sel punca normal menjadi ceruk sel punca kanker. Berbagai reseptor ECM memfasilitasi sel punca untuk menambat pada ceruk lingkungan lokal tertentu untuk menjaga properti sel punca. Penambatan ini juga menyebabkan sel punca dapat mempertahankan polaritas, mengorientasikan poros mitotik, dan menjalani pembelahan sel asimetris, sebagai mekanisme pokok untuk perbaruan diri dan diferensiasi sel punca. ECM dapat meregulasi secara langsung diferensiasi sel punca dengan berbagai cara. Sebagai contoh, *tenascin C* dapat

memodulasi persinyalan FGF2 dan BMP4, yang mana keduanya sangat penting dalam biologi sel punca neural. (97,99)



Gambar 5.16. Gambaran skematis peran ECM dalam memodulasi sifat *stemness* pada kanker.

ECM dapat memodulasi metabolisme sel punca kanker (CSC), rekrutmen sel imun, dan berfungsi sebagai sumber dari faktor-faktor pertumbuhan dan molekul persinyalan lainnya yang diperlukan dalam pembaruan diri dan pemeliharaan CSC. ECM juga berperan sebagai barier fisik untuk CSC dari obat-obat sitotoksik, serta sebagai area penambatan CSC untuk pembelahan dan kolonisasi metastatik. CSC sebaliknya, memodifikasi ECM lokal melalui peningkatan regulasi degradasi ECM dan enzim pemodifikasi seperti MMP dan LOX.(97)

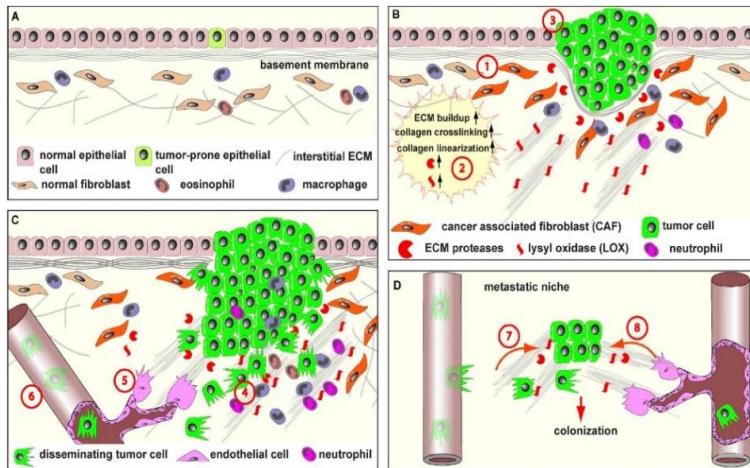
### 3. Peran ECM pada progresivitas dan metastasis kanker

Proses metastasis yang merupakan salah satu pembeda tumor jinak dan ganas merupakan proses dengan beberapa tahapan (akan kita bahas selanjutnya), mencakup invasi lokal dan intravasasi pada lokasi primer, bertahan dan beredar di pembuluh darah, dan ekstravasasi yang diikuti dengan kolonisasi pada daerah yang jauh. Metastasis memerlukan tidak hanya ceruk lokal yang menyokong pertumbuhan sel kanker pada area primer, tapi juga ceruk metastatik yang meningkatkan kemampuan sel kanker untuk bertahan, koloniasi, dan ekspansi untuk membentuk makrometastasis. ECM pada ceruk tumor primer menjadi komponen utama ceruk metastasis ini. Contohnya pada ceruk tumor primer, aktivitas LOX sering kali meningkat pada area metastatik yang disebabkan oleh peningkatan produksinya dari sel kanker maupun fibroblas yang teraktivasi pada ceruk metastatik. Peningkatan tekanan mekanik sebagai akibat dari ekspresi LOX dan kekakuan ECM, memfasilitasi koloniasi sel kanker dan infiltrasi sel imun pada lokasi metastatik. Hal ini juga terjadi pada ceruk primer, yang kemudian mencetuskan *angiogenic switch* dan menyebabkan ekspansi sel kanker membentuk makrometastasis. (97,99,100)

Sel lainnya seperti sel progenitor hematopoietik dapat berpartisipasi bersama sel kanker dalam



membentuk ceruk pre-metastasis. Sel kanker, contohnya, pada lokasi primer memproduksi osteopontin dan faktor lainnya untuk menarik granulin yang diekspresikan oleh sel progenitor hematopoietik, yang kemudian mengubah regulasi sel stroma pada lokasi yang jauh. Granulin, menariknya, termasuk dalam keluarga epithelin yang dapat meningkatkan ekspresi dari berbagai komponen ECM dan enzim pemodifikasinya pada fibroblas stromal. Perubahan komposisi ini pun penting dalam penarikan sel progenitor hematopoietik selanjutnya menuju ceruk pre-metastatik. Contohnya, peningkatan ekspresi fibronektin penting untuk reseptor 1+ VEGF (VEGFR1+) pada sel progenitor hematopoietik yang juga mengekspresikan reseptor integrin  $\alpha 4\beta 1$  fibronektin untuk bermigrasi dan menempel pada ceruk di paru-paru. Setelah sel ini mencapai ceruk, maka sel-sel ini menyekresi MMP9—yang diketahui berperan penting dalam metastasis spesifik pada paru—sehingga dapat memodulasi dan deregulasi ceruk pre-metastatik. (99)



Gambar 5.17. ECM abnormal dapat mempromosikan metastasis kanker.

(A) perombakan ECM diatur dengan ketat untuk memastikan homeostasis dan fungsi normal organ. Dinamik ECM normal sangat penting dalam mempertahankan integritas jaringan dan menjaga sel yang rawan tumor, bersama dengan fibroblas lokal, eosinofil, makrofag, dan sel stromal lainnya menjaga lingkungan mikro yang sehat. (B) Pada kondisi patologis atau penuaan, jaringan memasuki tahapan tumorigenik. Tahap awal yaitu pembentukan fibroblas atau CAF, yang berkontribusi pada pembentukan ECM abnormal dan deregulasi ekspresi enzim perombakan ECM. ECM abnormal memberikan dampak pada sel sekitar, seperti epitel, endotel, dan sel imun, serta sel stroma lainnya. Deregulasi ECM menyebabkan transformasi seluler epitel dan hiperplasia. (C) Pada tumor stadium lanjut, sel imun sering kali direkrut menuju area tumor untuk meningkatkan



progresi kanker. Deregulasi ECM berdampak pula pada berbagai aspek biologis vaskuler dan mempromosikan angiogenesis yang berkaitan dengan tumor. Adanya struktur pembuluh darah yang lemah, memfasilitasi invasi sel tumor dan metastasis ke lokasi yang lebih jauh. (D) Pada lokasi yang jah, sel kanker keluar dari sirkulasi dan mengambil alih jaringan lokal. Bersama sel stroma lokal, sel kanker mengekspresikan enzim perombak ECM dan membentuk lingkungan metastatik lokal. ECM abnormal mempromosikan ekstravasasi, pertahanan hidup, dan proliferasi sel kanker. Pada tahap akhir, ketika sel kanker kembali aktif, ECM mengaktifasi *angiogenic switch*, menggunakan sebuah mekanisme yang mirip dengan lokasi primer kanker, dan mempromosikan pertumbuhan cepat sel kanker, serta ekspansi mikro- dan makrometastasis.(99)

