KARYA AKHIR

HUBUNGAN EKSPRESI *PROGRAMMED DEATH-1* (PD-1) PADA *TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES* (TILS) DAN *PROGRAMMED DEATH-LIGAND 1* (PDL-1) PADA TUMOR DENGAN *GRADING TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES* (TILS) PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL

CORRELATION EXPRESSION OF TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) PROGRAM DEATH-1 (PD-1) AND TUMOR PROGRAM DEATH LIGAND-1 (PDL-1) WITH GRADING OF TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) IN COLORECTAL ADENOCARCINOMA

NUR RAHMAH RASYID

C075211004

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
ILMU PATOLOGI ANATOMIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024

HUBUNGAN EKSPRESI PROGRAMMED DEATH-1 (PD-1) PADA TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) DAN PROGRAMMED DEATH-LIGAND 1 (PDL-1) PADA TUMOR DENGAN GRADING TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL

KARYA AKHIR

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
Dokter Spesialis-1
Program Studi Ilmu Patologi Anatomik

Disusun dan Diajukan Oleh

NUR RAHMAH RASYID
C075211004

Kepada

PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024

TESIS

HUBUNGAN EKSPRESI PROGRAMMED DEATH-1 (PD-1) PADA TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) DAN PROGRAMMED DEATH-LIGAND 1 (PDL-1) PADA TUMOR DENGAN GRADING TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL

NUR RAHMAH RASYID

C075211004

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Tesis pada tanggal 2 Desember 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Ilmu Patologi Anatomik
Departemen Patologi Anatomik
Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan :

Pembimbing Utama

Prof. dr. Upik Anderiani Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

Pembimbing Pendamping,

dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA
NIP. 19770409 200212 1 002

Kepala Program Studi
Ilmu Patologi Anatomik,

Prof. dr. Upik Anderiani Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.PD-KGH, FINASIM, Sp.GK
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Rahmah Rasyid

Nomor Pokok : C075211004

Program Studi : Ilmu Patologi Anatomik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini, benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Desember 2024

Yang menyatakan,

Nur Rahmah Rasyid

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **"HUBUNGAN EKSPRESI PROGRAMMED DEATH-1 (PD-1) PADA TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) DAN PROGRAMMED DEATH-LIGAND 1 (PDL-1) PADA TUMOR DENGAN GRADING TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILS) PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL"** sebagai salah satu syarat penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomik di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Dalam penelitian dan penulisan karya akhir ini, penulis mendapatkan sangat banyak bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tulus dan sebesar- besarnya kepada :

1. Prof. dr. Upik Anderiani Miskad, Ph.D, Sp.PA (K) sebagai pembimbing pertama dalam penelitian ini atas segala perhatian, bimbingan, doa, semangat dan dorongannya selama proses penelitian, penyusunan, dan publikasi karya akhir ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA sebagai pembimbing kedua yang selalu menyempatkan diri untuk membimbing dan mendorong penulis di tengah kesibukannya.
3. Dr. dr. Suryani Tawali, MPH yang banyak membimbing dan memberikan masukan kepada penulis dalam hal metodologi penelitian dan analisa statistik tesis ini.
4. Prof. dr. Syarifuddin Wahid, Ph.D, Sp.PA (K) sebagai penguji pertama yang menyempatkan waktu membimbing dan memberi masukan yang sangat berharga di sela-sela kesibukannya.
5. dr. Djumadi Achmad, Sp.PA (K) sebagai penguji kedua yang senantiasa menyempatkan dan memberi waktu untuk berdiskusi bersama, sharing bahan bacaan, memberikan *insight*, serta pemahaman yang kritis dan sangat berharga di sela-sela kesibukannya.
6. Seluruh staf pengajar dibagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali dr. Gunawan Arsyadi, Sp.PA(K); dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), SpS; dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D, Sp.PA(K); dr. Truly D. Djimahit, Sp.PA(K); dr. Gatot S. Lawrence, Sp.PA(K); dr. Ni Ketut Sungowati,

SpPA(K); Prof. Dr. dr. Rina Masadah, M.Phill, Sp.PA(K); Dr. dr. Berti J. Nelwan, M.Kes, Sp.PA(K); dr. Juanita, Sp.PA(K); dr. Imeldy Prihatni Ma'mun, M.Kes, Sp.PA; dr. Jeni Poniman, Sp.PA; dr. Amalia, M.Kes, Sp.PA dan dr. Haslindah Dahlan, Sp.PA atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan maupun dalam penyusunan tesis ini.

7. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomik Universitas Hasanuddin Makassar.
8. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
9. Teman PPDS Angkatan Juli 2021 serta seluruh teman sejawat residen Patologi Anatomik atas semua bantuan, dukungan, doa yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini.
10. Seluruh teknisi dan pegawai laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
11. Suami penulis, dr. Ahmad Perdana Asy’arie B, Sp.OT; anak penulis, Fatih Athariz Ramadhan Ahmad dan Faustina Brisa Azkadyna Ahmad; orang tua penulis ayahanda Kompol (Purn) Abd. Rasyid, S.H dan ibunda Suryani, A.Md.Keb beserta seluruh keluarga dan sahabat yang senantiasa mendukung, mendoakan dan menjadi sumber inspirasi serta menjadi semangat utama bagi penulis selama menjalani pendidikan.
12. Semua pihak yang telah membantu penulis yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar karya akhir ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomik di masa yang akan datang. Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, Desember 2024

Nur Rahmah Rasyid

ABSTRAK

NUR RAHMAH RASYID. *Hubungan Ekspresi Programmed Death-1 (PD-1) pada Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dan Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) pada Tumor dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal* (dibimbing oleh Upik Anderiani Miskad dan Muhammad Husni Cangara).

Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan ekspresi Programmed Death-1 (PD-1) pada Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dengan Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) pada tumor dengan grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal. Metode penelitian *cross sectional* digunakan pada 130 sampel blok parafin jaringan adenokarsinoma kolorektal. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi PD-1 dan PD-L1 rabbit policional antibody dan analisis ekspresi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-43. Data dianalisis secara statistik dengan uji korelasi Chi-Square serta disajikan dalam tabel menggunakan software SPSS 27. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan signifikan antara ekspresi PD-1 TILs dengan lokasi tumor ($p= 0,025$). Terdapat hubungan positif yang signifikan antara ekspresi PD-1 TILs dengan grading TILs ($p= 0,008$). Terdapat hubungan terbalik yang signifikan antara ekspresi PD-L1 tumor dengan grading TILs ($p<0,001$). Terdapat hubungan positif yang signifikan antara ekspresi PD-1 TILs dengan PD- L1 TILs ($p= 0,030$). Terdapat hubungan positif yang signifikan antara ekspresi PD-1 tumor dan PD-L1 tumor ($p<0,001$). Dapat disimpulkan bahwa studi prospektif dengan sampel lebih besar diperlukan untuk memvalidasi temuan ini. PD-1 dan PD-L1 dapat menjadi biomarker prognostik dan prediktif imunoterapi. Pendekatan terapi yang personal berdasarkan lokasi tumor disarankan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan pada adenokarsinoma kolorektal.

Kata kunci: adenokarsinoma kolorektal, Programmed Death-1, PD-1, Infiltrating Lymphocytes (TILs), Programmed Death-Ligand 1, PD-L1

11/12 2024

ABSTRACT

NUR RAHMAH RASYID. *Relationship Between Programmed Death-1 (PD-1) Expression in Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILS), Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) in Tumors and the Grading of Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILS) in Colorectal Adenocarcinoma* (supervised by Upik Anderiani Miskad and Muhammad Husni Cangara)

This study aims to analyze the relationship between Programmed Death-1 (PD-1) expression in Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILS), Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) in tumors and Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILS) in Colorectal Adenocarcinoma. This research used sectional study of 130 paraffin block samples of colorectal adenocarcinoma tissue. Immunohistochemical staining was performed using PD-1 and PD-L1 Rabbit polyclonal antibodies, and expression analysis was performed using an Olympus CX-43 light microscope. Data were statistically analyzed using chi-square correlation test and presented in tables using SPSS 27 software. In conclusion, there is a significant association between PD-1 expression of TILS and tumor location ($p=0.025$). There is a significant positive association between PD-1 TILS expression and TILS grading ($p=0.008$). There is a significant inverse relationship between tumor PD-L1 expression and TILS grading ($p<0.001$). There is a significant positive association between PD-1 TILS expression and PD-L1 TILS expression ($p=0.030$). There is a significant positive association between tumor PD-1 and tumor PD-L1 expression ($p<0.001$). Prospective studies with larger samples are needed to validate these findings. PD-1 and PD-L1 may be prognostic and predictive biomarkers of immunotherapy. A personalized therapeutic approach based on tumor location is suggested to improve treatment effectiveness in colorectal adenocarcinoma.

Keywords: colorectal adenocarcinoma, programmed death-1, PD-1, infiltrating lymphocytes (TILS), programmed death-ligand 1, PD-L1

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGAJUAN ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR iv
KATA PENGANTAR v
ABSTRAK vii
ABTRACT viii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR SINGKATAN xi
DAFTAR GAMBAR xiv
DAFTAR TABEL xvi
BAB 1. PENDAHULUAN 1
1.1. LATAR BELAKANG MASALAH 1
1.2. RUMUSAN MASALAH 4
1.3. TUJUAN PENELITIAN 5
1.3.1. TUJUAN UMUM 5
1.3.2. TUJUAN KHUSUS 5
1.4. HIPOTESIS PENELITIAN 5
1.5. MANFAAT PENELITIAN 6
1.5.1. MANFAAT BIDANG AKADEMIK 6
1.5.2. MANFAAT BIDANG PROFESI 6
1.5.3. MANFAAT BIDANG KLINIS 6
1.5.4. MANFAAT DALAM MASYARAKAT 7

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA **8**
2.1. ANATOMI, HISTOLOGI DAN FISIOLOGI KOLOREKTAL 8
2.2. ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL 11
2.2.1. DEFINISI KANKER KOLOREKTAL 11
2.2.2. INSIDENSI KANKER KOLOREKTAL 11
2.2.3. JENIS KANKER KOLOREKTAL 11
2.2.4. FAKTOR RISIKO KANKER KOLOREKTAL 12
2.2.5. SISTEM GRADING KANKER KOLOREKTAL 13
2.2.6. KARSINOGENESIS KANKER KOLOREKTAL 13
2.3. IMMUNE CHECKPOINT SIGNALING 19
2.4 TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTE (TILS) 19

2.4.1 GRADING TILS....20
2.5 PROGRAMMED DEATH 1 (PD-1) 22
2.6 PROGRAMMED DEATH LIGAND 1 (PD-L1)....27
2.7 PENSINYALAN PD-1/PD-L1 29
2.8 PENANGANAN KANKER KOLOREKTAL 31
BAB 3. KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP....34
3.1. KERANGKA TEORI....34
3.2. KERANGKA KONSEP 35
BAB 4. METODOTOLOGI PENELITIAN 36
4.1. DESAIN PENELITIAN 36
4.2. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN 36
4.3. POPULASI, SAMPEL DAN METODE PENGAMBILAN SAMPEL PENELITIAN 36
4.3.1 POPULASI PENELITIAN 36
4.3.2 SAMPEL PENELITIAN....37
4.3.3 METODE PENGAMBILAN SAMPEL....38
4.3.3.1 KRITERIA INKLUSI....38
4.3.3.2 KRITERIA EKSKLUSI.... 39
4.3.3.3 KRITERIA DROP OUT 39
4.4. CARA KERJA....39
4.4.1. ALOKASI SUBJEK....39
4.4.2. PROSEDUR PEWARNAAN *HEMATOXYLIN-EOSIN*....39
4.4.3. PROSEDUR PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA 40
4.5. DEFINISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBJEKTIF....41
4.6. PENGOLAHAN DAN ANALISA DATA....44
4.7. ALUR PENELITIAN....45
4.8. PERSONALIA PENELITIAN.... 45
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN 46
5.1. HASIL 46
5.2 PEMBAHASAN 64
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN 79
6.1. KESIMPULAN....79
6.2. SARAN 80
DAFTAR PUSTAKA....83
LAMPIRAN 94

DAFTAR SINGKATAN

• 5'UTR	5' Untranslated Region
• 5-FU	n 5-fluorouracil
• Akt	Ak Strain Transforming
• AP-1	Activator Protein-1
• APC	Adenomatous Polyposis Coli
• APC	Antigen Presenting Cell
• B7DC/PD-L2	B7 Dendritic Cell/Programmed Death-Ligand 2
• B7H1	B7 Homolog 1
• BAX	BCL2 Associated X, Apoptosis Regulator
• Bcl-xl	Limfoma sel B-xl
• Blimp-1	B Lymphocyte Induced Maturation Protein-1
• BRAF	B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
• CCCTC (CTCF)	CCCTC-Binding Factor
• CD274/279	Cluster of Differentiation 274/279
• CD4+/8+	Cluster of Differentiation 4//8 Positive
• CDHI	Cadherin 1
• CIMP	CpG Island Methylator Phenotype
• CIN	Chromosomal Instability
• CMTM6/4	CKLF-Like MARVEL Transmembrane Domain Containing Protein 6/4
• C-SH2	C-terminal SH2
• CSN5, JAMM	COP9 Signalosome Subunit 5, JAB1/MPN/ Mov34 Metalloenzyme
• CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte-Associated Antigen 4
• CTNNB1	β1-catenin
• Cul3	Cullin 3
• KLHL22	Kelch-Like Family Member 22
• Cyclin D-CDK4	Cyclin-dependent kinase 4/6
• DALY	Disability-Adjusted Life Year
• EBV	Epstein-Barr virus
• eIFs	Eucaryotic Initiation Factors
• ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase
• FoxO1	Forkhead Box O1
• GATA3	GATA Binding Protein 3
• GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
• GSK3β	Glycogen Synthase kinase-3β
• HIF1a	Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha
• HTLV-1	human T-lymphotropic virus type 1

