

KARYA AKHIR

RASIO SEL T SITOTOKSIK CD8⁺ DAN
SEL T REGULATOR FOXP3⁺
TUMOR-INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILs)
PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL

RATIO OF CD8⁺ CYTOTOXIC T CELLS AND
FOXP3⁺ REGULATORY T CELL
TUMOR-INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILs)
IN COLORECTAL ADENOCARCINOMA

dr. UMMU KALZUM MALIK

C075 172 004



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2022

**RASIO SEL T SITOTOKSIK CD8⁺ DAN
SEL T REGULATOR FOXP3⁺
TUMOR-INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILs)
PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Mencapai Gelar Spesialis Patologi Anatomi

Disusun dan Diajukan Oleh

dr. UMMU KALZUM MALIK

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

KARYA AKHIR

RASIO SEL T SITOTOKSIK CD8⁺ DAN SEL T REGULATOR FOXP3⁺ TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES (TILs) PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL

Disusun dan diajukan oleh:
dr. Ummu Kalzum Malik
C075172004

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis
Program Studi Ilmu Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 20 Mei 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Pendamping



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

**Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Anatomi**



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



**Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin**

Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, M.Kes, Sp.PD(KGH), Sp.GK
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ummu Kalzum Malik

NIM : C075172004

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi
Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenarnya, bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Mei 2021

Yang menyatakan,



(Ummu Kalzum Malik)

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah, senantiasa kami panjatkan kehadiran Allah SWT, atas berkah dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir ini yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan di Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Terima kasih dan sembah sujud penulis haturkan dengan tulus ikhlas kepada almarhum ayahanda Abd. Malik yang tidak sempat merasakan kebahagiaan ini dan ibunda Hapsa yang dengan sabar, tabah dan penuh kasih sayang serta do'a yang tak pernah putus sehingga penulis mampu menyelesaikan studi ini.

Rasa terima kasih dan cinta yang tiada terhingga juga penulis sampaikan kepada suami Muhammad Risal beserta ketiga putra-putriku tersayang, Muhammad Ahza Fathin, Ummu Athifah dan Muhammad Ahnaf Mifzal atas pengertian, perhatian dan dukungannya yang senantiasa tercurah selama masa studi penulis.

Secara khusus saya sampaikan rasa hormat dan terima kasih yang mendalam kepada **dr. Upik A. Miskad, PhD., Sp.PA (K)**, **dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, SpPA** dan **dr. Gita Vita Soraya, Ph.D** selaku pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu dan sabar memberikan arahan, koreksi serta bimbingannya tahap demi tahap selama penyusunan karya akhir ini. Waktu yang beliau berikan merupakan kesempatan berharga bagi penulis untuk belajar. Begitu pula kepada **Prof. dr. Syarifuddin Wahid, Ph.D, Sp.PA(K)** dan **dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D, Sp.PA(K)** yang telah meluangkan waktu untuk menjadi penguji dan atas masukannya demi perbaikan karya akhir ini.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya, juga penulis sampaikan kepada:

1. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik

pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi Universitas Hasanuddin Makassar.

2. Ketua Program Studi, Ketua Departemen Patologi Anatomik serta seluruh staf pengajar pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Universitas Hasanuddin (**Dr.dr. Berti J Nelwan, Sp.PA(K), dr. Gunawan Arsyadi, SpPA(K), Prof. Dr. dr.Johanna M. Kandouw, SpPA(K), dr. Truly D. Djimahit, Sp.PA(K), dr.Cahyono Kaelan, Ph.D., SpPA(K), SpS., dr. Djumadi Achmad, Sp.PA(K), dr. Ni Ketut Sungowati, SpPA(K), Dr. dr. Gatot S. Lawrence, SpPA(K), FESC., dr. Juanita, Sp.PA, dr. Imeldy Prihatni Purnama Sp.PA, dr. Ruth Norika Amin, Sp.PA, dr. Wahyuni, Sp.PA, dr. Syamsu Rijal, Sp.PA, dr. Amalia Yamin, Sp.PA, dr. Tri Lestari Sp.PA**) atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan maupun dalam penyusunan karya akhir ini.
3. Bapak Rektor, BPH dan Dekan FKIK Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti Pendidikan ini dan atas perhatian serta dukungannya selama penulis menempuh pendidikan
4. Teman-teman sejawat residen Patologi Anatomi atas semua bantuan, dukungan, doa, dan persaudaraan yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini.
5. Seluruh teknisi dan pegawai laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar, dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, serta seluruh pihak yang telah membantu penulis, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu patologi anatomi di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala khilaf mulai dari awal penelitian sampai akhir penulisan tesis ini.

Wassalamu Alaikum Wr. Wb.

Makassar, 20 Mei 2022

Penulis

ABSTRAK

UMMU KALZUM MALIK. Rasio sel T sitotoksik CD8⁺ dan sel T regulator FOXP3⁺ Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal
(Dibimbing oleh Upik A. Miskad, Muh. Husni Cangara, Gita Vita Soraya)

Saat ini, insiden kanker kolorektal merupakan kedua terbanyak di dunia dengan angka kematian yang tinggi. Peran sel T sitotoksik dan sel T regulator sebagai bagian dari Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) terkait dengan mekanisme antitumor dan respon imun pro-tumor masih menjadi isu penting dalam beberapa tahun terakhir, terutama pada kanker kolorektal.

Tujuan: Menganalisis perbedaan jumlah dan ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik, FOXP3⁺ sel T regulator dan ratio CD8⁺/FOXP3⁺ antara adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*.

Metode: Penelitian cross sectional pada 81 sampel blok parafin jaringan adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal CD8 dan FOXP3.

Hasil: Dari total 81 sampel dengan uji *Mann-Whitney U* menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna jumlah T sitotoksik CD8⁺ dan rasio jumlah sel T CD8⁺/FOXP3⁺ antara adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* ($p < 0,05$). Untuk densitas ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik dan rasio ekspresi CD8⁺/FOXP3⁺ dengan uji Chi-square diperoleh perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Rasio jumlah dan ekspresi sel T CD8⁺/FOXP3⁺ serta jumlah dan ekspresi sel T sitotoksik CD8⁺ tinggi pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dibandingkan *high-grade*. Rasio sel T CD8⁺/FOXP3⁺ dapat menjadi salah satu komponen penilaian prognostik pada adenokarsinoma kolorektal.

Kata kunci: Adenokarsinoma kolorektal *low-grade*, adenokarsinoma kolorektal *high-grade*, TILs, sel T sitotoksik, sel T regulator, CD8⁺, FOXP3⁺, rasio CD8⁺/FOXP3⁺.