## ***EPIHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION (EMT)***

**“Gen yang Berperan Penting dalam EMT”**

**“Bagaimana Proses EMT?”**

Salah satu protein penekan tumor yaitu *E-cadherin* diketahui mengalami penurunan kadar dan gangguan fungsinya pada sel-sel tumor, yang dihubungkan dengan kejadian *epithelial to mesenchymal transition* (EMT). Proses ini diketahui berhubungan pula dengan progresi dan metastasis tumor. Hilangnya adhesi dan hubungan antar sel sebagai akibat dari hilangnya fungsi dan penurunan jumlah *E-cadherin*, dapat menyebabkan terlepasnya sel kanker dari situs primernya, menginvasi jaringan sekitarnya, hingga dapat bermigrasi ke lokasi lebih jauh. (101,102)

Kehilangan ekspresi *E-cadherin* ternyata bukan satu-satunya risiko terjadinya metastasis. Diketahui bahwa pada beberapa kanker, metastasis tetap terjadi walaupun kadar *E-cadherin* tetap tinggi. Beberapa penelitian memperlihatkan adanya penurunan regulasi aktivitas adhesi *E-cadherin* berkontribusi pada kejadian metastasis. Lingkungan mikro tumor memproduksi berbagai sinyal yang mengatur aktivitas *E-cadherin* dan perubahan morfologi sel (terkait EMT). Berbagai penelitian juga menunjukkan adanya mutasi pada jalur-jalur terkait ekspresi dan aktivitas *E-cadherin* yang



memengaruhi ekspresi dan fungsinya, sehingga memungkinkan terjadinya metastasis pada sel kanker. (102)

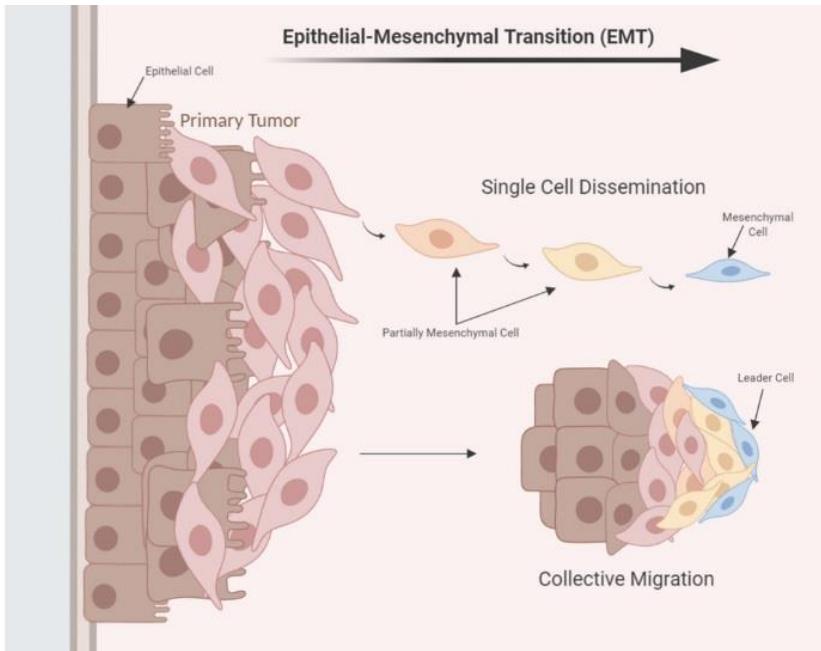
Pengaturan ekspresi gen *E-cadherin* diperlukan selama proses perkembangan, diferensiasi sel, dan progresi kanker. Penurunan ekspresi gen ini dapat meningkatkan migrasi dan sifat invasif sel kanker, dengan cara meningkatkan motilitas sel dan memfasilitasi disosiasi dari matriks ekstraseluler pada situs primer tumor. Penekanan ekspresi *E-cadherin* menyebabkan **perubahan sel fenotipe sel kanker epitelial menjadi mesenkimal**, yang memfasilitasi kemampuannya dalam menginvasi jaringan sekitar dan melewati membran basalis. Proses inilah yang merujuk pada *epithelial to mesenchymal transition* (EMT). Dengan semakin modernnya teknik molekular, diketahui bahwa kontrol terhadap ekspresi gen *E-cadherin* ini menjadi kunci utama pemrograman ulang molekular EMT, dan hal ini berkaitan erat dengan sifat agresif sel kanker.(103)

Seperti halnya dengan gen-gen lain, pengaturan ekspresi *E-cadherin* dimulai dari tahap transkripsi hingga post-translasi. Begitu pula pengaturan epigenetik dan RNA regulator pada ekspresi gen ini. Berbagai mekanisme ini contohnya yaitu kehilangan heterozigositas regio kromosom 16q22.1, mutasi yang meninaktivasi gen *E-cadherin* (CDH1), hipermetilasi promoter gen CDH1, peningkatan ekspresi faktor represor transkripsi CDH1, dan modifikasi post-

translasional seperti fosforilasi dan glikosilasi. Terdapat sedikitnya 2 elemen E-box pada regio promoter yang mengatur ekspresi gen *E-cadherin*. Ikatan aktuator maupun represor transkripsi pada E-box ini mengatur ekspresi *E-cadherin* pada tahap transkripsi dengan memfasilitasi pengikatan dengan protein koregulator.(103,104)

Proses EMT mengakibatkan perubahan seluler pada sel, baik itu protein maupun modifikasi ekspresi gennya. Di antara perubahan ini yaitu penurunan kadar protein epitelial seperti sitokeratin, peningkatan ekspresi protein filamen mesenkim tipe III yang disebut vimentin, dan perubahan pada molekul perlekatan antar sel serta perlekatan sel dan matriks. Penurunan ekspresi *E-cadherin* yang merupakan kunci EMT juga berkaitan dengan peningkatan ekspresi *neuronal cadherin* (*N-cadherin*). Perubahan ini (*cadherin switch*) berkaitan dengan peningkatan motilitas sel dan kemampuan invasinya. Proses ini juga diatur oleh berbagai faktor transkripsi yang menekan ekspresi *E-cadherin*, mencakup Twist, Snail, Slug, ZEB dan sebagainya. (60,103–105)