- IFN — Interferon
- IgC — Constant Region Imunoglobulin (Ig-C)
- IGF2R — Insulin-like Growth Factor 2 Receptor
- IgV — Variable Region Imunoglobulin (Ig-V)
- IL — Interleukin
- ILCs — Innate Lymphoid Cells
- IRF9 — Interferon Regulatory Factor 9
- ISGF3 — Interferon-Stimulated Gene Factor 3
- ISRE — Interferon-Stimulated Response Element
- ITIM — Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif
- ITSM — Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif
- ITWG — International TILs Working Group
- JAK — Janus Kinase
- KRAS — Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
- LCMV — Lymphocytic Choriomeningitis Virus
- LOH — Loss of Heterozygosity
- MALT — Mucosa Associated Lymphoid Tissue
- MAPK — Mitogen-Activated Protein Kinase
- MDSC — Myeloid-derived suppressor cells
- MEK — Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase
- MGMT — O6-methylguanine-DNA methyltransferase
- MHC — Major Histocompatibility Complex
- miRNA — MikroRNA
- MLH1 — MutL Homolog 1
- MMR — Mismatch Repair
- mRNA — Messenger RNA
- MSH2 — MutS Homolog 2
- MSH6 — MutS Homolog 6
- MSI — Microsatellite Instability
- mTOR — Mammalian Target of Rapamycin
- MYC — Myelocytomatosis
- NFATc1 — Nuclear Factor of Activated T-cells, cytoplasmic 1
- NK — Natural Killer
- N-SH2 — SH2 N-terminal
- P65 — Subunit p65 of NF-κB (Nuclear Factor kappa-l light-chain)
- PD-1 — Programmed Death-1
- Pdcd1 — Programmed Cell Death 1 Gene
- PD-L1 — Programmed Death-Ligand 1
- PIK3CA — Phosphoinositide 3-Kinases
- pMMR/MSS — Proficient Mismatch Repair/Microsatellite Stable
- PMS2 — Post-Meiotic Segregation Increased 2
- PTEN — Phosphatase and Tensin Homolog
- PTP — Protein Tyrosine Phosphatase

- pY-ITSM — Phospho-Tyrosine Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif
- RAS — Rat Sarcoma Virus
- SCNAs — Somatic Copy Number Alterations
- SHP-2 — Src Homology 2 domain-containing Phosphatase-2
- SMAD4 — SMA (Small) and MAD (Mothers Against Decapentaplegic) Related family member 4
- SPOP — Speckle-type POZ Protein
- STAT — Signal Transducer and Activator of Transcription
- STUB1 — STIP1 Homology and U-Box Containing Protein 1
- T-bet — T-box Transcription Factor TBX21
- T-box — T-box Gene Family
- TCF4 — Transcription Factor 4
- TCR — T Cell Receptor
- TGF-□ — Transforming Growth Factor-beta
- TGFBR2 — Transforming Growth Factor Beta Receptor II
- TILS — Tumour Infiltrating Lymphocytes
- TLR — Toll-Like Receptor
- TNF-α — Tumor Necrosis Factor-alpha
- TP16 — Tumor Protein p16
- TP53 — Tumor Protein p53
- UTR 3’ — 3’ Untranslated Region
- VEGF — Vascular Endothelial Growth Factor
- Wnt — Wingless-Related Integration Site
- SCFA — (Short-Chain Fatty Acids)

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Anatomi Normal Kolorektal 8

Gambar 2. Histologi Normal Kolorektal 9

Gambar 3. Makroskopik dan Mikroskopik Kanker Kolorektal 11

Gambar 4. Perubahan Morfologi dan Molekuler pada *Adenoma-Carcinoma Sequences* 15

Gambar 5. Perubahan Morfologi dan Molekuler pada jalur *Mismatched Repair* 17

Gambar 6. Patogenesis jalur *CpG Island Methylation Phenotype* (CIMP) pada Kanker Kolorektal 18

Gambar 7. Penilaian TILs pada Kanker Kolorektal Menggunakan Metode ITWG (The International TILs Working Group) 21

Gambar 8. Kelompok Persentase Skor TILs 22

Gambar 9. Struktur Protein PD-1 22

Gambar 10. Model Skematik Regulasi Ekspresi PD-1 23

Gambar 11. Model Interaksi PD-1/SHP-2 24

Gambar 12. Skema Struktur Gen, mRNA dan Protein PD-L1 27

Gambar 13. Struktur Protein PD-L1 27

Gambar 14. Regulasi Ekspresi PD-L1 oleh Molekul Proinflamasi 28

Gambar 15. Regulasi Ekspresi PD-L1 dalam Sel Kanker 29

Gambar 16. PD-1/PD-L1 *Signaling* 30

Gambar 17. Jalur Sinyal PD-1/PD-L1 pada Sel T 30

Gambar 18. Konsep Imunoterapi pada Kanker 32

Gamnar 19. Kerangka Teori 34

Gambar 20. Kerangka Konsep 35

Gambar 21. Penilaian TILs berdasarkan ITWG 42

Gambar 22. Alur penelitian dan penarikan kesimpulan 45

Gambar 23. TILs low grade.....46
Gambar 24. TILs intermediate grade 47
Gambar 25. TILs high grade 47
Gambar 26. Skor 0 dan Skor 1 intensitas ekspresi PD-1 TILs.....48
Gambar 27. Skor 2 intensitas ekspresi PD-1 TILs.....48
Gambar 28. Skor 3 intensitas ekspresi PD-1 TILs.....49
Gambar 29. Skor 0 dan Skor 1 intensitas ekspresi PD-L1 Tumor 49
Gambar 30. Skor 2 intensitas ekspresi PD-L1 Tumor 50
Gambar 31. Skor 3 intensitas ekspresi PD-L1 Tumor 50

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Umum Sampel 51

Tabel 2. Hubungan Ekspresi Skor Imunostaining Total PD-1 Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 53

Tabel 3. Hubungan Ekspresi Skor Intensitas PD-1 Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 53

Tabel 4. Hubungan Ekspresi Skor Proporsi PD-1 Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 54

Tabel 5. Hubungan Ekspresi Skor Imunostaining Total PD-L1 Tumor dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 56

Tabel 6. Hubungan Ekspresi Skor Intensitas PD-L1 Tumor dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 57

Tabel 7. Hubungan Ekspresi Skor Proporsi PD-L1 Tumor dengan Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 58

Tabel 8. Hubungan Ekspresi Skor Imunostaining Total PD-1 Tumor dengan Skor Imunostaining Total PD-L1 Tumor 59

Tabel 9. Hubungan Ekspresi Skor Imunostaining Total PD-1 Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dengan Skor Imunostaining Total PD-L1 Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) 60

Tabel 10. Hubungan Ekspresi PD-1 Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs), PD-L1 Tumor dan Grading TILs dengan Aspek Klinikopatologi 62

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kanker kolorektal merupakan kanker yang berada pada usus besar (kolon). Kanker kolorektal umumnya berasal dari mukosa normal yang berubah menjadi adenoma dan selanjutnya secara progresif menjadi karsinoma. Kanker kolorektal mengalami peningkatan kasus secara drastis hingga menjadi salah satu jenis penyakit kanker dengan angka kejadian tertinggi di dunia setelah kanker payudara dan kanker paru-paru. (Putranto, 2022; Nagtegaal, 2019).

Data GLOBOCAN 2020 dari WHO menunjukkan bahwa kanker kolorektal (*Colorectal Cancer*/CRC) merupakan jenis kanker dengan angka kejadian tertinggi ketiga di dunia. (Sung *et al.,* 2020). CRC di dunia juga menempati urutan ketiga untuk jenis kanker dengan angka kejadian tertinggi pada seluruh populasi (laki-laki dan perempuan) bersama dengan kanker paru, sementara urutan kedua ditempati setelah kanker payudara (Nagtegaal et al., 2019).

Angka kejadian kolorektal di Indonesia sebanyak 8,6% dengan 34.189 kasus baru, kedua terbanyak pada laki-laki 12,1% setelah kanker paru-paru dan kedua terbanyak pada perempuan 5,9% setelah kanker payudara (Globocan*.,* 2020). Di Makassar, berdasarkan data dari Rumah Sakit Pendidikan Dr.Wahidin Sudirohusodo (RSWS) tercatat lebih dari 150 kasus kanker kolorektal tipe adenokarsinoma selama rentang Januari 2021 hingga tahun 2023. (Data rekam medik RSWS)

The Lancet Gastroenterology and Hepatology mempublikasikan sebuah studi yang dilakukan oleh GBD 2017 *Colorectal Cancer Collaborators*. Studi ini tidak hanya menganalisis insiden dan mortalitas, melainkan juga beban keseluruhan dari penyakit ini terhadap individu dan populasi menggunakan parameter *disability- adjusted life year* (DALY). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kanker kolorektal memberikan beban yang besar, baik bagi pasien maupun populasi masyarakat. Terkait hal tersebut, kanker kolorektal perlu mendapatkan perhatian khusus dari berbagai pihak agar tersedia intervensi yang *cost-effective* serta sarana edukasi untuk membangun kesadaran dalam mengendalikan faktor risiko kanker kolorektal, terutama yang dapat dimofidikasi (GBD, 2017).

Penelitian Xi & Xu (2021) tentang data epidemiologi kanker kolorektal pada tahun 2020 serta proyeksi untuk tahun 2040 menyatakan bahwa jika tren peningkatan kasus CRC terus berlangsung, maka jumlah penderita CRC pada tahun 2040 diperkirakan akan mengalami pertambahan sebesar 50-65%. Dalam publikasi tersebut juga disampaikan bahwa angka kejadian CRC dilaporkan lebih tinggi di negara-negara maju. Meskipun demikian, saat ini peningkatan angka kejadian CRC lebih terlihat di negara-negara *low-and middle-income*, yang diduga dipengaruhi oleh tingginya paparan terhadap faktor-faktor risiko dari CRC di negara-negara tersebut (Xi & Xu, 2021).

Onset CRC yang semula didominasi oleh individu usia lanjut, saat ini juga mulai banyak ditemukan pada usia yang lebih muda. Selain itu, temuan dari berbagai studi epidemiologi menunjukkan adanya pergeseran distribusi anatomi kanker kolorektal secara gradual, dari sisi kiri distal usus besar ke arah ujung proksimal sisi kanan, yang sebelumnya lebih terkait dengan modalitas *screening* di sisi kiri yang lebih efektif (Lotfollahzadeh *et al.,* 2022).

Berbagai analisis data mengenai epidemiologi CRC menunjukkan bahwa penyakit ini memiliki komponen perilaku (*behavioural component*) yang besar, dan dengan demikian salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mereduksi beban keseluruhan dari CRC adalah dengan menekankan strategi preventif.

Menurut jenis histopatologinya, kanker kolorektal memiliki berbagai macam jenis. Dari berbagai penelitian yang dilakukan mengenai kanker kolorektal, jenis yang paling banyak ditemukan adalah adenokarsinoma, yaitu lebih dari 90% kasus. (Nagtegaal., 2020)

Limfosit yang ditemukan pada area tumor dikenal dengan sebutan *tumor- infiltrating lymphocytes* (TILs). (Jakubowska *et al*, 2017 ; Yao *et al*., 2017). TILs dianggap sebagai gambaran respon imun primer *host* melawan tumor, dimana TILs merupakan salah satu bagian penting dari lingkungan mikro tumor yang berperan dalam menekan pertumbuhan tumor. (Gooden *et al*, 2016; Mei *et al*., 2014; Bupathi & Wu, 2016).

Salah satu subpopulasi dari TILs yang memegang peran penting dalam imunitas terhadap tumor adalah sel T sitotoksik CD8+ yang merupakan bentuk respon imun adaptif, yang dapat melakukan fungsi *surveilans* dengan mengenali dan membunuh secara langsung sel-sel target, dalam hal ini sel-sel tumor yang mengekspresikan peptida yang berasal dari antigen tumor dan dipresentasikan pada molekul *major histocompatibility complex* (MHC) kelas I. (Abbas, Lichtman,

& Pillai, 2017; Yao *et al*., 2017)

Penilaian TILs pada stroma tidak akan dipengaruhi oleh densitas dan pola pertumbuhan tumor, oleh karena TILs dinilai pada area di antara sarang tumor. (Salgado *et al*., 2015). Sehingga grading TILs dapat memberikan *insight* mengenai kondisi imunologis tumor dan potensi respons terapi.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa infiltrasi limfosit memiliki kaitan dengan *survival* yang lebih baik pada beberapa tipe kanker. Pada tahap awal karsinogenesis, sel-sel imun yang menginfiltrasi tumor terutama sel T CD8+ dan sel *natural killer* (NK) berpotensi membatasi pertumbuhan tumor atau mencegah metastasis sel tumor. Namun, tumor juga dapat mengembangkan beberapa mekanisme untuk menghindari respon imun tubuh. (Parcesepe *et al*, 2016 ; Smith & Kang, 2014)

Programmed death-1 (PD-1; CD279) adalah salah satu bagian dari sel T regulator yang terekspresi pada permukaan sel T, sel B dan NK aktif. (Krzysztof M. Zak *et al*,2017). PD-1 dapat mengalami *upregulasi* selektif akibat paparan yang persisten terhadap antigen, sehingga ekspresi PD-1 pada sel T merupakan salah satu penanda akan sel T yang *exhausted* (kelelahan). (Dong, Sun, & Zhang, 2017) Ligannya, *programmed death -ligand* 1 (PD-L1; B7-H1 dan CD274) terekspresi pada sel tumor, sel T dan sel B, makrofag, dan sejumlah tipe sel tertentu. Ikatan antara PD-L1 dengan PD-1 akan menghantarkan sinyal inhibitor yang akan mengurangi produksi sitokin dan proliferasi sel T dan pada akhirnya akan menyebabkan peningkatan apoptosis sel T. Ekspresi PD-L1 pada tumor telah digambarkan sebagai marker prediktif untuk respon tumor terhadap imunoterapi anti-PD-1 atau anti-PD-L1 dalam beberapa tipe keganasan. (L. Wang *et al*., 2016)