ABSTRAC

UMMU KALZUM MALIK. Ratio of CD8⁺ cytotoxic T cells and FOXP3⁺ regulatory T cells Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) in Colorectal Adenocarcinoma

(Supervised by Upik A. Miskad, Muh. Husni Cangara, Gita Vita Soraya)

Currently, the incidence of colorectal cancer is the second largest in the world with a high mortality rate. The role of cytotoxic T cells and regulatory T cells as part of Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) related to antitumor mechanisms and pro-tumor immune responses is still an important issue in recent years, especially in colorectal cancer.

Objective: This study aimed to analyze the differences in the number and expression of CD8⁺ cytotoxic T cells, FOXP3⁺ regulatory T cells and the CD8⁺/FOXP3⁺ ratio between low-grade and high-grade colorectal adenocarcinoma.

Methods: Cross sectional study on 81 samples of low-grade and high-grade colorectal adenocarcinoma tissue paraffin blocks. Immunohistochemical staining was performed using CD8 and FOXP3 monoclonal antibodies.

Results: From a total of 81 samples, the Mann-Whitney U test showed that there was a significant difference in the number of CD8⁺ T cells and the ratio of the number of CD8⁺/FOXP3⁺ T cells between low-grade and high-grade colorectal adenocarcinomas ($p < 0.05$). For the density of CD8⁺ expression of cytotoxic T cells and the ratio of CD8⁺/FOXP3⁺ expression by Chi-square test, there were significant differences ($p < 0.05$).

Conclusion: The ratio of the number and expression of CD8⁺/FOXP3⁺ T cells and the number and expression of CD8⁺ cytotoxic T cells was high in low-grade colorectal adenocarcinoma compared to high-grade. CD8⁺/FOXP3⁺ T cell ratio can be a component of the prognostic assessment of colorectal adenocarcinoma.

Keywords: Low-grade colorectal adenocarcinoma, high-grade colorectal adenocarcinoma, TILs, cytotoxic T cells, regulatory T cells, CD8⁺, FOXP3⁺, CD8⁺/FOXP3⁺ ratio.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR.....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	viii
ABSTRAC.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Manfaat penelitian.....	5
1.5.1 Pengembangan Ilmu.....	5
1.5.2 Aplikasi Medis.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Anatomi dan Histologi.....	7
2.2 Kanker Kolorektal.....	10
2.2.1 Defenisi.....	10
2.2.2 Jenis Kanker Kolorektal.....	10
2.2.3 Karsinogenesis.....	10
2.2.4 Sistem Grading.....	11
2.2.5 Sistem Staging.....	12
2.3 Respon Imun Terhadap Tumor.....	12
2.4 Limfosit T.....	18
2.4.1 Limfosit T Sitotoksik CD8.....	20
2.4.2 Limfosit T Regulator FOXP3 ⁺	23
2.5 Limfosit T Sitotoksik CD 8 ⁺ dan Limfosit T Regulator FOXP3 ⁺ pada TILs Adenokarsinoma Kolorektal.....	26
2.6 Kerangka Teori.....	30
BAB III KERANGKA KONSEP.....	31
3.1 Konsep Penelitian.....	31
3.2 Identifikasi Variabel.....	31
3.3 Klasifikasi Variabel.....	31
BAB IV METODE PENELITIAN.....	33
4.1 Desain Penelitian.....	33
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
4.3 Populasi Penelitian.....	33
4.4 Sampel dan Cara Pengambilan Sampel.....	33
4.5 Perkiraan Besaran Sampel.....	33
4.6 Kriteria Sampel.....	34
4.6.1 Kriteria Inklusi.....	34

4.6.2 Kriteria Eksklusi.....	34
4.7 Prosedur Kerja.....	34
4.7.1 Prosedur Pewarnaan Hematoksilin-Eosin	34
4.7.2 Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia.....	35
4.7.3 Interpretasi Hasil Pewarnaan Imunohistokimia	36
4.8 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	36
4.8.1 Definisi Operasional	36
4.8.2 Kriteria Objektif.....	38
4.9 Pengolahan dan Analisa Data	39
4.10 Alur Penelitian.....	40
4.11 Personil Penelitian	40
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	41
5.1 Hasil Penelitian	41
5.1.1 Karakteristik Sampel	41
5.1.2 Sel T Sitotoksik CD8 ⁺ , Sel T regulator FOXP3 ⁺ dan Rasio CD8 ⁺ /FOXP3 ⁺ Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal Low-grade dan High-grade.....	43
5.2 Pembahasan.....	52
5.2.1 Karakteristik Sampel	53
5.2.2 Hitung Jumlah Sel T Sitotoksik CD8 ⁺ dan Ekspresi CD8 ⁺ Sel T Sitotoksik Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) berdasarkan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal.....	55
5.2.3 Hitung Jumlah Sel T Regulator FOXP3 ⁺ dan Ekspresi FOXP3 ⁺ Sel T regulator Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) berdasarkan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal	59
5.2.4 Analisis Rasio CD8 ⁺ / FOXP3 ⁺ Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) berdasarkan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal.....	63
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	68
6.1 Kesimpulan	68
6.2 Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN	76

DAFTAR SINGKATAN

APC	Antigen-Presenting Cell
CD8	Cluster of Differentiation 8
CD4	Cluster of Differentiation 4
CIN	Chromosomal Instability
CIMP	CpG Island Methylator Phenotype
CLP	Common Lymphoid Progenitor
CTL	Cytotoxic T Lymphocyte
CTLA-4	Cytotoxic T Lymphocyte Associated Protein 4
CRC	Colorectal Cancer
CXCL9	CXC Ligand 9
CXCL10	CXC Ligand 10
CXCL 11	CXC Ligand 11
DC	Dendritic Cell
FasL	Fas ligan
FOXP3	Forkhead Box Protein 3
HDI	Human Development Index
HIF	Hypoxia Inducible Factor
HLA1	Human leukocyte antigen-1
HSC	Hematopoietic Stem Cell
IP-10	Interferon-Inducible Protein-10
IFN- γ	Interferon γ
I-TAC	Interferon-Inducible T Cell Chemoattractant
IL-2	Interleukin 2
LPB	Lapangan Pandang Besar
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIG	Monokine Induced by IFN- γ
MDSC	Myeloid-derived suppressor cell
MSI	Microsatellite Instability
NK	Natural Killer
NKT	Natural Killer T
PD-1	Programmed Death-1
PDL-1	Programmed Death Ligand-1
TAA	Tumor Associated Antigen
TCR	T Cell Receptor
TILs	Tumor Infiltrating Lymphocytes
Th	Set T helper
Treg	Set T regulator
TSA	Tumor Spesifik Antigen
TGF β	Transforming Growth Factor β
WHO	World Health Organization