Gambar 5.18. Proses EMT (*Epithelial to Mesenchymal Transition*) pada kanker.(106)

Salah satu faktor transkripsi yaitu keluarga protein *Zinc Finger E-Box Binding Homeobox* (ZEB), ZEB1 dan ZEB2, memiliki peran dalam kontrol ekspresi *E-cadherin*. Ekspresi protein ini sendiri pun diregulasi oleh mekanisme epigenetik. Dengan merekrut aktuator maupun represor berbeda, ZEB dapat berperan pada berbagai fungsi dalam perombakan kromatin. Sebagai contoh, perekrutan *C-terminal binding protein* (CtBP), ZEB berfungsi sebagai represor transkripsi. CtBP1 dapat berinteraksi dengan deasetilase histon untuk menekan ekspresi gen dengan menarget regio promoter. Ekspresi ZEB juga diatur oleh miRNA yang menarget mRNA

ZEB. Sebaliknya, ZEB juga dapat mengatur ekspresi miRNA dengan mengintervensi promoter miRNA yang mengatur EMT. Mekanisme ini dimanfaatkan oleh sel kanker untuk meningkatkan agresivitasnya. Fenotipe mesenkim, sifat *stemness*, resistensi pada terapi, dan agresivitas pada tumor selama EMT merupakan hasil dari adanya disregulasi ZEB dan *E-cadherin*. (60,103)

Faktor represor lainnya yaitu Slug berkaitan dengan penekanan ekspresi *E-cadherin*. Sementara Snail tampaknya berkaitan dengan ekspresi ZEB2 dalam fungsinya menekan ekspresi *E-cadherin*. Sementara Twist, diketahui berikatan dengan *E-box* intron pertama gen *N-cadherin*, sehingga menyebabkan peningkatan ekspresi gen tersebut dan menyebabkan *cadherin switching* dan EMT. Regulasi positif pada promoter *N-cadherin* merupakan regulasi negatif terhadap promoter *E-cadherin*. *N-cadherin* sendiri jika diekspresikan oleh sel epitel akan mempromosikan motilitas yang tidak dapat ditekan oleh *E-cadherin*.(105)



**“Apa Saja Tahapan Metastasis?”**  
**“Komponen Apa Saja yang Terlibat?”**

Proses metastasis merupakan suatu proses yang kompleks dan melibatkan banyak faktor, termasuk sifat motilitas kanker, angiogenesis, perubahan ECM dan lingkungan mikro tumor, sel imun, dan lain sebagainya. Sehingga tampak bahwa proses ini tidak terjadi begitu saja tanpa kerja sama dari faktor-faktor ini. Berbagai penelitian menunjukkan, setiap harinya jutaan sel kanker dilepaskan ke dalam sirkulasi dari situs primernya, tapi hanya sedikit metastasis yang terbentuk. Kaskade metastasis dibagi menjadi dua tahap, yaitu (1) invasi ECM, dan (2) diseminasi vaskular, *homing* sel tumor, dan kolonisasi. (3,6,8,47)

Sel-sel tumor berinteraksi dengan ECM pada berbagai tahapan dalam kaskade metastatik. Sel kanker juga harus mampu melewati membran basalis, jaringan ikat interstisial, dan masuk ke dalam sirkulasi dengan penetrasi ke dalam membran basal vaskular. Proses ini berjalan dengan arah sebaliknya saat sel tumor memasuki organ lain pada situs yang jauh. Invasi ECM oleh sel kanker merupakan proses aktif yang terdiri dari: (1) kehilangan interaksi antar sel, (2)

degradasi ECM, (3) penempelan pada komponen ECM yang baru, dan (4) migrasi dan invasi oleh sel tumor. (3,6,8,47)

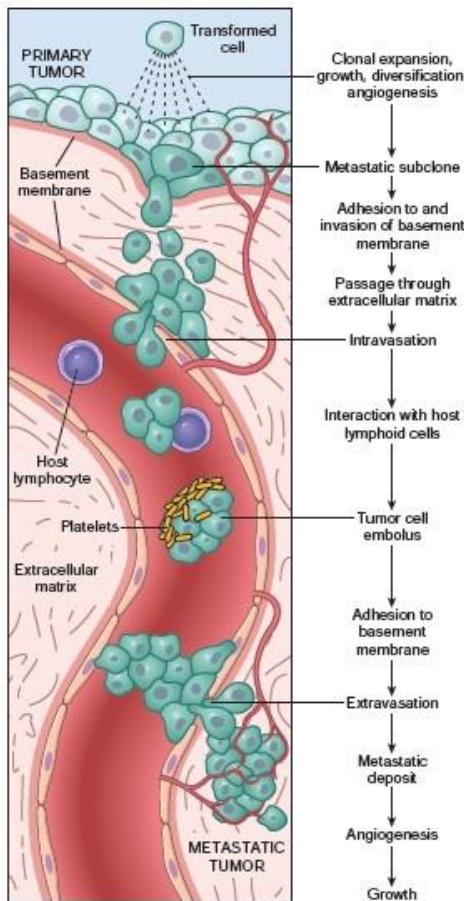
Seperti yang telah kita bahas sebelumnya, bahwa sel epitel saling menempel satu sama lain bersama ECM oleh molekul adhesi. Salah satu molekul ini yaitu *E-cadherin*. Gangguan ekspresi molekul ini pada kanker menyebabkan kemampuan adhesi antar sel menurun, dan perlekatan pada situs primer, dan menginvasi jaringan sekitar. Proses ini merupakan tahap pertama invasi jaringan oleh sel kanker. (3,6,8,47)

Sel tumor dapat menghasilkan enzim proteolitik atau menginduksi sel stroma menghasilkan faktor pertumbuhan ECM. Kolagen yang tidak lagi utuh serta proteoglikan memiliki kemampuan kemotaksis, angiogenik, dan menstimulus pertumbuhan. Sebagai contoh, MMP9 merupakan gelatinase yang memotong kolagen tipe IV dari sel epitel dan membran basalis vaskular, serta dapat menstimulus pelepasan VEGF dari ECM. Peningkatan ekspresi MMP dan protease lainnya dapat ditemukan pada berbagai tumor, seperti pada kanker payudara, kolon, dan lambung. (3,6,8,47)

Proses migrasi memerlukan keterlibatan berbagai reseptor dan protein persinyalan yang mengenai sitoskeleton aktin. Sel kemudian akan menempel pada ECM, melepaskan kannya, dan berkontraksi menggunakan sitoskeleton



aktin untuk dapat bergerak. Pergerakan ini distimulus oleh sitokin tumor, seperti faktor motilitas autokrin. (6,8)



Gambar 5.19. Kaskade Metastasis (6)