Interaksi antara PD-1 pada sel T dan PD-L1 pada sel kanker telah menjadi fokus penelitian kanker mutakhir, terutama dalam konteks terapi imun. Ekspresi protein ini berkaitan dengan mekanisme kanker dalam menghindari serangan imun. (Yang, L *et al*, 2023)

Sebuah studi yang diterbitkan dalam "Clinical & Experimental Metastasis" menemukan perbedaan signifikan dalam ekspresi PD-1 dan PD-L1 antara tumor primer dan metastasis jauh yang sesuai. Dalam studi tersebut menunjukkan bahwa PD-1 dan PD-L1 dapat diekspresikan secara tidak sinkron, sehubungan dengan kompleksitas peran molekul tersebut dalam imunologi kanker dan pentingnya mempertimbangkan biomarker ini dalam konteks perkembangan dan

tingkat agresivitas tumor. (Yang,.L *et al*,2023 ; Manson *et al*, 2018)

Penelitian yang dilakukan oleh Shixue Chen *et al*., 2021, menyatakan bahwa obat-obatan anti PD-1 atau PD-L1 dalam efikasinya dapat bervariasi secara signifikan, meskipun tujuan targetnya sama.(Chen S *et al*, 2021). Ini menekankan pentingnya pemilihan obat yang cermat dalam praktik klinis berdasarkan karakteristik individu dari setiap obat dan respons yang diharapkan. (Chen S *et al*, 2021)

Prevalensi kanker kolorektal dengan perubahan genetik dan korelasinya dengan lingkungan mikro kekebalan tumor yang masih membutuhkan informasi lebih banyak dan tantangan terkait pengobatannya, membutuhkan pemahaman mendalam tentang mekanisme imunologis yang penting dalam mengoptimalkan strategi terapeutik, maka penulis ingin melakukan penelitian dengan judul **"Hubungan Ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) pada *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) dan *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1) pada Tumor dengan *Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal"**

Penelitian ini mengintegrasikan studi tentang ekspresi PD-1 pada TILs dan PD-L1 pada tumor dengan analisis TILs dalam konteks adenokarsinoma. Sehingga berpotensi menambah pemahaman yang lebih mendalam tentang bagaimana kanker kolorektal berinteraksi dan memanipulasi sistem imun yang krusial serta memberikan dasar bagi pengembangan strategi terapi kanker kolorektal yang lebih efisien dan terpersonalisasi. Selain itu, penelitian yang mengintegrasikankan keterkaitan PD-1 TILs dan PD-L1 sel tumor dengan derajat TILs pada adenokarsinoma kolorektal belum pernah dilakukan menggunakan sampel di Makassar.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimanakah hubungan antara ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) pada *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) dengan grading *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal?
2. Bagaimanakah hubungan antara *Programmed Death- Ligand 1* (PD- L1) pada tumor dengan grading *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis Hubungan Ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) pada *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) dan *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1) pada tumor dengan Grading *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menentukan grading *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal.
2. Menentukan ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal.
3. Menentukan ekspresi *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1) Tumor pada adenokarsinoma kolorektal.
4. Mengetahui Hubungan Ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) pada *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) dengan Ekspresi *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1) Tumor dengan Grading *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekspresi *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1) pada sel tumor adenokarsinoma kolorektal berbanding terbalik dengan *Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs).
2. Ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) pada *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) berbanding lurus dengan *Grading Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs).
3. Ekspresi PD-1 TILs, PD-L1 sel tumor dengan Grading TILs dapat menjadi biomarker prediktif dan prognostik pada Adenokarsinoma Kolorektal.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Bidang Akademik

1. Memberikan informasi ilmiah serta menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang Hubungan Ekspresi *Programmed Death-1* (PD-1) pada *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) dan *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1) pada Tumor dengan Grading *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal yang dapat dimanfaatkan dan diintegrasikan ke dalam kurikulum atau materi ajar di program pendidikan kedokteran tentang pentingnya biomarker imunologis dalam diagnosa dan pengobatan kanker.
2. Temuan dari penelitian ini dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan, baik untuk mendalami mekanisme molekuler maupun untuk pengembangan terapi baru.

1.5.2. Manfaat Bidang Profesi

1. Penelitian ini dapat membantu dalam pengembangan pendekatan terapi yang lebih personalisasi bagi pasien dengan adenokarsinoma kolorektal, dengan mempertimbangkan grading TILs serta ekspresi PD-1 TILs dan PD- L1 Tumor.
2. Penelitian ini akan memperkaya literatur ilmiah dan membantu dalam pengembangan teknik dan protokol laboratorium yang lebih efisien dalam menguji ekspresi PD-1/PD-L1 dan grading TILs. Sehingga dapat meningkatkan kapasitas sejawat untuk memberikan interpretasi yang lebih tepat dari hasil pemeriksaan.
3. Penelitian ini dapat mendorong kolaborasi antara para profesional dari berbagai spesialisasi, seperti patologi, onkologi, dan imunologi, utamanya bagi peneliti lain yang bekerja di bidang serupa.

1.5.3. Manfaat Bidang Klinis

1. Memahami hubungan antara ekspresi PD-1/PD-L1 dan TILs dapat membantu dokter dalam memilih terapi yang paling efektif, seperti imunoterapi, untuk pasien dengan adenokarsinoma kolorektal, sehingga meningkatkan efikasi pengobatan sesuai dengan kebutuhan pasien dan mengurangi efek samping.

2. Pengetahuan tentang hubungan antara PD-1/PD-L1 dan TILs dapat membantu dalam menilai prognosis pasien dan memudahkan dalam merencanakan strategi pengobatan jangka panjang.
3. Penelitian ini dapat menjadi masukan yang berarti kepada pihak institusi kesehatan dan rumah sakit sebagai upaya bersama dalam menangani pasien kanker kolorektal di rumah sakit.

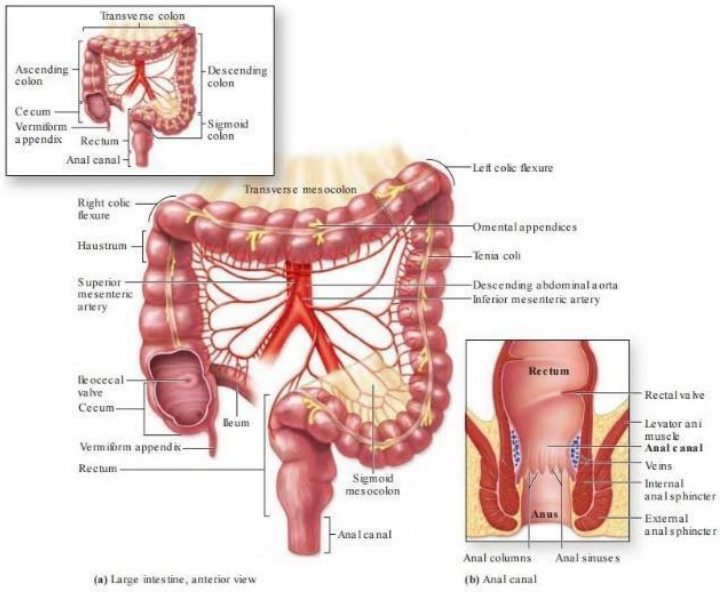
1.5.4. Manfaat dalam Masyarakat

1. Publikasi hasil penelitian ini dapat meningkatkan kesadaran masyarakat tentang pentingnya memahami perjalanan penyakit, pemeriksaan biomarker dan terapi yang ditargetkan untuk kanker kolorektal.
2. Melalui temuan dalam penelitian ini, masyarakat mungkin memiliki akses ke pilihan pengobatan yang lebih efektif dan spesifik dan terhindar dari penggunaan terapi yang tidak efektif.
3. Penggunaan biomarker untuk memandu terapi yang dipersonalisasi menjadikan tingkat kelangsungan hidup dan kualitas hidup pasien kanker kolorektal diharapkan akan meningkat serta mengurangi biaya perawatan jangka panjang.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Anatomi, Histologi dan Fisiologi Kolorektal

Kolon dan rektum membentuk usus besar. Kolon membentuk sebagian besar usus besar dengan panjang sekitar 5 kaki atau 1,5 meter. Bagian pertama kolon disebut kolon asenden yang dimulai dari sekum dan merupakan kantong berisi makanan yang tidak tercerna berasal dari usus kecil. Kemudian berlanjut ke atas di sisi kanan perut. Bagian kedua disebut kolon transversum yang melewati tubuh dari sisi kanan ke sisi kiri. Bagian ketiga disebut kolon desenden yang turun di sisi kiri. Selanjutnya, bagian keempat disebut kolon sigmoid karena bentuknya "S", yang kemudian bergabung dengan rektum dan berakhir di anus. Kolon asenden dan kolon transversum disebut kolon proksimal, sedangkan kolon desenden dan sigmoid disebut kolon distal. (American Cancer Society, 2020)

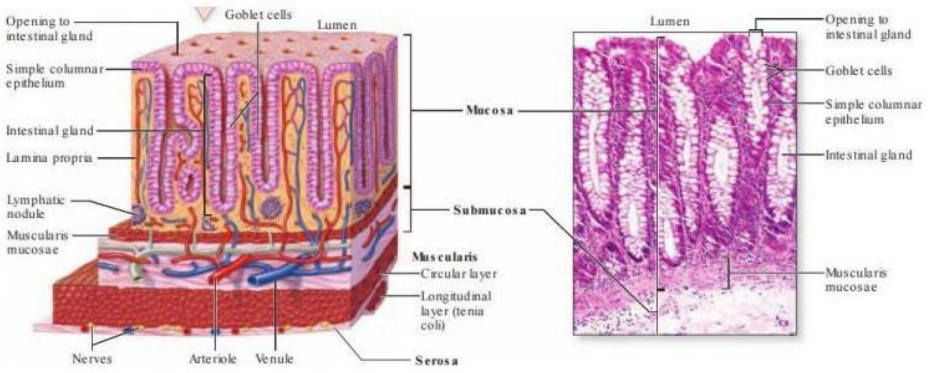


Gambar 1. Anatomi kolorektal (Mescher, 2016)

Kolon (usus besar) berfungsi menyerap air dan elektrolit dari sisa bahan makanan setelah melewati usus halus (intestinal). Otot berbentuk cincin (sfingter) di sekitar anus mencegah feses keluar dan akan mengalami relaksasi saat buang air besar. (American Cancer Society, 2020)

Secara histologi, kolon dibagi menjadi 4 lapisan yaitu mukosa,

submukosa, muskularis eksterna (muskularis propria) dan serosa (atau, dalam rektum, jaringan perimuskular). Mukosa terdiri dari selapis sel epitel kolumnar yang melapisi kripte, di bawahnya terdapat lamina propria dan lapisan tipis otot polos yang disebut muskularis mukosa. Kripte mukosa ini berorientasi sejajar satu sama lain dan tegak lurus dengan muskularis mukosa. (Arnold *et al*., 2015; Goldblum *et al*., 2018)



Gambar 2. Histologi normal kolorektal (Mescher, 2016)

Dinding kolon mengerut menjadi serangkaian kantong besar yang disebut haustra. Mukosa usus besar ditembus oleh kelenjar interstisial tubular. Kelenjar dan lumen usus dilapisi sel-sel absorptif dan sel-sel goblet. Sel-sel absorptif kolumnar atau kolonosit memiliki mikrovili tidak teratur dan celah interseluler lebar yang menandakan penyerapan cairan aktif. Sel goblet yang menghasilkan mukus pelumas menjadi semakin banyak sepanjang kolon dan rektum. Pada epitel kripte bagian dalam juga mengandung sel-sel Paneth dan sel-sel endokrin. Sel-sel Paneth biasanya terbatas pada sekum dan kolon asendens. Keberadaan sel Paneth di distal kolon transversal menandakan metaplasia, biasanya karena cedera kronis. Sel punca epitel terletak di sepertiga bawah tiap kelenjar. (Arnold *et al*., 2015; Mescher *et al*., 2016).

Lamina propria kaya akan sel limfoid dan limfonodus yang sering meluas sampai ke dalam submukosa. Banyaknya *mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT) sehubungan dengan banyaknya populasi bakteri usus besar. Apendiks mempunyai sedikit atau tidak mempunyai fungsi absorptif, tetapi merupakan komponen penting MALT. Lamina propria juga mengandung sel plasma, histiosit dan sel mast yang tersebar dalam suatu jalinan dari serat kolagen, bundel otot

polos, pembuluh darah dan saraf.

Sel ganglion intramukosal juga dapat dilihat, baik sendiri-sendiri atau dalam kelompok tetapi tidak mempunyai efek patologis yang signifikan. Pembuluh darah di lamina propria terdiri dari kapiler (didistribusikan secara teratur) dan pembuluh limfe (terbatas pada daerah tepat di atas muskularis mukosa). (Goldblum *et al*., 2018; Mescher, 2016).