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Anatomi kolorektal	8
Gambar 2	Histologi kolorektal yang menunjukkan empat lapisan dinding usus besar.....	9
Gambar 3	Fase Eliminasi Immunoediting Kanker.....	15
Gambar 4	Fase Immunoediting Kanker.....	16
Gambar 5	Perkembangan Sel T di Timus.....	19
Gambar 6	Aktivasi dan Reaksi Sel T CD8.....	21
Gambar 7	Mekanisme Pembunuhan Sel Target yang dimediasi CTL/ sel T CD8 ⁺	22
Gambar 8	Mekanisme imunosupresi oleh sel T regulator.....	24
Gambar 9	Cancer Immunoediting pada Perkembangan Adenokarsinoma Kolorektal	27
Gambar 10	FOXP3 pada onkogenesis dan perkembangan tumor ..	29
Gambar 11	Kerangka Teori	30
Gambar 12	Kerangka Konsep	31
Gambar 13	Alur penelitian	40
Gambar 14	Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal	42
Gambar 15	Ekspresi CD8 ⁺ Sel T Sitotoksik Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal <i>Low-Grade</i>	44
Gambar 16	Ekspresi CD8 ⁺ Sel T Sitotoksik Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal <i>High-Grade</i>	45
Gambar 17	Ekspresi FOXP3 ⁺ Sel T Regulator Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal <i>Low-Grade</i>	46
Gambar 18	Ekspresi FOXP3 ⁺ Sel T Regulator Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada Adenokarsinoma Kolorektal <i>High-Grade</i>	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Kriteria derajat histologi adenokarsinoma kolorektal.....	12
Tabel 2	Karakteristik Sampel	41
Tabel 3	Perbandingan nilai median, nilai minimum dan maksimum jumlah sel T sitotoksik CD8 ⁺ , sel T regulator FOXP3 ⁺ , dan rasio CD8 ⁺ / FOXP3 ⁺ Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal <i>low-grade</i> dan <i>high-grade</i>	48
Tabel 4	Hubungan antara Ekspresi CD8 ⁺ sel T Sitotoksik, FOXP3 ⁺ Sel T regulator dan Rasio CD8 ⁺ / FOXP3 ⁺ Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) dengan Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal	51

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolorektal adalah keganasan yang terjadi pada struktur usus besar yang merupakan traktus gastrointestinal dan memperlihatkan diferensiasi kelenjar atau musin (Nagtegaal, Arends, & M, 2019). Berdasarkan data *The Global Cancer Observatory* bahwa pada tahun 2020 kanker kolorektal merupakan penyakit keganasan kedua terbanyak di dunia mencapai 1,8 juta kasus baru dengan angka kematian mencapai 915.880 yang diperkirakan akan meningkat sebesar 3 kali lipat menjadi lebih dari 4,3 juta kasus baru dan 2,3 juta kematian akibat kanker kolorektal pada tahun 2040 (Arnold et al., 2017; Sung et al., 2021)

Untuk kawasan Asia Tenggara, jumlah pasien baru kanker kolorektal berada pada urutan ke ketiga setelah kanker payudara dan paru-paru. Di Asia Tenggara, Indonesia berada pada urutan pertama jumlah pasien baru kanker kolorektal tahun 2020 sebanyak 34.189 dengan angka kematian mencapai 17.786 kasus. Di Makassar, berdasarkan data dari Rumah Sakit Pendidikan Dr. Wahidin Sudirohusodo (RSWS) tercatat lebih dari 200 kasus kanker kolorektal tipe Adenokarsinoma selama tahun 2019 (Data primer 2019 dari Laboratorium Patologi Anatomi RSWS).

Dari data *The Global Cancer Observatory* bahwa pada tahun 2020 tampak bahwa kanker kolorektal merupakan masalah serius bagi negara-negara dengan Human Development Index (HDI) tinggi dan sangat tinggi, termasuk diantaranya negara-negara yang mengalami transisi perkembangan sosial-ekonomi dimana Insiden kanker kolorektal meningkat searah dengan peningkatan asupan makanan hewani serta pola hidup yang menunjukkan penurunan aktivitas fisik serta peningkatan prevalensi kelebihan berat badan. Walaupun Indonesia berada pada level HDI menengah namun jumlah kasus baru kanker kolorektal merupakan yang tertinggi di Asia Tenggara, sehingga perlu mendapatkan perhatian khusus.

Kanker kolorektal merupakan hasil dari proses irreversibel pertumbuhan dan diferensiasi tidak terkontrol sel-sel jaringan kolorektal. Perkembangan tumor diatur tidak hanya oleh perubahan genetik sel tumor tetapi juga oleh faktor epigenetik dan lingkungan. Mekanisme reaksi imunitas tubuh terhadap sel kanker sangat kompleks dan masih banyak yang perlu digali terutama pada proses pertumbuhan tumor (*cancer immunoediting*) (Deschoolmeester, Baay, Lardon, Pauwel, & Peeters, 2011).

Tumor diinfiltrasi oleh populasi sel imun yang heterogen yaitu limfosit, sel *natural killer* (NK) dan makrofag. Limfosit yang ditemukan langsung pada lingkungan tumor (intra-epitel dan stroma tumor) disebut *tumor infiltrating lymphocytes* (TILs) (Jakubowska, Kisielewski, Kańczuga-Koda, Koda, & Famulski, 2017). TILs merupakan fenotip dari sel limfosit T CD8⁺, T CD4⁺ dan sel T regulator. Sel T CD8⁺ yang telah berdiferensiasi menjadi sel T efektor dikenal sebagai Cytotoxic T Lymphocyte (CTL) CD8⁺ sedangkan sel T CD4⁺ berdiferensiasi menjadi sel T-helper (Th) dan T-regulator (Treg) (Abbas, Lichtman, Pillai, Lichtman, & Pillai, 2016; Wahid & Miskad, 2016).

Limfosit T sitotoksik (CTL) CD8⁺ merupakan sel yang memegang peranan penting dalam imunitas anti tumor di kanker kolorektal. Limfosit T sitotoksik CD8⁺ memiliki kemampuan untuk membunuh sel target setelah terpapar antigen sel tumor / kompleks human leukocyte antigen 1 (HLA 1) yang memiliki reseptor sel T spesifik. Jakubowska et al. menemukan bahwa TILs dalam hal ini sel T CD8⁺ memiliki hubungan yang signifikan dengan pertumbuhan, invasi, metastasis pada kanker kolorektal dan begitu pula pada beberapa penelitian di organ lainnya (Hu, Sun, Chen, Zheng, & Jiang, 2019; Indiralia, Rahniayu, & Mustokoweni, 2018; Jakubowska et al., 2017; Sideras et al., 2018). Oleh Miskad et al dalam penelitiannya yang mengamati ekspresi Programmed death-ligand 1 (PD-L1) dengan derajat TILs stroma pada adenokarsinoma kolorektal, menyimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi PD-L1 sel tumor dengan derajat TILs pada adenokarsinoma kolorektal. Hasil ini menunjukkan bahwa

derajat TILs berpotensi digunakan sebagai faktor prediktif ekspresi PD-L1 sel tumor pada adenokarsinoma kolorektal (Miskad et al., 2020).