Sel tumor yang telah mencapai sirkulasi sangat rentan terhadap destruksi oleh berbagai mekanisme, termasuk kerusakan akibat gesekan dan apoptosis yang distimulus oleh kehilangan adhesi (anoikis), serta adanya sistem imun bawaan maupun adaptif. Di dalam pembuluh darah, sel tumor

cenderung membentuk agregat. Pembentukan agregat antara sel tumor dan platelet sering terjadi, dan dapat meningkatkan pertahanan diri dan kemampuan implantasi sel tumor. Sel tumor juga dapat berikatan dan mengaktifkan faktor koagulasi, sehingga membentuk embolus. Selanjutnya, ekstravasasi sel tumor ke organ yang dituju, melibatkan penempelan pada endotel yang diikuti dengan keluarnya sel tumor melalui membran basalis. Berbagai molekul perlekatan dan enzim ikut berperan di sini, mencakup integrin, reseptor laminin, dan enzim proteolitik. Migrasi menuju jaringan limfoid juga terjadi, dengan perantara molekul adhesi CD44 yang diekspresikan oleh sel T normal. Sel tumor jaringan padat juga sering mengekspresikan CD44 yang dapat berikatan dengan *hyaluronate* pada *high endothelial venules* (HEV), dan meningkatkan kemampuannya menyebar pada nodus limfatisik dan daerah metastasis lainnya. (6,8,47)

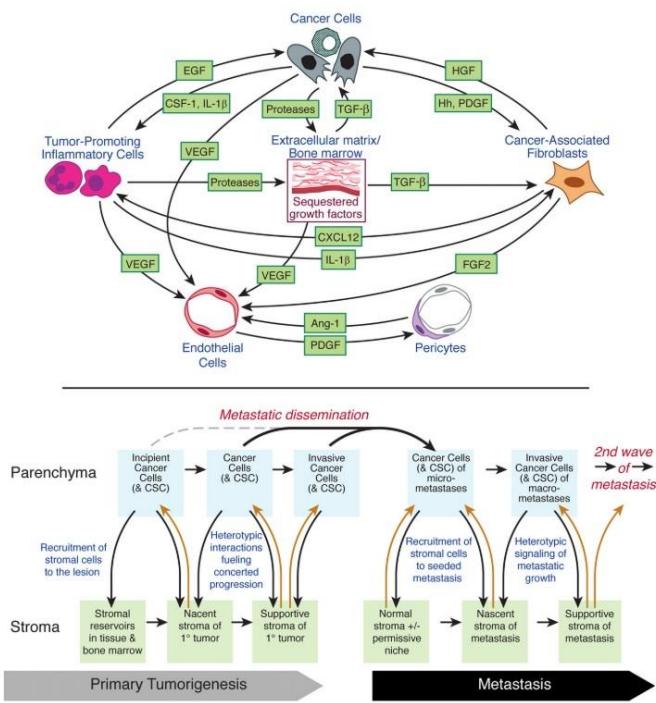
Pertanyaan yang sering muncul adalah, apa yang menentukan situs metastasis tumor? Mengapa suatu kanker memiliki jaringan metastasis spesifik? Situs yang menjadi tempat sel tumor meninggalkan sirkulasi untuk berkoloniasi, berkorelasi dengan lokasi anatomi dan drainase vaskular dari tumor primer, serta tropisme tumor tertentu sesuai dengan jaringan yang spesifik. Tropisme



berbagai organ dihubungkan dengan beberapa mekanisme:

(6)

1. Sel tumor memiliki molekul adhesi yang ligannya diekspresikan pada sel endotel organ targetnya.
2. Penentuan jaringan target metastasis oleh kemokin, contohnya sebagian sel kanker payudara mengekspresikan reseptor kemokin CXCR4 dan CCR7.
3. Sebagian jaringan target tidak memiliki lingkungan yang cocok untuk kolonisasi sel kanker, contohnya sel otot skeletal dan limpa.



Gambar 5.20. Peran sel kanker dan lingkungan mikro tumor dalam proses metastasis (47)

Akhirnya, jika kita meninjau kembali hubungan sel kanker, sel stroma, dan ECM yang begitu kompleks, sangat menentukan kemampuan progresivitas sel kanker. Sel-sel ini sangat cerdas, memanfaatkan jaringan normal hingga “musuhnya” untuk dapat menguntungkan sel kanker dalam progresivitasnya. Berbagai faktor pertumbuhan digunakan untuk menyediakan jaringan vaskuler yang diperlukan sel kanker untuk dapat bertahan dan melakukan metastasis. Bahkan, sitokin yang dihasilkan sel imun juga digunakan untuk dapat meningkatkan angiogenesis. Proses peradangan yang juga menghasilkan enzim proteolitik dapat digunakan untuk perombakan ECM dan akhirnya memfasilitasi sel-sel ini untuk masuk ke dalam sirkulasi. Seluruh mekanisme ini dimanfaatkan untuk progresivitas sel kanker.



## Notes

### ***Highlight:***

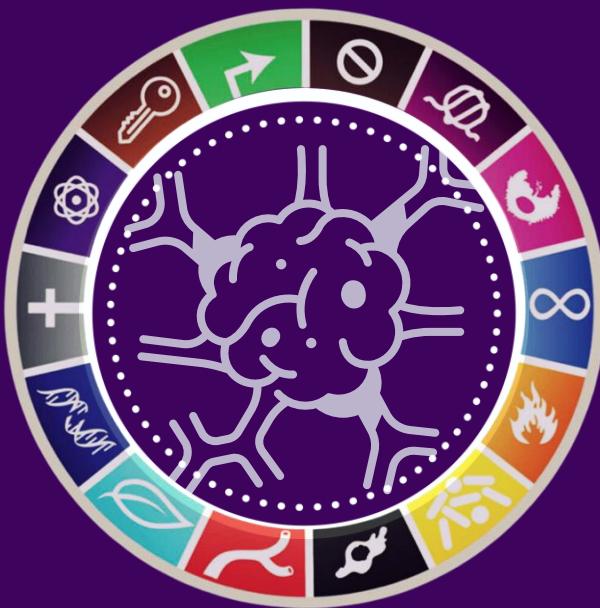
- Komponen TME
- Peran TME dalam Tumorigenesis dan Metastasis
- EMT
- Kaskade Metastasis



## Notes

Buku ini tidak diperjualbelikan.





Buku ini tidak diperjualbelikan.

# **BAB VI**

# **KESIMPULAN**

Buku ini tidak diperjualbelikan.