Submukosa terdiri dari jaringan ikat yang longgar dengan konstituen sel mirip dengan lamina propria. Pada submukosa juga berisi pleksus saraf submukosa dari Meissner. (Goldblum *et al*., 2018) Muskularis kolon mempunyai lapisan sirkular dan longitudinal dengan pleksus saraf myenterika Auerbach terletak di antaranya. Tetapi berbeda dengan usus halus, dimana serat-serat lapisan luar dari kolon tergabung dalam tiga pita memanjang yang disebut taenia coli. Kolon bagian intraperitoneal ditutupi serosa, yang ditandai dengan tonjolan kecil menggantung jaringan lemak. Serosa terdiri dari satu lapis sel mesotelial gepeng sampai kuboid dan jaringan fibroelastic. (Goldblum *et al*., 2018; Mescher, 2016)

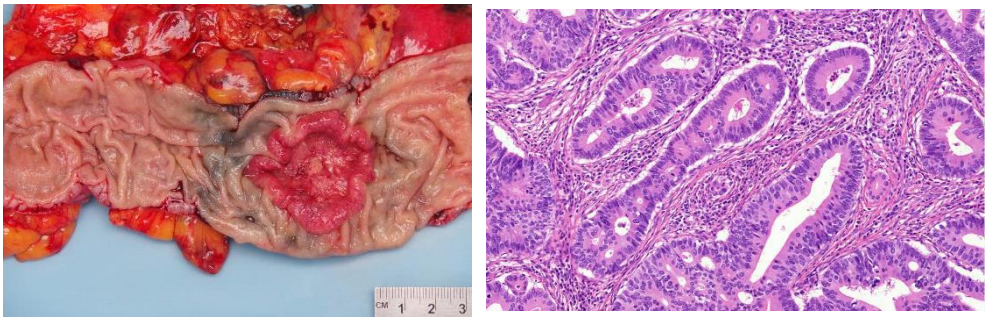
Ujung distal dari saluran cerna adalah kanal anus, sepanjang 3-4 cm. Pada batas anorektal, pelapis mukosa rektum yang adalah epitel selapis silindris, digantikan oleh epitel berlapis gepeng. Mukosa dan submukosa kanal anus membentuk sejumlah lipatan memanjang, yaitu kolumna rektal. Dekat anus lapisan sirkular muskularis rektum membentuk sfingter ani interna. Defekasi melibatkan kerja volunter otot dari sfingter ani eksterna. (Mescher, 2016)

Kolon disuplai oleh cabang arteri mesenterika superior (dari sekum ke fleksura splenikus) dan arteri mesenterika inferior (distal dari fleksura splenikus). Bagian bawah dari rektum diirigasi oleh arteri rektal media dan inferior, yang merupakan cabang dari arteri iliaka interna. Drainase limfatik kolon terutama melalui mesenterium ke dalam kelompok kelenjar getah bening parakolik yang terletak di sepanjang arkade marginal vaskular. Stasiun berikutnya adalah kelompok nodal intermediate (lebih proksimal, pada tingkat cabang arteri utama), kelenjar getah bening sentral atau utama (berdekatan dengan arteri mesenterika superior dan inferior) dan seluruh rantai para-aorta. Drainase limfatik dari rektum adalah menuju nodus arteri mesenterika inferior, rantai hemoroidal superior, hipogastrik dan nodus iliaka utama (Goldblum *et al*., 2018).

2.2. Adenokarsinoma Kolorektal

2.2.1 Definisi Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal didefinisikan sebagai tumor ganas epithelial yang timbul pertama kali di kolon atau rektum yang merupakan bagian akhir dari traktus gastrointestinal. Keganasan yang berasal dari epitel kolorektal disebut dengan karsinoma kolorektal. (American Cancer Society, 2020)



Gambar 3. Makroskopik dan Mikroskopik Kanker Kolorektal (IARC, 2022)

2.2.2 Insidensi Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal merupakan kanker paling terbanyak ketiga pada pria dan yang kedua pada wanita. Data GLOBOCAN 2020 dari WHO menunjukkan bahwa kanker kolorektal (*Kanker Kolorektal*/CRC) adalah jenis kanker dengan angka kejadian tertinggi ketiga di dunia. Kanker kolorektal juga menempati urutan kedua untuk jenis kanker dengan angka kematian tertinggi di dunia, yaitu sebesar 9% (World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC), 2020).

Angka kejadian kolorektal di Indonesia menduduki peringkat keempat sebesar 8,6% dengan 34.189 kasus baru, kedua terbanyak pada laki-laki 12,1% setelah kanker paru-paru dan keempat terbanyak pada perempuan 5,9% setelah kanker payudara, serviks dan ovarium (Saputra *et al*., 2022).

2.2.3 Jenis Kanker Kolorektal

Karsinoma kolorektal merupakan adenokarsinoma yang berasal dari sel-sel epithelial dari mukosa kolorektal, dimana formasi glandular menjadi dasar dalam *Grading* histopatologi pada adenokarsinoma kolorektal. Sekitar 90% dari semua karsinoma kolorektal adalah adenokarsinoma dibanding dengan karsinoma kolorektal jenis lainnya seperti karsinoma neuroendokrin. Terdapat sembilan jenis subtipe adenokarsinoma kolorektal, yaitu : Adenokarsinoma

musinous, signet ring, medullary, serrated, micropapillary, adenocarcinoma adenoma-like, adenosquamosa, Karsinoma dengan komponen sarcomatoid dan karsinoma yang tidak berdiferensiasi (Nagtegaal *et al.,*2019)

2.2.4 Faktor Resiko Kanker Kolorektal

Secara umum perkembangan kanker kolorektal merupakan interaksi antara faktor lingkungan dan faktor genetik atau berkembang dari faktor lingkungan yang bersifat multipel yang beraksi terhadap predisposisi genetik. Berbagai penelitian telah menyebutkan bahwa terdapat banyak faktor risiko yang berhubungan dengan meningkatnya risiko kanker kolorektal yang dapat dibedakan menjadi faktor risiko yang dapat dimodifikasi dan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi.

Usia, ras, dan faktor genetik merupakan beberapa faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi, sedangkan faktor lingkungan (*environmental*) dan gaya hidup (*lifestyle*) merupakan beberapa faktor risiko yang dapat dimodifikasi (Putranto, 2022). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pria memiliki risiko yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan wanita untuk mengalami CRC. Pria dilaporkan lebih rentan terhadap pengaruh faktor lingkungan dan lebih banyak terpapar dengan gaya hidup yang berpotensi meningkatkan peluang CRC. Selain itu, diduga terdapat pengaruh dari perbedaan *sex hormone* antara pria dan wanita, berupa adanya faktor protektif dari estrogen yang menyebabkan risiko CRC pada wanita relatif lebih rendah dibandingkan dengan pria. Sejauh ini belum ditemukan perbedaan frekuensi mutasi somatik dari CRC *driver genes* (TP53, KRAS, BRAF, dan APC) maupun *microsatellite instability* (MSI) antara berbagai etnis yang berbeda, namun laporan menunjukkan bahwa angka kejadian CRC ditemukan lebih tinggi pada ras *African Americans*. Disparitas rasial ini mungkin dipengaruhi juga oleh perbedaan tingkat paparan terhadap faktor risiko serta perbedaan sistem pelayanan kesehatan yang mencakup *screening* dan terapi (Xi & Xu, 2021; Keum & Giovannucci, 2019).

Tingginya proporsi kasus CRC yang tidak berkaitan dengan mutasi genetik bawaan (*nonhereditary*) mengindikasikan kuatnya pengaruh faktor risiko lingkungan dan gaya hidup pada perkembangan penyakit kanker kolorektal. Sebuah *review* yang disusun oleh Ducko & Malecka-Panas (2014) menjabarkan berbagai faktor risiko terkait dengan gaya hidup yang dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker kolorektal, antara lain: pola makan yang buruk (tinggi konsumsi

daging merah dan/atau olahan, gula rafinasi/*refined sugars,* rendah serat, nutrisi tidak seimbang), kebiasaan merokok dan alkoholisme, kelebihan berat badan atau obesitas, pola hidup minim gerak (*sedentary*), serta gangguan dan kebiasaan kurang tidur secara kronis (Keum & Giovannucci, 2019; Durko *et al.,* 2014).

Kelompok etnis Asia perlu lebih memerhatikan faktor risiko yang berkaitan dengan gaya hidup, mengingat terdapat beberapa faktor yang berpotensi meningkatkan insiden CRC dalam kelompok ini, yaitu tren pergeseran gaya hidup yang bersifat kebarat-baratan (*westernization*), serta tingginya prevalensi obesitas *visceral* pada populasi Asia. Obesitas *visceral* menggambarkan adanya *excess adiposity*, yang merupakan suatu faktor risiko *established* untuk terjadinya CRC (Kuipers *et al.,* 2015). Selain gaya hidup, faktor lingkungan seperti paparan toksin, atau substansi yang bersifat karsinogen di lingkungan sekitar, serta polusi juga dapat meningkatkan risiko terjadinya CRC. Studi yang dilakukan di beberapa negara seperti Spanyol, Polandia, Thailand, dan Taiwan menunjukkan adanya korelasi antara tingkat polusi udara dengan kejadian kanker kolorektal (Ma *et al.,* 2020).

2.2.5 Sistem *Grading* Adenokarsinoma Kolorektal

Sistem *grading* berdasarkan *World Health Organization* (WHO) mengklasifikasikan adenokarsinoma kolorektal menjadi 2 derajat (*grade*), yaitu : *Low grade* jika bentukan kelenjar ≥50% dan dan *High grade* jika bentukan kelenjar <50% (Nagtegaal *et al.,*2019)

2.2.6 Karsinogenesis Kanker Kolorektal

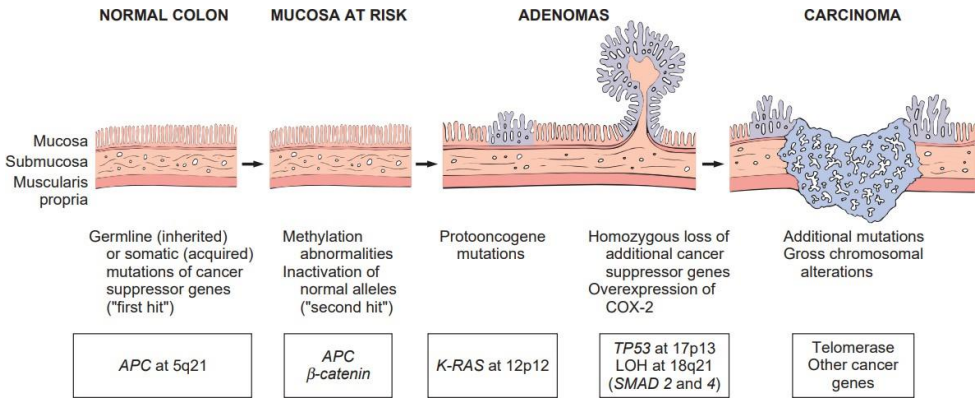
Perubahan molekuler pada karsinogenesis karsinoma kolorektal adalah heterogen. Perubahan dapat terjadi pada gen atau pada epigenetik. Karsinogenesis yang multistep merupakan konsep penting pada biologi kanker. Setiap stadium atau tahapan perubahan baru yang terjadi, dipicu oleh alterasi genetik tambahan, yang selanjutnya menyebabkan terjadinya ekspansi klonal dari sel kanker. Karsinogenesis kanker kolorektal merupakan proses multi-step, melibatkan berbagai abnormalitas genetik. Sebagian besar adenokarsinoma kolorektal berkembang melalui jalur konvensional melalui urutan patogenesis adenoma- karsinoma klasik dan sisanya berkembang melalui jalur hipermutan atau jalur ultramutan. Akumulasi perubahan genetik merupakan peristiwa penting

dalam perkembangan dari adenoma menjadi karsinoma. Untuk mengakumulasi berbagai perubahan genetik yang khas pada kebanyakan karsinoma kolorektal, sel tumor harus mengalami mutasi dan perubahan epigenetik pada tingkat yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel epitel kripta normal. Peningkatan akuisisi dan toleransi mutasi adalah ciri khas perkembangan karsinoma kolorektal disebut sebagai ketidakstabilan genom. (Nagtegaal *et al.,*2019)

Keum & Giovannucci (2019) menjelaskan bahwa sekitar 65% dari seluruh kasus CRC terjadi secara sporadis, yaitu melalui perubahan genomik somatik yang didapatkan (*acquired*) tanpa adanya riwayat CRC dalam keluarga maupun mutasi genetik bawaan yang meningkatkan peluang terjadinya CRC. Sedangkan sisanya, yaitu sekitar 35-40% kasus berhubungan dengan *susceptibility* yang bersifat bawaan (*inherited*). Walaupun demikian, kasus CRC yang berhubungan dengan kelainan genetik bawaan pun tidak dapat dikatakan sepenuhnya bersifat bawaan (*hereditary*), melainkan tetap ada faktor eksternal yang memengaruhi proses *carcinogenesis* (Keum & Giovannucci, 2019).

Ada dua bentuk umum ketidakstabilan genom yang penting untuk perkembangan neoplasia kolorektal, yaitu ketidakstabilan kromosom (*Chromosomal Instability* / CIN) dan ketidakstabilan mikrosatelit (*Microsatellite Instability* / MSI). Jalur penggerak ketiga dalam perkembangan karsinoma kolorektal adalah akumulasi gen silencing epigenetik (CpG Island Methylator Phenotype / CIMP). (Kumar *et al*., 2018; Nagtegaal *et al*., 2019 ; Odze & Goldblum, 2015)

1). Ketidakstabilan kromosom (*Chromosomal Instability* / CIN) ditandai dengan peningkatan dan kehilangan kromosom yang terus menerus, yang menyebabkan perubahan jumlah DNA somatik yang tinggi (*somatic copy number alterations* / SCNAs), dengan penguatan atau amplifikasi dan kehilangan atau delesi DNA yang menghasilkan kelompok gen yang lebih kecil. CIN terjadi pada 70% hingga 80% karsinoma kolorektal dan merupakan jalur utama yang mendasari perkembangan adenoma-karsinoma konvensional.