Sebanyak 5-10% dari sel T CD4⁺ akan berdiferensiasi menjadi limfosit T regulator (Treg) yang merupakan sel T immunosupresi yang dapat memediasi penekanan lokal imunitas anti tumor. Penanda definitif sel T regulator yang dipergunakan luas saat ini adalah Forkhead Box Protein 3 (FOXP3⁺). FOXP3⁺ merupakan pengatur dalam pengembangan dan fungsi sel T regulator. Sel T regulator FOXP3⁺ dapat menekan aktivitas sel T CD8⁺ dan oleh karena itu dianggap menurunkan imunitas spesifik tumor (Deschoolmeester et al., 2011; Li, Li, Tsun, & Li, 2015; Ling, Edin, Wikberg, Öberg, & Palmqvist, 2014). Dalam beberapa penelitian, sel T regulator FOXP3⁺ telah terbukti berkorelasi dengan penurunan aktivasi sel T konvensional (Ling, et al., 2014), tetapi datanya saling bertentangan. Sejalan dengan fungsi penekanan lokal imunitas anti tumor, sel T regulator dikaitkan dengan hasil yang merugikan pada karsinoma ovarium, payudara dan karsinoma hepatoseluler tetapi tidak ditemukan secara signifikan prognosis seperti pada karsinoma esofagus (Deschoolmeester et al., 2011; Ladoire, Martin, & Ghiringhelli, 2011). Kepadatan sel T CD8⁺, sel T CD4⁺ dan sel T regulator FOXP3⁺ yang tinggi dikaitkan dengan peningkatan ketahanan hidup pasien kanker terutama CRC (Kuwahara et al., 2019).

Banyaknya penelitian yang menunjukkan bahwa derajat TILs berpotensi digunakan sebagai faktor prognostik serta masih adanya perdebatan tentang peranan sel T CD8⁺ dan sel T regulator FOXP3⁺ pada kanker kolorektal, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat jumlah dan ekspresi CD8⁺ sel T Sitotoksik dan FOXP3⁺ sel T Regulator *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dan selanjutnya akan melihat perbandingan rasio CD8⁺/ FOXP3⁺ TILs pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian yang telah dilakukan oleh Miskad et al, 2020 dengan menggunakan sampel jaringan adenokarsinoma kolorektal di Makassar.

1.2 Rumusan Masalah

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

- Apakah terdapat perbedaan jumlah sel T sitotoksik dan sel T regulator FOXP3⁺ *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*?
- Apakah terdapat perbedaan ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik dan FOXP3⁺ sel T regulator *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*?
- Apakah terdapat perbedaan rasio jumlah dan ekspresi CD8⁺/FOXP3⁺ sel T *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Melihat perbedaan jumlah sel T sitotoksik CD8⁺ dan sel T regulator FOXP3⁺ *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*
2. Melihat perbedaan ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik dan FOXP3⁺ sel T regulator *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*.
3. Melihat perbedaan rasio jumlah dan rasio ekspresi CD8⁺/FOXP3⁺ *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan jumlah sel T Sitotoksik CD8⁺ *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dengan pewarnaan imunohistokimia.
2. Menentukan jumlah sel T Regulator FOXP3⁺ *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dengan pewarnaan imunohistokimia.

3. Menentukan rasio jumlah CD8⁺/FOXP3⁺ sel T *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dengan pewarnaan imunohistokimia.
4. Menentukan ekspresi CD8⁺ sel T Sitotoksik *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dengan pewarnaan imunohistokimia.
5. Menentukan ekspresi FOXP3⁺ sel T Regulator *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dengan pewarnaan imunohistokimia.
6. Menentukan rasio ekspresi CD8⁺/FOXP3⁺ sel T *Tumor Infiltrating Lymphocytes* (TILs) pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* dan *high-grade* dengan pewarnaan imunohistokimia.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* ditemukan jumlah sel T sitotoksik CD8⁺ TILs lebih banyak dan densitas ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik TILs lebih tinggi dibandingkan pada *high-grade*.
2. Pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* ditemukan jumlah sel T regulator FOXP3⁺ lebih sedikit dan densitas ekspresi FOXP3⁺ sel T regulator TILs lebih rendah dibandingkan pada *high-grade*.
3. Pada adenokarsinoma kolorektal *low-grade* ditemukan rasio jumlah CD8⁺/FOXP3⁺ TILs lebih tinggi dan rasio ekspresi CD8⁺/FOXP3⁺ TILs lebih tinggi dibandingkan pada *high-grade*.

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Pengembangan Ilmu

1. Memberikan informasi ilmiah tentang konsep biologis Limfosit T sitotoksik CD8⁺ dan Limfosit T regulator FOXP3⁺ pada adenokarsinoma kolorektal.

2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama aspek imunologi pada kanker kolorektal.

1.5.2 Aplikasi Medis

Data penelitian ini dapat digunakan sebagai faktor prognostik penderita kanker kolorektal terutama untuk kepentingan terapi.

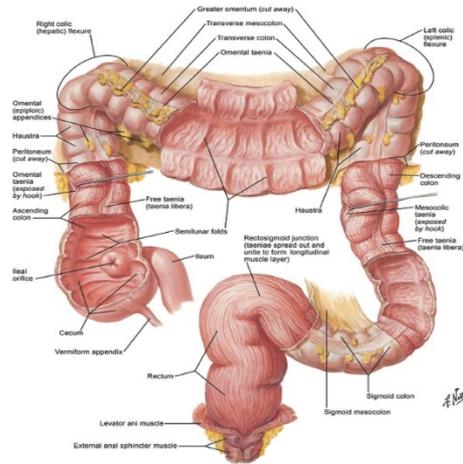
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi dan Histologi

Saluran cerna bagian bawah atau biasa disebut sebagai usus besar, memanjang dari ileum terminal ke kanalis anus. Usus besar berfungsi untuk re-absorpsi air dan elektrolit serta membentuk bahan-bahan yang tidak dapat dicerna menjadi feses padat. Usus besar terdiri dari sekum dengan katup ileosekal dan apendiks, kolon asenden, kolon transversum, kolon desenden, dan kolon sigmoid. Sigmoid bersambungan dengan rektum, yang berakhir pada kanalis anus. Kecuali saluran anus, struktur usus besar hampir sama seluruhnya. Pada makroskopik dapat ditemukan ciri khas dari usus besar: 1) Teniae coli, yaitu tiga pita memanjang yang mengalami penyempitan, penebalan dan berjarak sama dari lapisan longitudinal muskularis eksterna terutama di sekum dan kolon, 2) Haustra coli, yaitu sakulasi/kantong besar dari dinding yang terlihat antara teniae coli pada permukaan luar sekum dan kolon, 3) Omental/epiploic appendices, yaitu serosa berupa kantong lemak kecil di permukaan kolon (Mescher, 2016; Ross & Pawlina, 2011; Treuting, Arends, & Dintzis, 2018).