Tumor merupakan suatu pertumbuhan jaringan baru yang timbul di dalam tubuh dan menyebabkan kegagalan kendali normal dari jaringan setempat. Tumor dibedakan menjadi 2 berdasarkan sifatnya, yaitu tumor jinak (benigna) dan tumor ganas (maligna) yang disebut kanker. Perbedaan utama kedua jenis ini adalah pada sifat invasif dan kemampuan kanker bermetastasis atau berpindah pada organ yang lebih jauh. Terdapat berbagai faktor yang memengaruhi perkembangan kanker, yang digolongkan menjadi faktor intrinsik (tak dapat dimodifikasi) dan non-intrinsik (dapat dimodifikasi) yang terutama diperankan oleh faktor genetik dan lingkungan.

Sel manusia tidak luput dari serangan lingkungan baik itu oleh adanya infeksi oleh virus, kerusakan DNA akibat berbagai proses, kegagalan perbaikan DNA yang rusak, mutagen, dan karsinogen termasuk sinar UV, racun, dan bahan kimia. Berbagai serangan ini dapat menyebabkan timbulnya kanker. Berbagai karsinogen maupun mutagen dapat menyebabkan aktivasi onkogen maupun inaktivasi gen penekan tumor. Mekanisme yang terlibat mulai dari genetik, epigenetik, hingga RNA regulator. Proses karsinogenesis yang terangkum dalam *hallmark of cancer* memperlihatkan kompleksitas patogenesis kanker, yang melibatkan mulai dari sel kanker itu sendiri, sel punca kanker, sel-sel stromal, ECM,



dan komponennya yang membentuk lingkungan mikro tumor, serta sel imun.

Penelitian di bidang kedokteran molekular yang cukup pesat, berdampak positif pada penelitian di bidang kanker. Banyak temuan dihasilkan, yang diharapkan dapat bermanfaat dalam memahami kanker, mencari teknologi penapisan yang akurat dan tidak invasif, hingga menemukan terapi yang berbasis personal. Tugas kita selaku peneliti dan praktisi di bidang kesehatan dan kedokteran untuk terus menggali ilmu, sehingga dapat bermanfaat untuk kesehatan terutama di bidang kanker.

# DAFTAR PUSTAKA

1. Desen W. Buku Ajar Onkologi Klinis. 2nd ed. Japaries W, editor. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2011.
2. Mukherjee S. Kanker Biografi Suatu Penyakit. Edisi Baha. Primanda A, editor. Jakarta: Kepustakaan Populer Gramedia; 2020.
3. Pecorino L. Molecular Biology of Cancer. 3rd Editio. Oxford: Oxford University Press; 2012.
4. Kresno SB, Kadir A, Sutandoyo N, Harianto SH, Setiawan L. Imuno-Onkologi. Kresno SB, editor. Jakarta: Sagung Seto; 2018.
5. Informasi PD dan. Situasi Penyakit Kanker. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. 2015;1.
6. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015.
7. Wu S, Zhu W, Thompson P, Hannun YA. Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. Nat Commun. 2018;9:1-12.
8. Haryono SJ, Anwar S lukman, Salim A. Dasar-Dasar Biologi Molekular Kanker bagi Praktisi Klinis. 1st ed. Haryana SM, editor. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2017.
9. Hall JE, Guyton AC. Guyton dan Hall Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Revisi Ber. Ilyas EII, Widjajakusumah MD, Tanzil A, editors. Singapore: Elsevier Inc; 2016.

10. Rajalakshmi TR, Aravindhababu N, Shanmugam KT, Masthan KMK. DNA adducts-chemical add-ons. *Dental Science*. 2015;7:197–200.
11. Ma B, Stepanov I, Hecht SS. Recent Studies on DNA Adducts Resulting from Human Exposure to Tobacco Smoke. *Toxics*. 2019;7(16):1–28.
12. Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 14th Editi. Canada: Elsevier; 2021.
13. Araldi RP, Araujo T, Ana S, Módolo DG. The human papillomavirus (HPV) -related cancer biology: An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;106(April):1537–56.
14. Bordignon V, Gino E, Domenico D, Trento E, Agosto GD, Cavallo I, et al. How Human Papillomavirus Replication and Immune Evasion Strategies Take Advantage of the Host DNA Damage Repair Machinery. *Viruses*. 2017;9(390):1–14.
15. Molina AA, Valencia JFH, Lamoyi E, Paredes AC, Lizano M. Role of Innate Immunity against Human Papillomavirus (HPV) Infections and Effect of Adjuvants in Promoting Specific Immune Response. *Viruses*. 2013;5:2624–42.
16. Steinbach A, Riemer AB. Immune evasion mechanisms of human papillomavirus: An update. *Int J Cancer*. 2018;142:224–9.
17. Chang K chao, Chang Y, Wang LH ching, Tsai H wen, Huang W, Su I jen. ScienceDirect Pathogenesis of viruses-associated human cancers: Epstein-Barr virus and hepatitis B virus as two examples. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2013;9(1):1–10.
18. Park NH, Song IH, Chung Y hwa. Molecular Pathogenesis of Hepatitis-B-virus-associated

- Hepatocellular Carcinoma. *Gut Liver*. 2007;1(2):101–17.
19. Kumar S, Mani K, Andrisani O. Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma and Hepatic Cancer Stem Cells. *Genes (Basel)*. 2018;9(137):1–15.
  20. Fernandes Q, Merhi M, Raza A, Inchakalody VP, Abdelouahab N, Gul ARZ, et al. Role of Epstein – Barr Virus in the Pathogenesis of Head and Neck Cancers and Its Potential as an Immunotherapeutic Target. *Front Oncol*. 2018;8(July):1–14.
  21. El-Sharkawy A, Al-Zaida L, Malki A. Epstein – Barr Virus-Associated Malignancies: Roles of Viral Oncoproteins in Carcinogenesis. *Front Oncol*. 2018;8(265):1–13.
  22. Ko Y hyeh. EBV and human cancer. *Experimental & Molecular Medicine*. 2015;47(1):e130-3.
  23. Sunil M, Reid E, Lechowicz MJ. Update on HHV-8-Associated Malignancies. *Curr Infect Dis Rep*. 2010;12(March):147–54.
  24. Yarchoan R, Uldrick TS. HIV-Associated Cancers and Related Diseases Robert. *N Engl J Med*. 2018;378(11):1029–41.
  25. Foreman KE. Kaposi ' s sarcoma : the role of HHV-8 and HIV-1 in pathogenesis. *Exp Rev Mol Med*. 2001;26(March):1–17.
  26. Serdan TDA, Alfaia CM, Ali M, Almeida DM, Andrade I, Arashiki N. The Molecular Nutrition of Fats. Patel VB, editor. London: Elsevier Inc; 2019.
  27. Ferreri C, Sansone A, Ferreri R, Amezaga J, Tueros I. Fatty Acids and Membrane Lipidomics in Oncology : A Cross-Road of Nutritional, Signaling and Metabolic Pathways. *Metabolites*. 2020;10(345):1–26.