Gambar 4. Perubahan morfologi dan molekuler pada adenoma-carcinoma sequence. (Kumar *et al*.,2021)

Perubahan genetik yang paling sering dan khas pada jalur adenoma-karsinoma kolorektal konvensional termasuk alterasi menjadi APC, KRAS, TP53, SMAD4 atau PIK3CA terjadi pada 84% jalur ketidakstabilan kromosomal ini. (Nagtegaal *et al*., 2020; Odze & Goldblum, 2015) Kebanyakan alterasi APC adalah mutasi inaktif yang ditemukan pada 80% adenoma dan karsinoma, yang muncul sangat awal dalam urutan patogenesis dan memulai pembentukan adenoma. Agar adenoma berkembang, kedua salinan gen penekan tumor APC harus dinonaktifkan secara fungsional, baik melalui mutasi atau peristiwa epigenetik. APC adalah kunci regulator negatif dari β-catenin, sebuah komponen dari jalur persinyalan Wnt. Protein APC secara normal mengikat dan mempromosi degradasi □-catenin. Mutasi ini biasanya menyebabkan pemotongan protein APC, dengan penurunan kemampuan untuk langsung mendegradasi β-catenin dengan demikian melepaskan β-catenin dari regulasi fosforilasi oleh glikogen sintase kinase-3β (GSK3β) yang mengakibatkan akumulasi β-catenin pada inti, mengaktifkan transkripsi sejumlah target hilir lain, seperti cyclin D dan Myc dan menyebabkan pensinyalan abnormal melalui jalur Wnt. (Nagtegaal *et al*., 2019; Odze & Goldblum *et al.*, 2015)

Hal ini diikuti dengan mutasi tambahan, termasuk aktivasi mutasi KRAS, yang juga mendorong pertumbuhan dan mencegah apoptosis. Studi *microarray* terbaru menunjukkan bahwa profil transkripsi dari aktivasi β-catenin menyerupai program stem sel dari kripta usus. (Nagtegaal *et al*., 2019; Odze & Goldblum *et al.*, 2015)

APC juga terlibat dalam interaksi sitoskeletal. Meskipun peran potensial paling penting dalam tumorigenesis belum didefinisikan secara tepat, APC telah langsung diimplikasikan dalam adhesi sel-sel, migrasi, segregasi kromosom (stabilitas genom) dan apoptosis. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*., 2019; Odze & Goldblum *et al.*, 2015)

Bukti lebih lanjut tentang pentingnya abnormalitas pensinyalan Wnt pada tumorigenesis kolorektal dibuktikan dengan adanya mutasi pada gen β-catenin (CTNNB1) pada beberapa tumor yang tidak memiliki mutasi APC. Berbeda dengan mutasi APC yang tidak aktif, mutasi CTNNB1 residu asam amino target yang terintegrasi dengan fosforilasi, mengakibatkan aktivasi onkogenik dari pensinyalan Wnt. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*., 2019; Odze & Goldblum *et al.*, 2015)

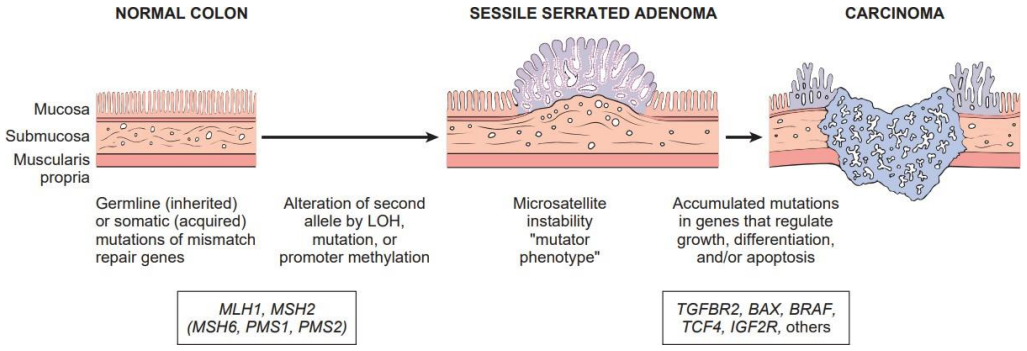
Mutasi KRAS ditemukan pada 40% dari adenoma dan kanker pada lokasi spesifik (kodon 12, 13, 61, dan lainnya), aktivasi onkoprotein KRAS dengan mengurangi atau menonaktifkan aktivitas enzimatik GTPase intrinsiknya, sehingga menahan protein dalam keadaan aktif terikat GTP. Hal ini mengirimkan sinyal konstitutif melalui jalur pensinyalan proliferatif RAS-RAF-MEK-ERK (MAPK), yang dapat mengaktifkan mutasi BRAF. Selain itu, KRAS juga dimasukkan ke dalam jalur penekan apoptosis PI3K, yang juga dapat diaktifkan oleh mutasi pada PIK3CA atau PTEN. Progresi neoplastik juga dikaitkan dengan mutasi tumor supressor gen lain, yaitu SMAD2 dan SMAD4, yang merupakan efektor sinyal TGF-□. Secara normal, sinyal TGF-□ menghambat siklus sel, maka kehilangan gen ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*., 2019)

Gen penekan tumor TP53, yang mengkode P53, kadang-kadang disebut penjaga genom, karena responnya terhadap kerusakan DNA dan stres lainnya dengan menginduksi penghentian siklus sel melalui p21, sehingga memberi kesempatan untuk memperbaiki DNA yang rusak atau menginduksi apoptosis melalui BAX (dan protein lain) ketika terjadi kerusakan DNA yang lebih berat.

Mutasi yang menonaktifkan fungsi p53 ditemukan pada 60% kanker dan mutasi ini sering terjadi pada tahap akhir perkembangan adenoma-karsinoma pada kanker sporadik, meskipun dapat terjadi lebih awal pada karsinogenesis yang berhubungan dengan penyakit inflamasi usus. Hilangnya fungsi gen TP53 dan gen supresor tumor yang lain sering disebabkan oleh delesi kromosom, yang dapat disimpulkan bahwa instabilitas kromosom merupakan penanda dari APC/β-catenin pathway. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*., 2019)

2). Ketidakstabilan mikrosatelit (*Microsatellite Instability* /MSI)

Proses ini diakibatkan oleh adanya defek dalam perbaikan ketidakcocokan DNA (DNA *mismatch repair* / MMR) mempengaruhi sejumlah besar gen. MSI ditandai dengan perubahan yang tersebar luas dalam ukuran urutan DNA berulang, yang terjadi pada sekitar 10% hingga 15% dari karsinoma kolorektal.



Gambar 5. Perubahan morfologi dan molekuler karsinogenesis kolon pada jalur *mismatch repair*. (Kumar *et al*.,2021)

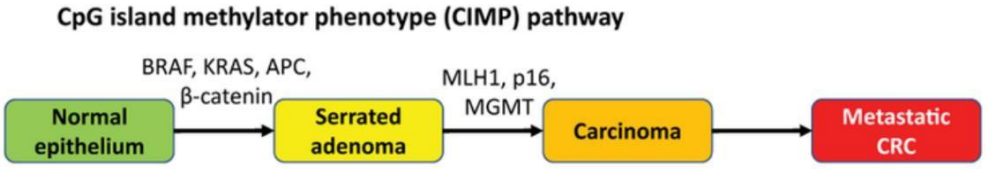
Mutasi ini umumnya diam, karena mikrosatelit biasanya berada di daerah nonkode, tetapi urutan mikrosatelit lainnya terletak di daerah pengkodean atau promotor gen yang terlibat dalam regulasi pertumbuhan sel, seperti yang mengkode reseptor TGF-β tipe II dan protein pro apoptosis BAX. Karena TGF-β menghambat proliferasi sel epitel kolon, reseptor TGF-β tipe II mutan dapat berkontribusi dalam pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, sementara kehilangan BAX dapat meningkatkan kelangsungan hidup klon yang abnormal secara genetik. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*., 2019)

Dalam subset kanker usus besar dengan ketidakstabilan mikrosatelit, ada yang tidak mengalami mutasi pada enzim perbaikan ketidakcocokan DNA. Tumor ini menunjukkan hipermetilasi fenotip pulau CpG. Pada tumor ini, daerah promotor MLH1 biasanya mengalami hipermetilasi sehingga mengurangi ekspresi MLH1 dan fungsi perbaikan. Ini adalah karakteristik dari banyak karsinoma kolorektal yang timbul pada neoplastik yang *serrated*. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*., 2019)

MSI juga merupakan mekanisme yang mendasari perkembangan kanker sindrom Lynch, yang disebabkan oleh cacat bawaan pada DNA MMR. Pada sindrom Lynch, MSI berkembang dalam adenoma konvensional dan mendorong perkembangan cepat menjadi kanker. (Kumar *et al*., 2021; Nagtegaal *et al*.,

2019; Odze & Goldblum *et al.*, 2015)

3). Fenotip metilator pulau CpG (CIMP) adalah akuisisi yang tersebar luas dari hipermetilasi dinukleotida CpG di daerah promotor gen. Disebut sebagai perubahan epigenetik (karena tidak mengubah urutan DNA). Hal ini merupakan mekanisme utama dari inaktivasi gen penekan tumor seperti TP16, CDHI dan MLH1. (Kumar *et al*, 2021 ; Dong *et al*.,2018)



Gambar 6. Patogenesis jalur CpG island methylator phenotype (CIMP) pada karsinoma kolorektal (Dong *et al*.,2018)

Metilasi pulau CpG yang tersebar luas disini berbeda dengan metilasi yang sangat terbatas yang terjadi di sebagian besar karsinoma kolorektal dan ini dikenal sebagai CIMP frekuensi tinggi (CIMP-H). CIMP-H adalah gambaran karakteristik dari karsinoma kolorektal yang muncul di jalur *Jalur bergerigi* dan muncul di 20% hingga 30% karsinoma kolorektal, termasuk hampir semua kanker yang juga mempunyai silencing hipermetilasi MLH1. (Kumar *et al*, 2021 ; Dong *et al*.,2018)

Genetik yang mendasari fenotipe CIMP-H kurang dipahami, tapi ada bukti bahwa faktor genetik dan paparan lingkungan (misalnya, merokok, penghentian estrogen) mungkin terkait dengan perkembangan karsinoma pada jalur ini (*Jalur bergerigi*). Sebuah hipotesis kerja berkembang dimana faktor genetik dan epidemiologi berkontribusi pada kejadian metilasi abnormal polip bergerigi kolon kanan dan mempengaruhi untuk terjadinya silencing metilasi dari MLH1, MGMT dan gen penting lainnya. Mungkin kejadian ini mendorong perkembangan dari displasia menjadi adenokarsinoma. Karsinoma yang berkembang ini disebut sebagai adenokarsinoma "serrated" dan sering ditemukan fenotipe molekuler MSI- H atau CIMP-H, atau keduanya. (Odze & Goldblum, 2015)

2.3. *Immune Checkpoint Signaling*

Neoantigen yang dihasilkan oleh kanker sebagai akibat dari adanya sejumlah perubahan genetik maupun epigenetik, menjadi potensial untuk dikenali oleh sistem imun, sehingga dapat memicu respon imun sel T. Koordinasi oleh sel T sitotoksik yang akan berikatan dengan sel-sel kanker dan melakukan pembunuhan, diperlukan agar proteksi sistem imun menjadi efektif (Matthew *et al*., 2022). Dalam kondisi fisiologis yang normal, terdapat status keseimbangan antara molekul *Checkpoint* imun yang membuat respon imun dari sel T tetap dalam intensitas dan cakupan yang tepat agar meminimalkan kerusakan pada jaringan normal di sekitarnya, dan mencegah reaksi autoimun. Namun, beberapa jalur dimanfaatkan oleh sel kanker untuk melakukan upregulasi sinyal negatif melalui molekul permukaan sel, yang akan menghambat aktivasi atau menginduksi apoptosis dari sel T, dan pada akhirnya dapat memicu progresitas dan metastasis dari kanker (Matthew *et al*., 2022). Penelitian pada molekul *Checkpoint* imun saat ini terutama difokuskan pada CTLA-4, PD-1 dan ligannya PD-L1 (B7H1) dan PD- L2 (B7DC). (Matthew *et al*.,2022 ; Kumar *et al*, 2021)

2.4. *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs)

Mekanisme pertahanan anti tumor lokal menggambarkan perkembangan dan organisasi dari lingkungan mikro tumor. Komposisi dari populasi sel dan proporsi relatif dari adanya sel-sel inflamasi pada area ini memberikan efek pada kualitas dan karakteristik dari respon inflamasi. Limfosit yang ditemukan langsung pada area tumor dikenal dengan sebutan *limfosit infiltrasi tumor* (TIL). (Matthew *et al*.,2022 ; Jakubowska *et al*., 2017; Yao *et al*., 2017).

TILs terdiri dari subset limfosit dengan proporsi yang berbeda, antara lain sel T CD8+, sel T CD4+, sel *Pembunuh Alami* (NK), dan sel B, dimana sel limfosit T dianggap sebagai bagian yang paling dominan pada lingkungan mikro tumor dan memiliki peran utama dalam respon imun anti-tumor. (Talia *et al*.,2020 ; Antohe *et al*., 2019).

Subtipe limfosit T sebagai bagian dari TILs memiliki peranan tersendiri dalam lingkungan mikrotumor. Sel T CD8+ akan mengenali dan dapat membunuh secara langsung sel-sel tumor yang mengekspresikan peptida yang berasal dari antigen tumor dan dipresentasikan pada molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas I. (Abbas *et al*., 2017).