Secara umum, pembagian anatomi usus besar didasarkan pada struktur dan lokasinya. Kolon kanan terdiri dari sekum, apendiks, kolon asenden dan kolon transversal hingga garis tengah. Kolon kiri dimulai pada garis tengah kolon transversal, kolon desenden, sigmoid serta rektum. Sekum merupakan kantong berongga yang muncul dari segmen proksimal kolon yang terletak di distal katup ileocecal. Ukurannya 6 cm hingga 9 cm dan diliputi oleh peritoneum (Treuting et al., 2018).

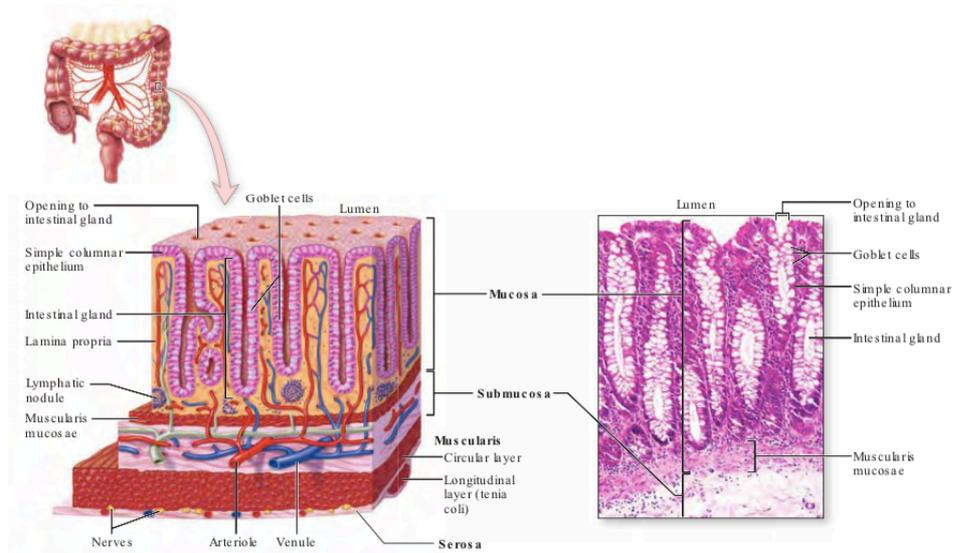
Kolon ascenden berukuran panjang 15-20 cm dengan permukaan posteriornya (maupun kolon descenden) hanya memiliki sedikit peritoneum sehingga kontak langsung dengan retroperitoneum. Sebaliknya, permukaan anterior dan lateral dari kolon ascenden (dan kolon descenden) memiliki serosa dan berada intraperitoneal. Fleksura hepatica menghubungkan kolon ascenden dengan kolon transversum melewati hanya bagian inferior ke hepar dan anterior ke duodenum.



Gambar 1. Anatomi kolorektal (Treuting et al., 2018)

Kolon transversum sepenuhnya intraperitoneal, ditunjang oleh mesenterium panjang yang melekat pada pankreas. Fleksura splenik menghubungkan kolon transversum ke kolon descenden, melewati bagian inferior ke limpa dan anterior ke cauda pankreas. Ukuran kolon descendens sepanjang 10–15 cm. Kolon kembali lagi menjadi sepenuhnya intraperitoneal di kolon sigmoid, di mana mesenterium berkembang pada batas medial dari otot psoas major posterior belakang dan meluas ke rektum. Transisi dari kolon sigmoid ke rektum ditandai oleh fusi tenia dari kolon sigmoid untuk membentuk otot longitudinal sirkumferensial dari rektum yang berada kira-kira 12–15 cm dari linea dentata (AJCC, 2006).

Rektum memiliki panjang sekitar 12 cm, memanjang di proksimal dari fusi tenia ke puborektalis ring di distal. Rektum diliputi oleh peritoneum di depan dan di kedua sisi pada sepertiga atas dan hanya di dinding anterior pada sepertiga bagian tengahnya. Peritoneum direfleksikan di lateral dari rektum untuk membentuk fossa perirektal dan di anterior, uterus atau lipatan rektovesikal. Tidak ada lapisan peritoneal di sepertiga bawah, yang sering diketahui sebagai ampula rektum. Kanalis anal, yang panjangnya 3-5 cm, memanjang dari puborektalis sling ke anal verge (AJCC, 2006).



Gambar 2. Histologi kolorektal yang menunjukkan empat lapisan dinding usus besar usus besar. (Mescher, 2016)

Histologi dinding usus besar terdiri dari empat lapisan :(Mescher, 2016)

1. Lapisan mukosa, terutama mengandung kelenjar intestinal tubular yang berada hingga ke muskularis mukosa, dilapisi oleh sel-sel goblet dan sel absortif dengan sejumlah kecil sel-sel neuroendokrin. Sel-sel absortif kolumnar atau kolonosit memiliki mikrovili yang iregular dan ruang interselular yang berdilatasi untuk absorpsi cairan yang aktif. Sel-sel goblet yang memproduksi mukus lubrikan menjadi lebih banyak di sepanjang kolon dan rektum. Stem cell epitelial berada pada sepertiga bawah setiap kelenjar.
2. Lapisan submukosa, memiliki vaskularisasi yang baik.
3. Lapisan muskularis, memiliki lapisan sirkuler yang khas, dengan otot longitudinal luar hanya ada pada tenia coli.
4. Lapisan serosa, dengan adventisia pada rektum.

Pada kanalis anal, epitel kolumnar yang melapisi rektum berubah menjadi epitel skuamous berlapis dari kulit anus. Di dekat anus, lapisan sirkular dari muskularis rektum membentuk spinkter anus interna, dengan kontrol selanjutnya oleh otot stria dari spinkter anus eksterna (Mescher, 2016).

2.2 Kanker Kolorektal

2.2.1 Defenisi

Kanker kolorektal didefinisikan sebagai keganasan 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 (Stanley R. Hamilton & Lauri A. Aaltonen, M.D., 2000).

2.2.2 Jenis Kanker Kolorektal

Menurut jenis histopatologinya, kanker kolorektal memiliki berbagai macam jenis. Dari berbagai penelitian yang dilakukan mengenai kanker kolorektal, jenis yang paling banyak ditemukan adalah adenokarsinoma. Lebih dari 90% karsinoma kolorektal adalah adenokarsinoma. Karsinoma kolorektal jenis lainnya yang lebih jarang meliputi karsinoma neuroendokrin, sel skuamous, sel spindel dan *undifferentiated carcinoma* (Fleming, Ravula, Tatishchev, & Wang, 2012).

Lebih dari 90% karsinoma kolorektal merupakan adenokarsinoma yang berasal dari sel-sel epitel mukosa kolorektal. Adenokarsinoma konvensional dicirikan oleh adanya formasi glandular yang menjadi dasar dalam grading histopatologi kanker kolorektal (Fleming et al., 2012). Pada penelitian mengenai gambaran histologi kanker kolorektal dari tahun 1998-2001 di Amerika Serikat dengan 522.630 kasus kanker kolorektal didapatkan gambaran histopatologik dari karsinoma kolorektal sebesar 96% berupa adenokarsinoma, 2% karsinoma lainnya (termasuk karsinoid tumor), 0,4% epidermoid carcinoma, dan 0,08% berupa sarcoma (Stewart, Wike, Kato, Lewis, & Michaud, 2006).