28. Bojkov B, Winklewski PJ, Wszedybyl-Winklewska M. Dietary Fat and Cancer — Which Is Good, Which Is Bad, and the Body of Evidence. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4114):1–47.
29. Cozzo AJ, Fuller AM, Makowski L. Contribution of Adipose Tissue to Development of Cancer. *Compr Physiol.* 2018;8(1):237–82.
30. Quail DF, Dannenberg AJ. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(3):139–54.
31. Ecker BL, Lee JY, Sterner CJ, Solomon AC, Pant DK, Shen F, et al. Impact of obesity on breast cancer recurrence and minimal residual disease. *Breast Cancer Research.* 2019;21(41):1–16.
32. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Hamosh A. *Thompson and Thompson Genetics in Medicine.* 7th Editio. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
33. Bennett RL, Bele A, Small EC, Will CM, Nabet B, Oyer A, et al. A Mutation in Histone H2B Represents A New Class of Oncogenic Driver. *cancer discov.* 2019;9(10):1438–51.
34. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, et al. *Molecular Biology of The Cell.* 6th ed. United states of America: Garland Science; 2015.
35. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology.* 9th editio. Canada: Elsevier; 2013.
36. Bethune G, Bethune D, Ridgway N, Xu Z. Epidermal growth factor receptor ( EGFR ) in lung cancer : an overview and update. 2010;
37. Hecht BJL, Aster JC. Molecular Biology of Burkitt ' s Lymphoma. *Biology of Neoplasia.* 2019;18(21):3707–21.

38. Lam LT, Ph D, Kluin P, Boerma E jan, Greiner TC, Weisenburger DD, et al. Molecular Diagnosis of Burkitt's Lymphoma. *N Engl J Med.* 2006;354(23):2431-42.
39. Shahbandi A, Nguyen HD, Jackson JG. TP53 Mutations and Outcomes in Breast Cancer: Reading beyond the Headlines. *Trends Cancer.* 2020;6(2):98-110.
40. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. Origins, Consequences, and Clinical Use. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2(a001008):1-17.
41. Rivlin N, Brosh R, Oren M, Rotter V. Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Important Milestones at the Various Steps of Tumorigenesis. *Genes Cancer.* 2011;2(4):466-74.
42. Anwar SL, Haryono SJ, Aryandono T, Haryana SM. Micro-RNA: Biogenesis, Fungsi, dan Perannya dalam Proses Karsinogenesis dan Penatalaksanaan Kanker. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2017.
43. Lin S, Gregory RI. MicroRNA biogenesis pathways. *Nature Publishing Group.* 2015;15(6):321-33.
44. Pratiwi SE, Wahyuningrum SN, Putri RGP, Danarto, Heriyanto DS, Arfian N, et al. MiR-141-3p Relative Expression Level from FFPE Samples as Biomarker of Prostate Adenocarcinoma Carcinogenesis in Yogyakarta, Indonesia. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology.* 2022 Apr 28;4(1).
45. Michlewski G, Cáceres JF. Post-transcriptional control of miRNA biogenesis. *RNA.* 2019;25:1-16.
46. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell.* 2000;100:57-70.
47. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646-74.



48. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* 2022 Jan 1;12(1):31–46.
49. Fouad YA, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer.* 2017;7(5):1016–36.
50. Hanahan D, Weinberg RA. Review Hallmarks of Cancer : The Next Generation. *Cell.* 2011;144:646–74.
51. Rubin E, Reisner HM. Essentials of Rubin's Pathology. Sixth Edit. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
52. Yao Y, Dai W. Genomic Instability and Cancer Yixin. *J Carcinog Mutagen.* 2014;5:1–17.
53. Bondar T, Medzhitov R. The origins of tumor-promoting inflammation Tanya. *Cancer Cell.* 2013;24(2):143–4.
54. Kato Y, Maeda T, Suzuki A, Baba Y. Cancer metabolism : New insights into classic characteristics. *Japanese Dental Science Review.* 2017;(185):1–14.
55. Ward PS, Thompson CB. Metabolic Reprogramming: A Cancer Hallmark Even Warburg Did Not Anticipate. *Cancer Cell.* 2012;21(3):297–308.
56. Yoshida GJ. Metabolic reprogramming : the emerging concept and associated therapeutic strategies. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.* 2015;34(111):1–10.
57. Messerschmidt JL, Prendergast GC, Messerschmidt gerald L. How Cancers Escape Immune Destruction and Mechanisms of Action for the New Significantly Active Immune Therapies : Helping Nonimmunologists Decipher Recent Advances. *Oncologist.* 2016;21:233–43.
58. Cordani M, Dando I, Ambrosini G, González-Menéndez P. Signaling, cancer cell plasticity, and intratumor

- heterogeneity. Vol. 22, Cell Communication and Signaling. BioMed Central Ltd; 2024.
59. Sher G, Salman NA, Khan AQ, Prabhu KS, Raza A, Kulinski M, et al. Epigenetic and breast cancer therapy: Promising diagnostic and therapeutic applications. Vol. 83, Seminars in Cancer Biology. Academic Press; 2022. p. 152–65.
  60. Pratiwi SE, Wahyuningrum SN, Putri RP, Danarto D, Heriyanto DS, Arfian N, et al. ZEB1 is Negatively Correlated with E-Cadherin in Prostatic Anomaly Tissue. Molecular and Cellular Biomedical Sciences. 2022 Mar 1;6(1):28.
  61. Subowo. Imunobiologi. 3rd ed. Subowo, editor. Jakarta: Sagung Seto; 2014.
  62. Pandya PH, Murray ME, Pollok KE, Renbarger JL. The Immune System in Cancer Pathogenesis: Potential Therapeutic Approaches. J Immunol Res. 2016;1–13.
  63. Murphy KP. Janeway's Immunobiology. 8th ed. New York: Garland Science; 2012.
  64. Oak R, Couric E. Cancer Immunology and Immunotherapy. Anticancer Res. 2016;36:5593–606.
  65. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2012.
  66. Gou Q, Dong C, Xu H, Khan B, Jin J, Liu Q, et al. PD-L1 degradation pathway and immunotherapy for cancer. Cell Death Dis. 2020;11(955):1–7.
  67. Palucka AK, Coussens LM. The Basis of Oncoimmunology. Cell. 2016;164(6):1233–47.
  68. Palucka AK, Coussens LM. Review The Basis of Oncoimmunology. Cell. 2016;164(6):1233–47.