Adapun sel T *pembantu* CD4+ akan membantu mengaktifkan sel T CD8+

untuk menekan pertumbuhan tumor. Sementara sel T regulator (Treg), merupakan salah satu subtipe dari sel T yang dapat menekan respon imun anti-tumor dengan menghambat aktivitas sel T CD8+. (Matthew *et al*.,2022 ; Smith & Kang *et al.*, 2014)

Matthew (2020) dalam penelitiannya mendapatkan adanya hubungan yang signifikan antara derajat TILs dengan derajat diferensiasi tumor pada kanker kolorektal, yaitu derajat TILs yang rendah berhubungan dengan derajat diferensiasi yang buruk. Penelitian tersebut juga mengkonfirmasi bahwa derajat TILs berhubungan secara signifikan dan *independent* dengan prognosis yang buruk terhadap *kelangsungan hidup secara keseluruhan* tetapi bukan terhadap *kelangsungan hidup bebas penyakit* berdasarkan analisis *Multivarian.* Beberapa penelitian juga telah menunjukkan bahwa infiltrasi TILs, baik di dalam sarang tumor maupun di stroma tumor, berkontribusi terhadap prognosis yang lebih baik. (Matthew *et al*.,2022 ; Talia *et al*.,2020)

2.4.1. *Grading* TILs

Kepadatan TIL dinilai dalam kompartemen stroma massa tumor dan dinilai sebagai persentase area stroma, dibulatkan ke 5% terdekat. Skor didasarkan pada rata-rata di seluruh slide (bukan hotspot). Hanya TIL dalam batas tumor invasif yang dinilai, sehingga area displastik dan in situ (termasuk pertumbuhan terbatas pada lamina propria) dan peradangan di luar batas tumor diabaikan. Sesuai rekomendasi ITWG, semua sel mononuklear (limfosit dan sel plasma) dimasukkan sebagai TIL, sedangkan sel inflamasi lainnya (yaitu, neutrofil/ granulosit) dikeluarkan. Area nekrosis, termasuk karakteristik "nekrosis kotor" sentral dari CRC dikeluarkan dari penilaian dan hanya TIL stroma yang dinilai, sehingga TIL di dalam sarang sel epitel dikeluarkan. (Talia *et al*.,2020 ; Iseki.Y,2018)

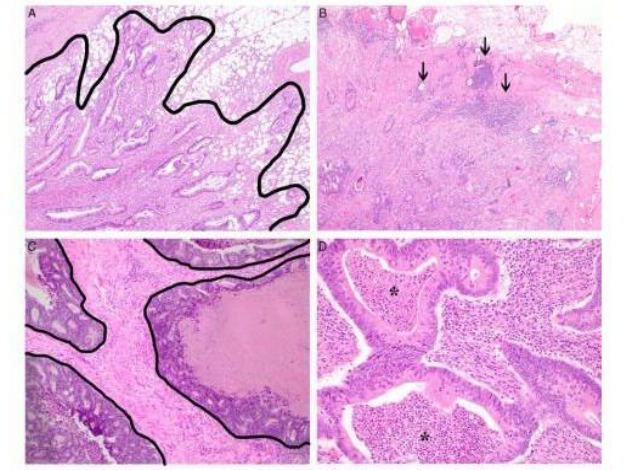


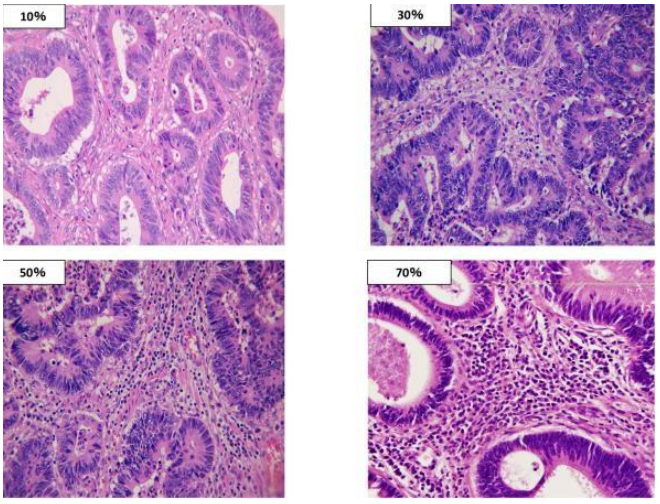
FIGURE 1. Assessing TILs in CRC using the ITWG standardized methodology. A, Only TILs within the borders of the invasive tumor (encircled in this image) are evaluated. B, Immune infiltrates outside the border of the tumor, including lymphoid aggregates (arrows), are excluded. C, Only stromal lymphocytes are assessed. Lymphocytes within the epithelial component of the tumor mass (shaded) including the areas of the so-called "dirty necrosis" characteristic of CRC are not included in the evaluation. D, Only stromal mononuclear inflammatory cells (lymphocytes and plasma cells) are included. Granulocytic infiltrates both within areas of necrosis (*) or other areas including peritumoral abscesses are not included (H&E-stained sections).

Gambar 7. Penilaian TILs pada kanker kolorektal menggunakan metodologi ITWG. (Talia *et al*.,2020 ; Iseki.Y,2018)

Persentase skor TIL dikategorikan menjadi 3 kelompok, yaitu rendah (0% hingga 10%), sedang (15% hingga 50%), dan tinggi (55% hingga 100%). Berikut cara untuk Menilai TIL pada karsinoma kolorektal : (Talia *et al*.,2020 ; Iseki.Y,2018)

1. TILs pada CRCs harus dinilai hanya di kompartemen stromal dan dilaporkan sebagai persentase dari area stromal. Sebagai contoh, skor 60% berarti bahwa 60% area stromal diisi oleh infiltrat mononuklear. Limfosit biasanya tidak membentuk agregat padat; oleh karena itu, skor 100% masih akan memungkinkan adanya stroma yang terlihat di antara limfosit individu.
2. Evaluasi TILs stromal harus terbatas pada batas tumor invasif. TILs di luar batas tumor harus dikecualikan.
3. TILs di zona nekrosis, fibrosis, dan pembentukan abses harus dikecualikan.
4. Satu bagian yang diwarnai dengan H&E dapat dianggap cukup mewakili seluruh tumor untuk penilaian TILs.
5. TILs harus dilaporkan sebagai variabel kontinu, yaitu rata-rata kepadatan TILs stromal di seluruh bagian, dibulatkan ke 5% terdekat. Jangan fokus pada hotspot.
6. Semua sel inflamasi mononuklear (limfosit dan sel plasma) harus dinilai, tetapi sel inflamasi lainnya (misalnya, neutrofil/granulosit) harus dikecualikan.

7. Penilaian TILs terbatas pada karsinoma invasif. Area displastik dan in situ (termasuk pertumbuhan yang terbatas pada lamina propria) dikecualikan

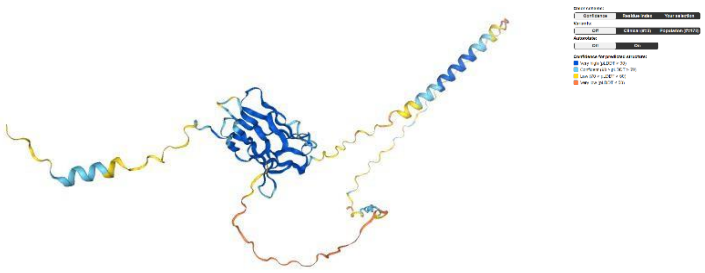


Gambar 8. Kelompok Persentase skor TIL, yaitu rendah (0% hingga 10%), sedang (15% hingga 50%), dan tinggi (55% hingga 100%). (Talia *et al*.,2020 ; Iseki.Y,2018)

2.5. Programmed Death-1 (PD-1)

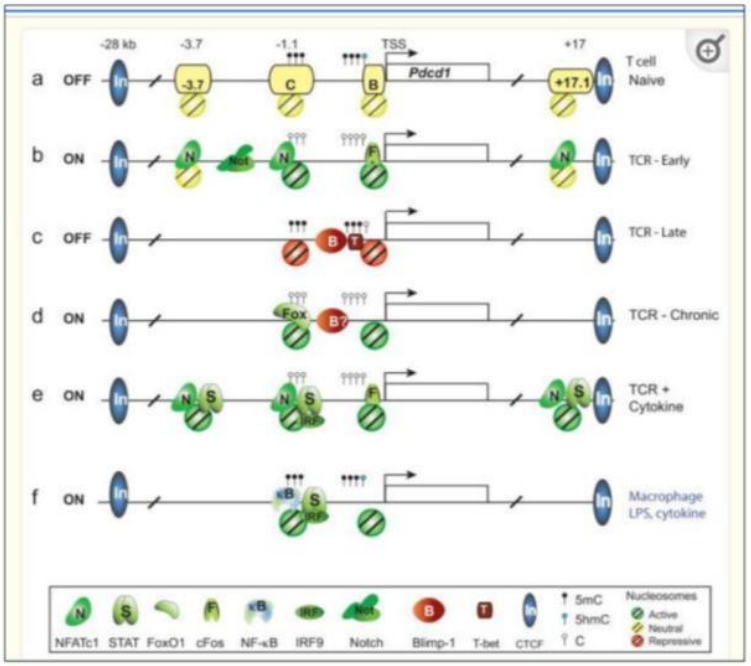
Programmed cell death-1 (PD-1, juga dikenal sebagai CD279), yang termasuk dalam superfamili imunoglobulin CD28 yang merupakan salah satu reseptor penghambatan sistem imun yang paling penting yang diekspresikan oleh sel-sel kekebalan tubuh, utamanya sel T CD8+ dan CD4+, sel NK, limfosit B, dan beberapa jenis TILs. Selain itu, PD-1 juga sangat diekspresikan dalam sel T yang *exhausted* yang prosesnya dapat diekspresikan secara berbeda dalam sel T selama infeksi akut dan kronis.

PD-1 dikodekan oleh gen *Pdcd1*. Gen ini merupakan protein transmembran tipe I yang terdiri dari domain seperti wilayah variabel imunoglobulin (IgV), tangkai, domain transmembran, dan domain intraseluler. (Chi Z *et al*., 2021 ; Passardi *et al*., 2017).



Gambar 9. Struktur protein PD-1. (Knut *et al*., 2021)

Secara umum memahami bagaimana regulasi PD-1 dapat dipelajari lebih lanjut melalui pengamatan Chi Z *et al* pada tikus yang terinfeksi LCMV secara akut dan kronis. Chi Z *et al*, mengemukakan bahwa mekanisme molekular dari ekspresi PD-1 terjadi pada level amplifikasi genomik, regulasi epigenetik, regulasi transkripsional, regulasi translasional, dan modifikasi post-translasional. (Chi Z *et al*, 2021)



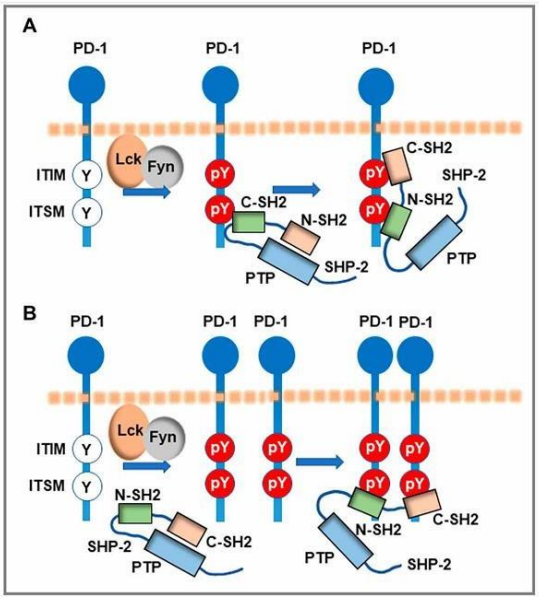
Gambar 10. Model skematik regulasi ekspresi PD-1

Gen Pdcd1 diwakili dalam berbagai keadaan aktivasi (ON, OFF) dengan (a) elemen pengatur cis utama yang diidentifikasi relatif terhadap situs awal transkripsi (TSS). Posisi dua isolator transkripsi (In) yang mengikat CTCF beserta lokus (diwakili). Tiga keadaan transkripsi in vivo yang mewakili aktivitas lokus dalam (a) keadaan naif dan kemudian mengikuti (b dan c) infeksi LCMV akut (awal dan akhir) dan kronis (d) ditunjukkan. (e) Stimulasi ex vivo sel T CD8 dengan sitokin IFNα, IL6, atau IL12. (f) Stimulasi makrofag ex vivo dan/atau in vitro dengan ligan TLR atau IFNα. Dengan masing-masing, aktivator transkripsi / represor, nukleosom pengaktif atau represif, dan keadaan metilasi DNA. (Bally AP et al., 2016)

Pada saat sel T mengenali antigen yang diekspresikan oleh MHC pada sel target, sitokin inflamasi kemudian diproduksi yang akan memulai proses inflamasi. Sitokin ini menyebabkan *ligan kematian terprogram* 1 (PD-L1) terekspresi di jaringan, mengaktifkan protein *Kematian terprogram*-1 (PD-1; CD279) pada sel T yang mengarah pada toleransi imun. (Alsaab *et al*, 2017).

Selain itu, PD-1 dapat mengalami *Upregulasi* selektif akibat adanya paparan yang persisten terhadap antigen, sehingga ekspresi PD-1 pada sel T merupakan salah satu penanda akan T sel yang *capai* (kelelahan). (Matthew *et al*.,2022 ; Dong *et al*., 2017)

Pada domain intraseluler PD-1 terdapat ekor intraseluler meliputi suatu bagian yang potensial fosforilasi yang berlokasi pada *Motif penghambatan berbasis tirosin reseptor imun* (ITIM) dan *Motif saklar berbasis tirosin imunoreseptor* (ITSM). Penelitian menunjukkan bahwa ITSM aktif penting untuk efek inhibitor PD-1 terhadap sel T. (Matthew *et al*.,2022 ; Dong *et al*., 2017)



Gambar 11. Mode interaksi PD-1/SHP-2.

(A) Model pengikatan dua langkah, SHP-2 C-SH2 berikatan dengan PD-1 pY-ITSM dengan afinitas yang kuat, PD-1 merekrut SHP-2 kemudian PD- 1 pY-ITIM berikatan dengan N-SH2, untuk mengaktifkan fosfatase. (B) Model dimerisasi, dua residu pY-ITSM pada dua molekul PD-1 melalui domain N-SH2 dan C-SH2 membentuk dimer PD-1: PD-1 dan menginduksi aktivasi SHP-2. (Patsoukis, 2020)

Studi mutasi telah menunjukkan bahwa fungsi penghambatan PD-1 tergantung pada fosfotirosin ITSM, yang secara istimewa merekrut domain homologi Src wilayah 2 yang mengandung fosfatase-2 (SHP-2), menghasilkan defosforilasi dan regulasi bawah jalur pensinyalan hilir. Meskipun diketahui bahwa SHP-2 adalah mediator kunci fungsi penghambatan PD-1, mekanisme yang tepat tentang bagaimana keterlibatan PD-1 mengarah ke aktivasi enzimatik SHP-2

masih tetap membingungkan.