2.2.3 Karsinogenesis

Mekanisme terjadinya kanker kolorektal dianggap merupakan kejadian molekuler yang heterogen termasuk faktor genetik dan epigenetik. Setidaknya terdapat 2 jalur genetik yang telah dikenal luas yaitu melalui jalur *chromosomal instability* (CIN) dan jalur *microsatellite instability* (MSI).

Kedua jalur ini merupakan akumulasi dari berbagai mutasi, akan tetapi berbeda dalam hal gen-gen yang terlibat pada masing-masing jalur. Sementara faktor epigenetik, paling sering disebabkan oleh proses metilasi yang kemudian menginduksi *gene silencing*, dan dapat meningkatkan progresifitas pada kedua jalur tersebut (CpG island methylator phenotype/CIMP) (Kumar, Abbas, & Aster, 2015).

Sekitar 5% dari semua kanker kolorektal disebabkan oleh mutasi genetik yang diwariskan, dan sisanya 95% kasus terdapat sekitar 20% kasus memiliki riwayat keluarga yang terkena namun tidak dapat dikategorikan ke sindrom kanker kolorektal herediter mana pun. Hal ini mungkin disebabkan oleh perubahan genetik sekunder akibat predisposisi yang diwariskan atau faktor dari diet dan lingkungan. (Dintinjana, Redzović, & Dintinjana, 2014)

2.2.4 Sistem Grading

Sistem grading berdasarkan World Health Organization (WHO), yang mengklasifikasikan adenokarsinoma kolorektal menjadi 4 kategori diferensiasi yang terbagi menjadi 2 derajat deskriptif (grade) seperti pada tabel 1 (Stanley R. Hamilton & Lauri A. Aaltonen, M.D., 2000).

Klasifikasi yang dikemukakan oleh C. Dukes (1929-1935) memberikan dasar pada berbagai sistem stadium yang digunakan sekarang. Klasifikasi ini terbagi menjadi 2 gambaran histopatologi, yaitu kedalaman penetrasi ke dalam dinding dan ada atau tidaknya metastase pada kelenjar limfe regional. Klasifikasi TNM menggantikan klasifikasi Dukes (Stanley R. Hamilton & Lauri A. Aaltonen, M.D., 2000).

Tabel 1. Kriteria derajat histologi adenokarsinoma kolorektal

Criterion	Differentiated category	Numerical grade	Descriptive grade
>95% with gland formation	Well differentiated	1	Low
50-95% with gland formation	Moderately differentiated	2	Low
>0-49% with gland formation	Poorly differentiated	3	High
High level of microsatellite instability ^b	Variable	Variable	Low

^aThe category "undifferentiated carcinoma" (grade 4) is reserved for carcinomas with no gland formation, mucin production, or neuroendocrine, squamous or sarcomatoid differentiation; ^bMSI-H

2.2.5 Sistem Staging

Klasifikasi staging (pentahapan) kanker digunakan untuk menentukan luas atau ekstensi kanker dan nilai prognostik pasien. Sistem yang paling banyak digunakan adalah sistem TNM yang dibuat oleh American Joint Committee on Cancer (AJCC) dan International Union for Cancer Control (UICC). Sistem ini mengklasifikasi ekstensi tumor primer (T), kelenjar getah bening regional (N) dan metastasis jauh (M), sehingga staging akan dinilai berdasarkan T, N dan M. Klasifikasi TNM yang terbaru adalah TNM edisi ke 8 dan mulai digunakan pada 2017 (Nagtegaal et al., 2019).

2.3 Respon Imun Terhadap Tumor

Tubuh memiliki proteksi sistem imun terhadap timbulnya tumor. Sistem imun mencegah pertumbuhan berlebihan sel yang bertransformasi dan menghancurkan sel-sel tersebut sebelum menjadi tumor yang berbahaya. Penelitian dalam beberapa dekade terakhir membuka wawasan tentang peranan sel imun pada pertumbuhan, invasi dan metastasis, serta tentang berbagai kemungkinan mengapa sel tumor dapat mengelak atau melepaskan diri (escape) dari sistem imun. Penolakan sistem imun terhadap tumor dapat terjadi dikarenakan tumor memiliki antigen permukaan yang disebut dengan tumor spesifik antigen (TSA) atau *tumor associated antigen* (TAA). Adapun mekanisme tubuh dalam mencegah

timbulnya tumor melalui mekanisme imun non spesifik dan spesifik yang melibatkan imunitas humoral dan selular (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2017; Deschoolmeester et al., 2011).

Pengendalian dan eliminasi sel ganas oleh sistem imun disebut sebagai *immune surveillance*. Konsep *immune surveillance* oleh Macfarlane Burnet pada tahun 1950-an, menyatakan bahwa fungsi fisiologis sistem imun adalah untuk mengenali dan menghancurkan klon sel yang bertransformasi sebelum sel tersebut tumbuh menjadi tumor, dan membunuh tumor yang sudah terbentuk. Keberadaan *immune surveillance* ditunjukkan dengan peningkatan insiden beberapa jenis tumor pada *immunocompromised experimental* pada hewan dan manusia. Baru-baru ini, dipelajari bahwa reaksi imun tidak efektif terhadap banyak kanker pada manusia, tetapi reaksi imun tersebut dapat diaktifkan kembali untuk menghancurkan tumor (Abbas et al., 2017).

Menurut Dunn, terminologi yang lebih luas dan lebih tepat adalah "*cancer immunoediting*" yang mencakup 3 proses yaitu 3 E : elimination, equilibrium, dan escape. (Dunn, Bruce, Ikeda, Old, & Schreiber, 2002)

1. Fase Elimination

Merupakan konsep yang sebenarnya dari *immune surveillance* kanker. Ketika berhasil membunuh tumor yang sedang berkembang berarti proses editing berhasil dan tidak masuk ke tahap selanjutnya. Fase ini terdiri dari empat fase yaitu:

a. Fase pertama

Ketika tumor solid mencapai ukuran tertentu, tumor ini mulai bertumbuh dan membutuhkan suplai darah. Pertumbuhan yang invasif menyebabkan gangguan pada jaringan sekitarnya yang akan menginduksi sinyal inflamasi sehingga menyebabkan rekrutmen sel sistem imun innate yaitu Natural Killer T (NKT), *Natural Killer* (NK), sel T $\gamma\delta$, makrofag dan sel dendritik, kemudian sel inflamasi ini berkumpul ke daerah tumor. Infiltrat sel limfosit seperti NK, NKT dan sel T $\gamma\delta$ akan mengenali akumulasi sel yang telah bertransformasi, kemudian menstimulasi produksi IFN- γ .