69. Greten FR, Grivennikov SI. Review Inflammation and Cancer : *Immunity*. 2019;51(1):27–41.
70. Matsushita H, Vesely MD, Koboldt DC, Rickert CG, Uppaluri R, Magrini VJ, et al. mechanism of cancer immunoediting. *Nature*. 2012;482(7385):400–4.
71. Owen J, Punt J, Stranford SA, Jones PP. *Kuby Immunology*. Seventh ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2013.
72. Langley RR, Fidler IJ. interactions in metastasis to different organs. *Int J Cancer*. 2011;128(11):2527–35.
73. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer*. 2017;8(5):761–73.
74. Baghban R, Roshangar L, Jahanban-esfahlan R, Seidi K, Ebrahimi-kalan A, Jayman M, et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. *Cell Communication and Signaling*. 2020;18(59):1–19.
75. Lee H yong, Hong IS. Double-edged sword of mesenchymal stem cells: Cancer-promoting versus therapeutic potential. *Cancer Sci*. 2017;108(10):1939–46.
76. Serakinci N, Tulay P, Kalkan R. Role of Mesenchymal Stem Cells in Cancer Development and Their Use in Cancer Therapy. *Advs Exp Medicine Biology-Innovations in Cancer Research and Regenerative Medicine DOI*. 2017;1–18.
77. Hmadcha A, Martin-montalvo A, Gauthier BR. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells for Cancer Therapy. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8(43):1–13.

78. Adjei IM, Blanka S. Modulation of the Tumor Microenvironment for Cancer Treatment: A Biomaterials Approach. *J Funct Biomater.* 2015;6:81-103.
79. Shiga K, Hara M, Nagasaki T, Sato T, Takahashi H. Cancer-Associated Fibroblasts: Their Characteristics and Their Roles in Tumor Growth. *Cancers (Basel).* 2015;7:2443-58.
80. Liu T, Han C, Wang S, Fang P, Ma Z, Xu L, et al. Cancer-associated fibroblasts: an emerging target of anti-cancer immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology.* 2019;12(86):1-15.
81. Sun WEI, Fu S. Role of cancer-associated fibroblasts in tumor structure, composition and the microenvironment in ovarian cancer (Review). *Oncol Lett.* 2019;18:2173-8.
82. Tao L, Huang G, Song H, Chen Y, Chen L. Cancer associated fibroblasts: An essential role in the tumor microenvironment (Review). *Oncol Lett.* 2017;14:2611-20.
83. Liu Y, Guo J, Huang L. Theranostics Modulation of tumor microenvironment for immunotherapy: focus on nanomaterial-based strategies. *Theranostics.* 2020;10(7):3099-117.
84. Arneth B. Tumor Microenvironment. *Medicina (B Aires).* 2020;56(15):1-21.
85. Sousa S, Määttä J. The role of tumour-associated macrophages in bone metastasis. *J Bone Oncol.* 2016;5:135-8.
86. Liu Y, Cao X. The origin and function of tumor-associated macrophages. *Cell Mol Immunol.* 2015;12:1-4.



87. Nagl L, Horvath L, Pircher A, Wolf D. Tumor Endothelial Cells (TECs) as Potential Immune Directors of the Tumor Microenvironment – New Findings and Future Perspectives. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8(766):1–18.
88. Schaaf MB, Houbaert D, Meče O, Agostinis P. Autophagy in endothelial cells and tumor angiogenesis. 2019;665–79.
89. Mierke CT. Role of the Endothelium during Tumor Cell Metastasis : Is the Endothelium a Barrier or a Promoter for Cell Invasion and Metastasis ? 2008;2008.
90. Ribeiro AL, Okamoto OK. Combined Effects of Pericytes in the Tumor Microenvironment. *Stem Cells Int.* 2015;2015:1–8.
91. Treviño ENG, González PD, Salgado CIV, Garza AM. Effects of pericytes and colon cancer stem cells in the tumor microenvironment. *Cancer Cell Int.* 2019;19(173):1–12.
92. Paiva AE, Lousado L, Guerra DAP, Azevedo PO, Sena IFG, Andreotti JP, et al. Pericytes in the Premetastatic Niche. *Cancer Res.* 2018;(29):1–9.
93. Andrés L De, Oncol JH, Andrés JL De, Lisón CG, Jiménez G, Marchal JA. Cancer stem cell secretome in the tumor microenvironment: a key point for an effective personalized cancer treatment. *J Hematol Oncol.* 2020;13(136):1–22.
94. Sun H ran, Wang S, Yan S can, Zhang Y, Nelson PJ, Jia H liang. Therapeutic Strategies Targeting Cancer Stem Cells and Their Microenvironment. *Front Oncol.* 2019;9(1104):1–14.
95. Ciardiello C, Leone A, Budillon A. Review Article The Crosstalk between Cancer Stem Cells and Microenvironment Is Critical for Solid Tumor

- Progression: The Significant Contribution of Extracellular Vesicles. *Stem Cells Int.* 2018;2018:1–12.
96. Aponte PM, Caicedo A. Stemness in Cancer : Stem Cells, Cancer Stem Cells, and Their Microenvironment. *Stem Cells Int.* 2017;2017:1–17.
  97. Nallanthighal S, Heiserman JP, Cheon D joo. The Role of the Extracellular Matrix in Cancer Stemness. *Front Cell Dev Biol.* 2019;7(July):1–14.
  98. Paolillo M, Schinelli S. Extracellular Matrix Alterations in Metastatic Processes. *Int J Mol Sci.* 2019;20(4947):1–18.
  99. Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix : A dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol.* 2012;196(4):395–406.
  100. Lu P, Takai K, Weaver VM, Werb Z. Extracellular Matrix Degradation and Remodeling in Development and Disease. *2011;1–24.*
  101. Das V. The basics of epithelial – mesenchymal transition ( EMT ): A study from a structure, dynamics, and functional perspective. *J Cell Physiol.* 2019;1–21.
  102. Petrova YI, Schecterson L, Gumbiner BM. Roles for E-cadherin cell surface regulation in cancer. *Mol Biol Cell.* 2016;27(21):3233–44.
  103. Wong TS, Gao W, Chan JYW. Transcription regulation of E-cadherin by zinc finger E-box binding homeobox proteins in solid tumors. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
  104. Rosso M, Majem B, Devis L, Lapyckyj L, Besso MJ, Llauradó M, et al. E-cadherin: A determinant molecule associated with ovarian cancer progression, dissemination and aggressiveness. *PLoS One.* 2017;12(9):1–25.



105. Wheelock MJ, Shintani Y, Maeda M, Fukumoto Y, Johnson KR. Cadherin switching. *J Cell Sci*. 2008;121(6):727-35.
106. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(28):1-17.

# GLOSARIUM

**Antigen**, molekul, partikel, peptida, protein, lipid, asam nukleat, maupun alergen yang dapat berikatan dengan sel imun.

**Apoptosis**, mekanisme kematian sel yang terprogram, yang penting dalam berbagai proses biologi sel.

**Delesi**, kelainan yang terjadi ketika terdapat kehilangan atau kekurangan suatu urutan nukleotida pada untai genom hingga lengan kromosom.