SHP-2 memiliki dua domain tandem SH2, N-terminal (N-SH2) dan C-terminal SH2 (C-SH2), diikuti oleh domain fosfatase tunggal [protein tirosin fosfatase (PTP)], dan ekor hidrofobik terminal-C dengan dua situs fosforilasi tirosin. Pada keadaan basal, domain N-SH2 dari SHP-2 terlipat menjadi konformasi tertutup *autoinhibitory* untuk secara langsung memblokir situs PTP aktif. Interaksi domain N-SH2 dengan peptida fosfotirosin mengganggu interaksi ini dan mengaktifkan enzim. Pengikatan kedua domain SH2 diperlukan untuk aktivasi enzimatik SHP-2 penuh, dengan domain C-SH2 berkontribusi terhadap energi dan spesifisitas pengikatan dan N-SH2 memiliki peran langsung dalam aktivasi enzimatik. Sebagai contoh, pengikatan kedua domain SH2 SHP-2 bersama-sama dengan tirosin peptida bifosforilasi dari substrat reseptor insulin 1 dapat menginduksi aktivitas katalitik SHP-2 yang kuat. Jenis interaksi dan mekanisme aktivasi SHP-2 yang serupa baru-baru ini dihipotesiskan terjadi antara SHP-2 dan PD-1. Untuk mendukung hipotesis ini, karakterisasi struktural dan analisis biokimia aktivitas SHP-2 in vitro memberikan bukti model pengikatan dua langkah, yang menurutnya PD-1 fosfotirosin pada motif ITSM (pY-ITSM) berikatan dengan C- SH2 dengan afinitas yang kuat, merekrut PD-1 ke SHP-2, sedangkan fosfotirosin pada motif ITIM (pY-ITIM) berikatan dengan N-SH2, menggusurnya dari situs PTP dan mengaktifkan fosfatase. Berbeda dengan pengamatan sebelumnya, studi terakhir menemukan bahwa selain ITSM, ITIM juga berkontribusi pada fungsi penghambatan PD-1, meskipun pada tingkat lebih rendah, mendukung model potensial yang membutuhkan kedua domain ITIM dan ITSM untuk mengaktifkan SHP-2 fosfatase.

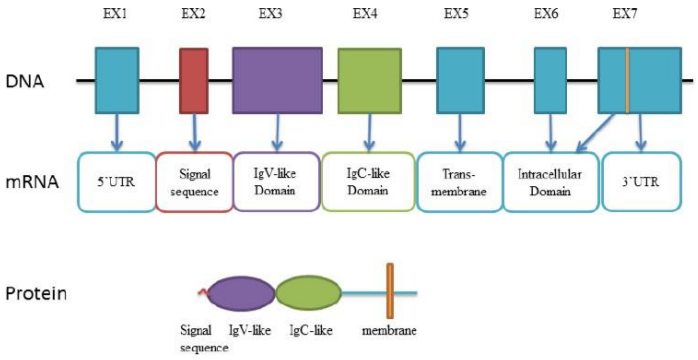
Hampir secara paralel, ditentukan bahwa selain mengikat dua domain SHP- 2 SH2 bersama-sama dengan dua fosfotirosin dari ekor sitoplasma PD-1, SHP-2 dan PD-1 memiliki sifat biofisik untuk berinteraksi melalui keterlibatan kedua domain SHP-2 SH2 dengan PD-1-ITSM Y248 terfosforilasi dari dua molekul PD-1 yang berbeda. Dengan menggabungkan metode biokimia dan biofisik serta mikroskop confocal, penelitian ini mengungkapkan bahwa mode alternatif interaksi PD-1: SHP-2 ini secara istimewa terjadi pada sel hidup, di mana, setelah fosforilasi PD-1, SHP-2, melalui domain N-SH2 dan C-SH2, dapat menjembatani dua residu pY-ITSM terfosforilasi pada dua molekul PD-1 yang terlokalisasi pada membran plasma, membentuk PD-1: PD-1 dimer. Interaksi SHP-2 dengan dua fosfopeptida ITSM yang terhubung secara tandem

menginduksi aktivasi enzimatik SHP-2 yang kuat, menunjukkan bahwa kombinasi motif ITSM pengikat yang kuat dapat membentuk dimer PD-1 yang bergantung pada SHP-2 dan secara bersamaan mengaktifkan fosfatase. Penemuan mode pengikatan alternatif ini yang mengarah pada pembentukan dimer PD-1 yang bergantung pada SHP-2 menjelaskan bagaimana interaksi PD-1 / SHP-2 dapat terjadi dengan keterlibatan hanya satu fosfotirosin PD-1 dan menyelesaikan teka-teki lama tentang bagaimana satu situs docking dalam ekor sitoplasma PD-1 dapat mengaktifkan SHP-2 dan memediasi fungsi penghambatan PD-1. PD-1 berisi terdiri dari 2 permukaan yaitu depan dan belakang. Di lembar depan beta yang terdiri dari untaian CC′FG dan lembar belakang beta terdiri dari untaian AA′BDE. Pengikatan PD-1 ke ligannya melibatkan "area" lembar depan dari molekul yang berinteraksi, dengan loop FG. Perbedaan dalam pertemuan molekul yang terbentuk antara PD-1 dan masing-masing ligannya menjelaskan afinitas yang lebih tinggi yang ditunjukkan pada PD-L2 terhadap PD-1, yang dikaitkan dengan karakteristik urutannya yang unik. PD-1 memiliki dua ligan yaitu PD-L1 juga disebut B7-H1; (CD274) dan PD-L2 (B7-DC; CD273), yang keduanya merupakan *co-inhibitor*. (Patsoukis *et al*.,2020 ; Dia *et al*., 2015) Pada sel T, pensinyalan PD-1 menghambat jalur PI3K/Akt, MAPK, dan mTOR. Jalur-jalur ini semuanya kemudian terlibat dalam pertumbuhan dan pembelahan sel. Ekspresi PD-1 juga diamati pada *innate lymphoid cells* (ILCs) dan makrofag. Sinyal PD-1 pada ILC2 dapat menghambat aktivasi dan fungsi ILC2, yang dapat berdampak negatif pada respons imun terhadap infeksi atau tumor. Sementara sinyal PD-1 pada makrofag dapat menghambat polarisasi M1, yang merupakan jenis makrofag yang berperan dalam melawan infeksi dan tumor. Sinyal PD-1 pada makrofag juga dapat menghambat kapasitas fagositosis, yang merupakan kemampuan untuk ”memakan” dan menghancurkan patogen. (Patsoukis *et al*.,2020)

Dalam konteks kanker kemudian terjadi pula kondisi mielopoiesis darurat atau *cancer-driven emergency myelopoiesis* yang dapat dipicu oleh faktor-faktor yang dilepaskan oleh sel kanker, seperti sitokin dan kemokin. Mielopoiesis darurat yang dipicu oleh kanker dapat menyebabkan akumulasi sel-sel imun yang menekan respons antitumor. Sel-sel imun ini disebut myeloid-derived suppressor cells (MDSC). Sinyal PD-1 pada MDSC dapat meningkatkan akumulasi MDSC, yang dapat semakin menekan respons antitumor. (Patsoukis *et al*.,2020)

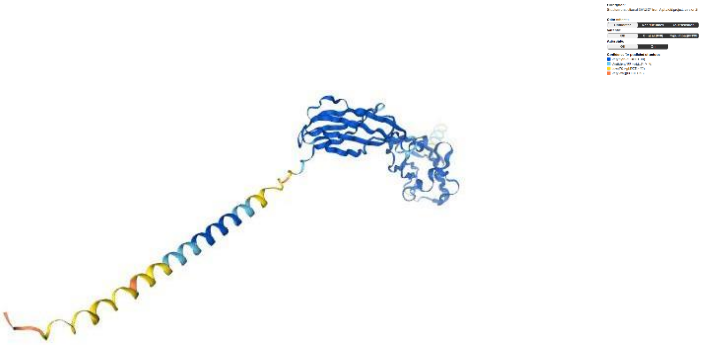
2.6. *Programmed Death- Ligand 1 (PD-L1)*

PD-L1 dikode oleh gen CD274 yang berada pada kromosom 9 manusia pada band p24. PD-L1 adalah protein 40kDa yang mengandung 290 asam amino. Disebutkan bahwa regio promoter dari gen CD274 mengandung beberapa elemen yang memberikan respon terhadap IFN-γ, yang diperlukan untuk upregulasi ekspresi PD-L1 yang dimediasi oleh IFN-γ. (Guo, Lin, & Kwok, 2017) PD-L1 berperan sebagai protein transmembran yang terdiri dari satu regio transmembran dan dua *domain ekstraseluler*, Ig-C dan Ig-V. PD-L1 juga memiliki *domain sitoplasma* yang pendek dan menyalurkan sinyal intraselular. Gen CD274 yang mengkode protein PD-L1 terdiri atas 7 ekson yang masing-masing ekson mengkode bagian tertentu dari protein PD-L1. (Matthew *et al*.,2022; Chen J., Jiang, CC, Jin L., dan Zhang, 2015)



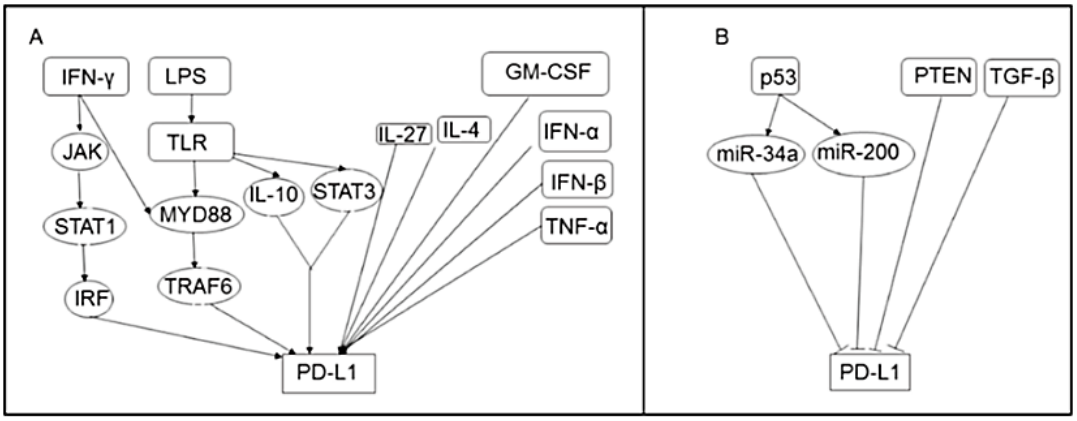
Gambar 12. Skema struktur gen, mRNA dan protein PD-L1.

Gen PD-L1 mengandung 7 ekson, ekson 1 mengkode 5'UTR dan ekson 2-6 masing-masing mengkode *urutan sinyal, domain seperti IgV, domain seperti IgC, transmembran* dan *domain intraseluler,* dan ekson 7 mengkode *Domain intraseluler* dan 3'UTR. Protein PD-L1 mengandung satu *Domain transmembran* dan 2 *domain ekstraseluler, IgV-like dan IgC-like*. (Chen J., Jiang, CC, Jin L., dan Zhang, 2015)



Gambar 13. Struktur protein PD-L1. (Knut *et al*., 2021)

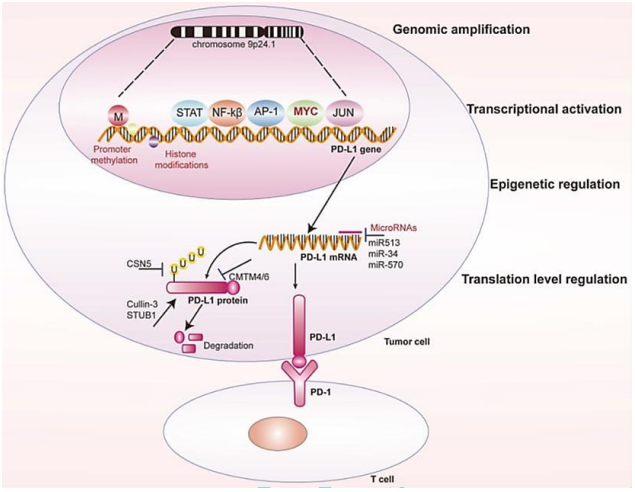
Ekspresi PD-L1 terbagi atas ekspresi *constitutive* dan ekspresi *inducible,* yang tergantung oleh stimulus ekstrinsik atau intriksik. Ekspresi *constitutive* diinduksi oleh disregulasi onkogen atau jalur sinyal tumor *suppressor gene*, melalui aktivasi abnormal faktor transkripsi, atau perubahan genomik atau amplifikasi gen. Ekspresi *inducible* mengacu pada ekspresi PD-L1 yang diatur oleh sinyal inflamasi dari sel tumor atau sel imun lain, seperti APC dan sel T, pada *microenvironment tumor.* Sejumlah sitokin inflamasi ditemukan dapat menginduksi ekspresi PD-L1, mencakup IFN-γ, TNF-α, IL-17, IL-27, IL-4, IL-2 dan IL-10.(Ju *et al.*, 2020)



Gambar 14. Regulasi Ekspresi PD-L1 oleh molekul proinflamasi.

A.Upregulasi diatur berbagai molekul proinflamasi; dapat diinduksi oleh IFN-γ dan ligan TLR melalui jalur sinyal TLR. IFN-γ juga menginduksi melalui jalur sinyal JAK-STAT1. Sitokin lain, seperti GM-CSF, TNF- alpha, IL, dapat meningkatkan ekspresi PD-L1. B. Inhibisi ekspresi PD-L1 dimediasi oleh p53, PTEN dan TGF-β. (Guan *et al.*, 2017; Ju *et al.*, 2020)

Adapun, mekanisme molekular dari ekspresi PD-L1 dalam sel kanker juga terjadi pada level amplifikasi genomik, regulasi epigenetik, regulasi transkripsional, regulasi translasional, dan modifikasi posttranslasional. (Ioannis Z et al, 2018 ; Guan et al., 2017; Ju et al., 2020)



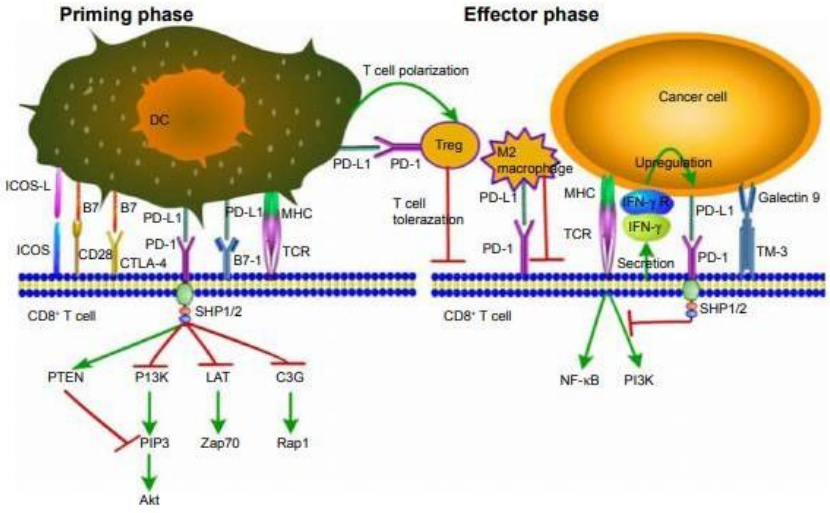
Gambar 15. Regulasi Ekspresi PD-L1 dalam sel kanker.