b. Fase kedua

IFN- γ yang telah diproduksi menyebabkan kematian tumor dalam jumlah tertentu melalui mekanisme anti proliferasi dan apoptosis. Selain itu, IFN- γ juga memicu produksi kemokin CXCL10 (interferon-inducible protein-10, IP-10), CXCL9 (monokine induced by IFN- γ , MIG) dan CXCL 11 (interferon-inducible T cell chemoattractant, I-TAC) dari sel tumor itu sendiri dan juga dari jaringan normal sekitarnya. Beberapa kemokin tersebut di atas memiliki kapasitas angiostatik yang poten dan dapat menghambat pertumbuhan pembuluh darah baru pada tumor, sehingga dapat mengakibatkan kematian pada sel tumor. Debris sel tumor yang terbentuk akibat langsung maupun tidak langsung dari produksi IFN- γ pada tumor akan dicerna oleh sel dendritik. Kemokin yang diproduksi selama proses inflamasi akan menarik lebih banyak sel-sel NK dan makrofag ke lokasi inflamasi.

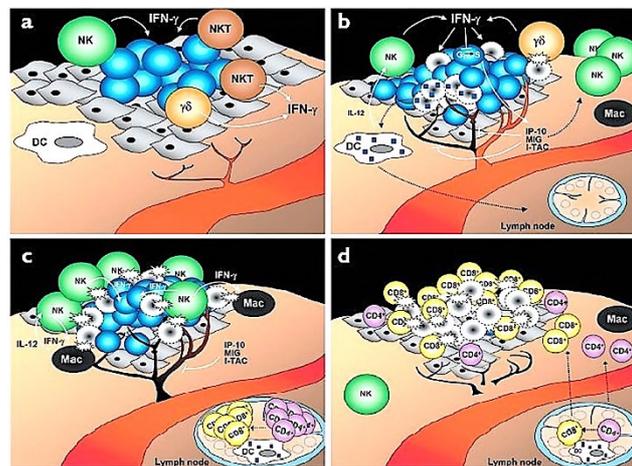
c. Fase ketiga

Sel NK dan makrofag yang menginfiltrasi tumor akan berinteraksi secara timbal balik (sel NK memproduksi IFN- γ dan makrofag memproduksi IL-12), dan membunuh lebih banyak sel tumor melalui mekanisme yang melibatkan *tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand*, perforin dan *reactive oxygen* serta *nitrogen intermediate*. Pada kelenjar limfe, sel dendritik matur yang telah memiliki antigen akan bermigrasi dan menginduksi aktivasi sel T helper 1 (Th1) CD4⁺ naif dan spesifik terhadap tumor, kemudian akan memfasilitasi perkembangan sel T sitotoksik CD8⁺ melalui presentasi silang peptide antigen tumor pada molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas 1 sel dendritik.

d. Fase keempat

Sel T CD4⁺ dan CD8⁺ akan berjalan ke lokasi tumor dan akan berperan dalam pemusnahan sel tumor yang memiliki antigen. Sel T CD4⁺ akan memproduksi IL-2, bersama-sama dengan IL-15 yang dihasilkan oleh sel penjamu akan membantu fungsi dan viabilitas dari

sel T sitotoksik CD8⁺. Sel T sitotoksik CD8⁺ akan mengenali target tumor secara efisien (karena peningkatan immunogenitas tumor akibat paparan IFN- γ) dan akan menginduksi pemusnahan sel tumor baik langsung maupun tidak langsung. Seperti halnya sel T sitotoksik CD8⁺ memusnahkan sel tumor secara langsung pada in vivo, namun juga akan menghasilkan banyak IFN- γ ketika berinteraksi dengan sel tumor yang pada akhirnya akan menginduksi sitostatis dan pembunuhan sel tumor melalui mekanisme yang dependen terhadap IFN- γ berupa penghambatan siklus sel, apoptosis, angiostatis, dan induksi aktivitas tumorisidal makrofag.



Gambar 3. Fase Eliminasi Immunoediting Kanker. (a) Fase Pertama. (b) Fase Kedua. (c) Fase Ketiga. (d) Fase Keempat. Sel tumor (biru); sel normal (ungu); sel tumor yang mati (gradien putih-hitam); limfosit, sel dendritik (DC) dan makrofag (Mac) (Dunn et al., 2002)

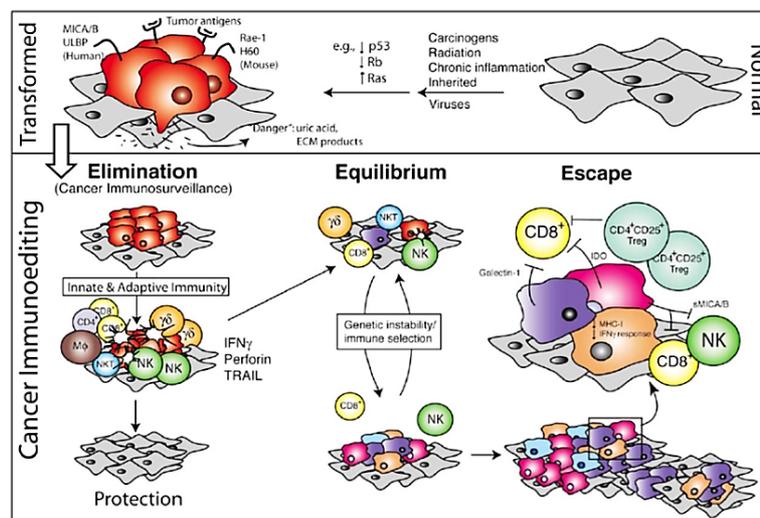
2. Fase *Equilibrium* (Dunn et al., 2002)

Sistem imun host dan sel tumor yang tetap bertahan pada fase *elimination* akan masuk dalam fase *equilibrium*. Pada fase ini, limfosit dan IFN- γ telah menekan sel tumor tetapi tidak sepenuhnya sel tumor dapat dieliminasi. Sel tumor yang tidak dapat dieliminasi adalah sel tumor yang tidak stabil secara genetik dan cepat bermutasi. Hal ini sesuai dengan prediksi Darwin, walaupun banyak sel tumor origin yang musnah, namun varian baru akan berkembang dengan mutasi yang

berbeda dan memiliki resistensi yang lebih tinggi terhadap sistem imun. Fase equilibrium merupakan fase terpanjang dari ketiga fase dan dapat berlangsung bertahun-tahun.

3. Fase Escape (Dunn et al., 2002)

Sel tumor yang bertahan pada fase equilibrium memasuki fase escape, di mana pertumbuhan tumor berlangsung tidak terkendali. Sel tumor yang masih hidup tidak sensitif lagi terhadap imun.



Gambar 4. Fase Immunoediting Kanker (Dunn, Old, & Schreiber, 2004).