**Imunodefisiensi**, gangguan pada sistem imun yang menyebabkan sistem imun menjadi tidak berfungsi dengan baik dalam melawan infeksi dari virus, bakteri, parasit, hingga jamur.

**Inflamasi**, atau peradangan adalah reaksi atau respons sistem imunitas tubuh dalam melawan penyakit atau mikroorganisme.

**Karsinogen**, suatu zat yang dapat memicu pertumbuhan sel kanker.

**Metastasis**, kondisi saat kanker menyebar ke berbagai jaringan tubuh.

**Mutasi**, perubahan materi genetik suatu sel baik pada level gen maupun kromosom.

**Neoplasma**, pertumbuhan abnormal pada sel yang tidak terkendali.

**Onkoprotein**, produk gen berupa protein yang berperan dalam mendorong perkembangan kanker.

**Transkripsi**, -gen, proses sintesis RNA dengan template gen yang terdapat pada untai DNA.

**Tumor**, benjolan atau neoplasma yang bersifat jinak, akibat adanya pertumbuhan sel yang berlebihan dan tidak normal.

**Tumorigenesis**, proses pembentukan kanker.

# INDEX

---

## A

- Angiogenesis** 5, 99, 181  
**Antigen** 144, 146, 226  
**Apoptosis** 144, 226
- 

## D

- Delesi** 79, 226  
**DNA adduct** 17
- 

## E

- EBV** 22, 109, 215  
**Epigenetik** 33, 50, 81, 131  
**Epithelial to Mesenchymal Transition** 202
- 

## H

- Hallmark of cancer** 67  
**HBV** 20, 21  
**HHV** 23, 24, 215  
**HIV** 23, 215  
**HPV** 13, 18, 19, 20, 81, 86, 214, 231
- 

## I

- IL-6** 23, 29, 160, 163, 168, 169, 170, 171, 174, 185, 186, 187, 188  
**Imunodefisiensi** 226  
**Inflamasi** 13, 111, 146, 226, 231
- 

## K

- Kanker** 1, 5, 7, 8, 9, 12, 31, 40, 50, 52, 55, 65, 102, 139, 140, 151, 155, 157, 184, 213, 217, 231  
**Karsinogen** 12, 13, 14, 16, 226
- 



**Leukemia**

57

<b>Makrofag</b>	142, 173, 174
<b>MAPK</b>	29, 30, 84
<b>Metastasis</b>	5, 102, 155, 156, 195, 204, 206, 223, 226
<b>Metilasi DNA</b>	49
<b>Mikro-RNA</b>	33, 52, 53, 54, 56
<b>Modifikasi histon</b>	47
<b>Mutasi</b>	33, 34, 36, 38, 41, 42, 44, 45, 62, 73, 78, 79, 81, 86, 87, 114, 226

**Neoplasma**

227

**Onkoprotein**

19, 43, 86, 227

<b>Perisit</b>	180, 181
<b>PI3K/AKT</b>	29, 30, 74, 84, 117, 118, 164, 165

<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	23, 29, 144, 149, 162, 174
--------------------------------	----------------------------

<b>Transkripsi</b>	227
--------------------	-----

<b>Tumor</b>	5, 8, 40, 110, 146, 155, 156, 157, 158, 159, 169, 172, 174, 175, 211, 217, 221, 222, 223, 227
--------------	---

<b>Tumorigenesis</b>	33, 40, 139, 146, 156, 157, 217, 227
----------------------	--------------------------------------

<b>VEGF</b>	22, 29, 30, 100, 160, 164, 167, 172, 174, 177, 179, 181, 185, 188, 189, 191, 193, 197, 205
-------------	--

# BIOGRAFI PENULIS



**dr. Sari Eka Pratiwi, M. Biomed.**, menyelesaikan gelar Sarjana Kedokteran dan Profesi dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak dan mendapatkan gelar Master Ilmu Biomedik di FK-KMK Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Aktif sebagai dosen di Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura sejak tahun 2012 hingga saat ini. Bidang yang ditekuni adalah kedokteran molekular yang mencakup biologi sel, genetika dan epigenetika, mikro-RNA, imunologi, imuno-onkologi, dan patobiologi, serta bioinformatika dan imuno-informatika di bidang penyakit degeneratif dan kanker. Buku referensi yang telah terbit sebelumnya adalah *"Kanker dan Perilaku Seksual Berisiko pada Remaja"*, *"Konsep Dasar Biologi Molekular Kanker Untuk Mahasiswa Kedokteran dan Kesehatan"*, *"Konsep Dasar Patobiologi Kanker Payudara"*, *"HPV A-Z"* dan *"Immunoassay"*. Sebelumnya penulis juga telah menerbitkan Buku Ajar yang berjudul *"Membran Sel"*, *"Organela Sel"*, dan *"Inflamasi, Regenerasi, dan Repair Jaringan"*.

# SINOPSIS

Sel manusia tidak luput dari serangan lingkungan baik itu oleh adanya infeksi oleh virus, kerusakan DNA akibat adanya berbagai proses seperti kegagalan perbaikan DNA yang rusak, mutagen, dan karsinogen termasuk sinar UV, racun, dan bahan kimia. Berbagai serangan ini dapat menyebabkan timbulnya kanker. Berbagai karsinogen maupun mutagen dapat menyebabkan aktivasi onkogen maupun inaktivasi gen penekan tumor. Mekanisme yang terlibat mulai dari genetik, epigenetik, hingga RNA regulator. Proses karsinogenesis yang terangkum dalam *hallmark of cancer* memperlihatkan kompleksitas patogenesis kanker. Buku edisi ke-2 ini menampilkan berbagai temuan terbaru, termasuk *update* berbagai mekanisme molekuler yang membentuk *hallmark of cancer*. Penelitian di bidang kedokteran molekuler yang cukup pesat, berdampak positif pada penelitian di bidang kanker. Banyak temuan dihasilkan, yang diharapkan dapat bermanfaat dalam memahami kanker, mencari teknologi penapisan yang akurat dan tidak invasif, hingga menemukan terapi yang berbasis personal. Tugas kitalah sebagai peneliti dan praktisi di bidang kesehatan dan kedokteran untuk terus menggali ilmu, sehingga dapat bermanfaat untuk kesehatan terutama di bidang kanker.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## KONSEP DASAR BIOLOGI MOLEKULAR KANKER

PENDALAMAN *HALLMARK OF CANCER*

EDISI KE-2



Penerbit Yayasan Pendidikan Cendekia Muslim  
Jorong Pale, Pematang Panjang, Sijunjung  
Sijunjung, Sumatera Barat – Indonesia 27554  
Email : cendekiamuslimpress@gmail.com  
Website : www.cendekiamuslim.com



dr. SARI EKA PRATIWI, M. Biomed