Ekspresi PD-L1 dapat diatur oleh amplifikasi genomik, regulasi transkripsi, regulasi epigenetik, dan regulasi translasi.(Ju *et al.*, 2020)

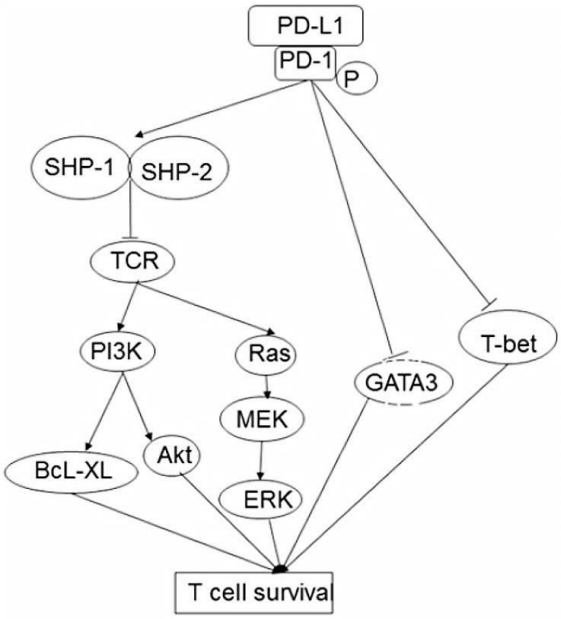
2.7. Pensinyalan *PD-1/PD-L1*

Sejumlah penelitian melaporkan bahwa PD-L1 dapat berinteraksi dengan PD-1, dan interaksi ini menghantarkan sinyal penghambat untuk meregulasi toleransi imun dan imunopatologi. PD-1/PD-L1 *Signaling* dapat menggunakan efek inhibitornya pada respon imun melalui jalur *Signaling* seperti fosfatase-1 (SHP-1), *Reseptor sel-T* (TCR), *Fosfoinositida 3-kinase* (PI3K). (Matthew *et al*.,2022 ; Guo *et al*., 2017)

Interaksi PD-L1 pada sel T efektor dengan PD-1 akan menghambat transduksi sinyal TCR, menyebabkan inhibisi aktivitas sitotoksik sel T. SHP-1 dapat meregulasi aktivitas sel T CD8+ dan melakukan inhibisi SHP-1 melalui *natrium stibogluconate* meningkatkan fungsi *motif penghambatan berbasis tirosin* (ITIM) dan *Motif saklar berbasis tirosin imunoreseptor* (ITSM). ITSM dapat menyebabkan terjadinya fosforilasi *Tirosin* pada ITSM motif dari PD-1, kemudian mengambil SHP-1 dan SHP-2 ke ITSM motif. Setelah pengambilan tersebut, jalur *Signaling* dapat menghambat *Sinyal berhenti*, dan menghambat interaksi sel T dan sel dendritik. Akhirnya, blokade transduksi *tanda* TCR menyebabkan inhibisi PI3K/Akt (Akt dikenal sebagai Protein kinase B) dan *Protein kinase yang diaktifkan mitogen* (MAPK) *Signaling*. Dan yang terpenting, inhibisi aktivasi PI3K menekan ekspresi *Limfoma sel B-xl* (Bcl-xl) dan aktivasi Akt, yang akhirnya akan menyebabkan peningkatan apoptosis sel T. (Guo *et al*., 2017)



Gambar 16. PD-1/PD-L1 *signaling*, menurunkan proliferasi, *survival* dan produksi sitokin dari sel T CD8+. (X. Wang, Teng, Kong, &; Yu, 2016)



Gambar 17. Jalur Sinyal PD-L1/PD-1 pada Sel T.

Jalur sinyal PD-L1/PD1 dapat memediasi kelangsungan hidup sel T melalui regulasi transduksi sinyal yang berbeda. Interaksi PD-1 dan PD-L1 dimulai dengan fosforilasi PD-1, dan merekrut SHP-1 dan SHP-2 terhadap motif ITSM dari PD-1. Setelah merekrut, jalur sinyal ini memblokir interaksi sel T. Blokade transduksi sinyal TCR menghambat sinyal PI3k/Akt dan MAPK. Inhibisi aktivasi PI3K menekan ekspresi limfoma sel B extra large (Bcl-xL) dan aktivasi Akt, yang meningkatan apoptosis sel T.

Interaksi PD-L1 dan PD-1 juga menghambat ekspresi GATA-3 dan T-bet. GATA-3 sangat penting untuk diferensiasi sel Th2. T-bet berkontribusi untuk pengembangan sel T.(Guo, Lin and Kwok, 2017)

PD-L1 tidak hanya menghambat fungsi sel T yang diaktifkan melalui inhibisi jalur PI3K/AKT dan Ras/MEK/ERK, tetapi juga melalui inhibisi faktor transkripsi yang diperlukan untuk kelangsungan hidup sel T. Interaksi PD-L1 dan PD-1 dilaporkan menghambat ekspresi GATA-3 dan T-bet. GATA-3 telah dilaporkan sebagai faktor transkripsi yang sangat penting untuk diferensiasi sel T helper 2 (Th2). Sementara itu, T-bet, yang dikenal sebagai faktor transkripsi T-box, dapat berkontribusi dalam perkembangan sel-T.(Guo, Lin and Kwok, 2017)

Interaksi PD-L1/PD-1 juga terlibat dalam jalur sinyal yang dimediasi oleh TGF-β. Fungsi TGF-β dalam perkembangan sel induced T cell regulatory (iTreg) dapat dikurangi dengan hilangnya PD-L1. Selama konversi sel iTreg dari sel T matur, sinyal PD-L1/PD-1 mengurangi fosforilasi AKT dan substrat downstream mTOR dan S6.(Guo, Lin and Kwok, 2017)

Blokade sel T CD8+ yang exhausted dari jalur sinyal PD-L1 dan PD-1 meningkatkan kemampuan sel T untuk mengeluarkan sitokin dan membunuh sel, menunjukkan bahwa jalur sinyal PD-L1/PD-1 mempengaruhi aktivasi downstream molekul dari aktivasi sel T. Interaksi PD-L1 dan PD-1 menghambat produksi IL-2 dalam sel T CD4+ dan CD8+, yang kemudian menghambat proliferasi limfoid. Interaksi PD-L1 dan PD-1 menyebabkan berkurangnya produksi IFN-γ yang disekresikan oleh CD8+ T Limfosit (CLT). Anti-PD-L1 memblokir interaksi PD- L1 dan PD-l, dan merangsang produksi IFN-γ yang disekresikan oleh sel T CD8+, serta menghasilkan aktivasi sel T.(Guo, Lin and Kwok, 2017)

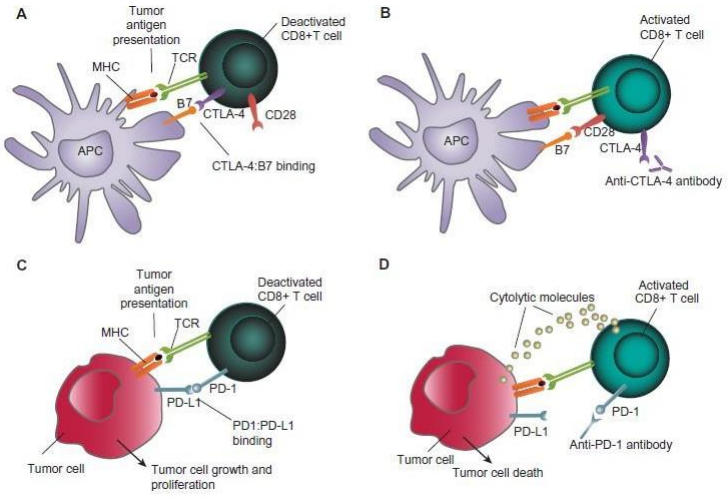
Namun tidak semua jenis kanker menggunakan mekanisme yang sama dari PD-L1 *Signaling*, dimana beberapa jenis kanker memiliki prognosis yang berbeda yang disebabkan karena mekanisme PD-L1 yang berbeda. (Matthew *et al*.,2022 ; Ioannis, 2018 ; X. Wang *et al*., 2016)

2.8. Penanganan Kanker Kolorektal

Penatalaksanaan kanker kolorektal bersifat multidisiplin yang melibatkan beberapa spesialisasi/subspesialisasi. Pilihan dan rekomendasi terapi tergantung pada beberapa faktor, antara lain stadium kanker, histopatologi, kemungkinan efek samping, atau kondisi pasien. Terapi bedah merupakan modalitas utama

untuk kanker stadium dini dengan tujuan kuratif. Kemoterapi adalah pilihan pertama pada kanker stadium lanjut dengan tujuan paliatif. Pada kanker rektum, radioterapi merupakan salah satu modalitas utama terapi. Saat ini, terapi biologis (*Terapi yang ditargetkan*) dengan antibodi monoklonal telah berkembang pesat dan dapat diberikan dalam berbagai situasi klinis, baik sebagai obat tunggal maupun kombinasi dengan modalitas terapi lainnya. (Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2017)

Imunoterapi adalah pendekatan terapeutik aktif yang dirancang untuk memicu sistem imun dalam merespon *antigen spesifik tumor* dan menyerang sel tumor. (Koido *et al*., 2013) Perkembangan imunoterapi yang paling menonjol dalam dekade terakhir adalah munculnya *penghambat pos pemeriksaan,* yang merupakan antibodi monoklonal yang memodifikasi jalur sinyal MHC-TCR dengan menargetkan molekul co-inhibitor seperti PD-1, PD-L1/2. (Lynch & Murphy, 2016) Selain itu, pemberian antibodi anti-CTLA-4 dan anti-PD-1 disebutkan juga dapat menekan secara efektif jalur penghambat aktivasi sel T reaktif pada tumor. (Matthew *et al*.,2022 ; Minggu, Suo, Yan, & Crc, 2016)



Gambar 18. Konsep imunoterapi pada suatu kanker.

APC menyajikan antigen tumor dan molekul B7 pada sel T CD8+. CTLA-4 dan CD28 pada sel T akan berkompetisi untuk berikatan dengan B7, dimana CTLA-4 memiliki afinitas yang lebih besar untuk berikatan dengan B7 sehingga menyebabkan *Penonaktifan sel-T* (A). Antibodi anti-CTLA-4 mencegah ikatan CTLA-4/B7 dan menyebabkan ikatan antara CD28/B7 sehingga menghasilkan *Aktivasi sel-T* (B). Ikatan antara PD-1 pada sel T dengan PD-L1 menghasilkan *Penonaktifan sel-T* (C). Antibodi anti-PD-1 (ataupun anti-PD-L1) mencegah ikatan PD-1/PD-L1 dan

menyebabkan pelepasan molekul sitotoksik untuk membunuh sel tumor (D). (Matthew *et al*.,2022 ; Davies, 2014)

Kanker kolorektal merupakan penyebab kematian akibat kanker yang sangat umum. Lebih dari 80% kanker kolorektal metastasis memiliki profil reparasi mismatch yang efisien (pMMR) dan/atau stabil pada mikrosatelit (MSS). Inhibitor checkpoint imun PD-L1 dan PD-1 telah disetujui sebagai monoterapi dalam banyak jenis kanker, termasuk subkelompok kanker kolorektal metastasis yang mengalami defisiensi dalam perbaikan mismatch (dMMR) dan/atau memiliki ketidakstabilan mikrosatelit yang tinggi (MSI-H). (Shixue C *et al*, 2021)

Meskipun terdapat respons positif terhadap terapi imun dengan inhibitor PD-1 dan PD-L1 pada kanker dMMR/MSI-H, kanker kolorektal dengan profil pMMR/MSS (sering disebut sebagai ‘cold tumor’) belum menunjukkan respons klinis terhadap inhibitor PD-1/PD-L1 saja. Hal ini menunjukkan kebutuhan akan pendekatan terapeutik baru dan strategi pengobatan untuk kanker kolorektal metastasis dengan profil pMMR/MSS. (Shixue C *et al*, 2021)

Salah satu strategi yang menjanjikan untuk meningkatkan respons klinis terhadap inhibitor PD-1/PD-L1 pada kanker pMMR/MSS adalah dengan menggabungkannya dengan agen anti-tumor lain yang menargetkan jalur yang berbeda dan meningkatkan imunogenisitas dari lingkungan mikro tumor (TME). Strategi ini termasuk menghambat CTLA-4, faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF)/reseptornya (VEGFR), kinase protein teraktivasi mitogen (MEK), dan transduser sinyal dan aktivator transkripsi 3 (STAT3), atau pengobatan dengan kemoterapi sitotoksik dan radioterapi. Pendekatan ini bertujuan mengubah 'cold tumor' menjadi 'hot tumor’, yang kemudian dapat ditargetkan oleh inhibitor PD-1/PD-L1 untuk memberikan kekebalan anti-tumor. Sehingga korelasi marker etiologi dan biomarker lainnya penting dalam menentukan terapi, prediktif dan prognostik pasien kanker kolorektal. (Shixue C *et al*, 2021)