Pada gambar di atas tampak Sel normal (abu-abu) mengalami rangsangan onkogenik dan transformasi menjadi sel tumor (merah) (atas). Sel mengekspresikan penanda tumor spesifik, menghasilkan sinyal pro inflamasi dan memicu immunoediting kanker (bawah). Fase eliminasi, molekul imun innate dan adaptif membasmi tumor yang berkembang dan melindungi host dari pembentukan tumor. Jika tidak berhasil, sel tumor memasuki fase equilibrium; bertahan lama dan menghasilkan populasi baru varian tumor. Varian ini dapat menghindari dari sistem imun dengan berbagai mekanisme dan terdeteksi secara klinis pada fase escape (Dunn et al., 2004)

Beberapa mekanisme sel tumor menghindari dari reaksi imun: (Abbas et al., 2017)

a. *Immune checkpoint* dengan menghambat reaksi imun

- Tumor menghindari dari reaksi sel T anti tumor dengan melibatkan molekul inhibitor yang berfungsi untuk mencegah auto imun atau mengatur reaksi imun terhadap mikroba. Reaksi sel T terhadap beberapa tumor dihambat oleh CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4) atau PD-1 (programmed cell death protein-1), merupakan jalur inhibitor terbaik sel T. PD-1 dan CTLA-4 sering meningkat pada infiltrat sel T tumor, konsisten dengan peranannya dalam menghambat fungsi sel T spesifik tumor. Keadaan ini ditandai dengan gangguan fungsi efektor dan peningkatan ekspresi CTLA-4, PD-1, dan molekul inhibitor lainnya. Antigen tumor dipresentasikan oleh APC tanpa imun innate kuat dan dengan costimulator B7 rendah dapat meningkatkan afinitas reseptor CTLA-4 menyebabkan tumor mengeksploitasi CTLA-4 untuk mengatur reaksi anti tumor. Hasil akhirnya adalah penurunan aktivasi sel T sitotoksik CD8⁺ setelah pengenalan antigen tumor.
- Produk yang disekresikan sel tumor dapat menekan reaksi imun anti tumor, yaitu TGF- β , yang disekresikan oleh banyak tumor yang menghambat proliferasi dan fungsi efektor limfosit dan makrofag.
- Sel T regulator dapat menekan reaksi sel T terhadap tumor. Berkurangnya T regulator pada tumor dapat meningkatkan kekebalan anti tumor dan mengurangi pertumbuhan tumor. Namun peran dan nilai prognosis T regulator yang ada pada tumor manusia tetap tidak pasti dan dapat bervariasi di antara jenis tumor.
- *Myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs) adalah prekursor myeloid imatur yang menumpuk di sumsum tulang, jaringan limfoid, darah pada pasien kanker, dan menekan reaksi imun anti tumor bawaan dan sel T yang dimediasi sel. MDSC adalah kumpulan tipe sel yang heterogen, termasuk prekursor sel dendritik, monosit, dan neutrofil. Selain pasien tumor, MDSC juga dapat menumpuk pada jaringan pasien dengan penyakit radang

kronis. MDSC dilaporkan menekan reaksi imun bawaan dan adaptif melalui mekanisme yang berbeda, termasuk sekresi sitokin immunosupresif, seperti IL-10 dan TGF- β , dan prostaglandin, dan membantu diferensiasi T regulator. MDSC pada tumor berkorelasi terhadap gangguan reaksi imun anti tumor, ada banyak celah dalam pengetahuan kita tentang sifat sel ini, bagaimana mereka berkembang dan berfungsi, dan bagaimana mereka dapat ditargetkan untuk tujuan terapeutik. Makrofag M2 yang diaktifkan oleh tumor juga dapat menghambat kekebalan anti tumor dan meningkatkan pertumbuhan tumor.

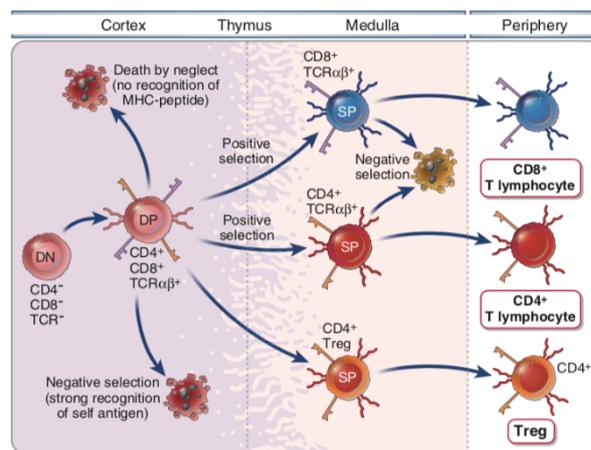
b. Hilangnya ekspresi antigen tumor

Reaksi kekebalan sel tumor memberikan tekanan selektif yang menghasilkan varian sel tumor yang dapat bertahan hidup dan berkembang dengan imunogenitas yang menurun. Dengan adanya mitosis sel tumor yang tinggi dan ketidakstabilan genetik, dapat terjadi mutasi pada gen yang mengkode antigen tumor. Selain hilangnya antigen tumor spesifik, sel tumor dapat menurunkan regulasi ekspresi MHC kelas I dan menyebabkan sel tumor tidak dapat dikenali oleh sel T sitotoksik. Hilangnya ekspresi MHC kelas I merupakan reaksi adaptasi terhadap tekanan seleksi imunitas yang memungkinkan sel tumor untuk menghindari dari reaksi imun yang dimediasi oleh sel T sitotoksik. Tumor yang kehilangan MHC kelas I dapat dikenali oleh sel NK, namun dapat muncul mutasi yang merusak ekspresi ligan sel tumor terhadap reseptor pengaktif sel NK, dan dapat menyebabkan pertumbuhan sub klon yang menghindari dari serangan sel NK.

2.4 Limfosit T

Limfosit T (sel T) merupakan bagian dari imunitas adaptif selular yang mekanisme efekturnya berlangsung atas mediasi sel yang akan menjadi target serangannya yang dikenal sebagai *Cell Mediated Immunity* (CMI) (Wahid & Miskad, 2016).

Sel T berasal dari *Pluripotent Hematopoietic Stem Cell* (HSC) yang berkembang menjadi *Common Lymphoid Progenitor* (CLP), bergerak dari sumsum tulang melalui darah ke timus. CLP di timus kemudian berkembang menjadi limfosit Pro-T yang pada akhirnya akan mengekspresikan *T Cell Receptor* (TCR) $\alpha\beta$ dan $\gamma\delta$ serta koreseptor CD8 (cluster of differentiation 8) dan CD4 (cluster of differentiation 4). CD8 dan CD4 merupakan glikoprotein transmembran yang memiliki kemampuan untuk mengenal sel yang mempresentasikan antigen asing atau *self Major Histocompatibility Complex* (*self MHC*) (Abbas et al., 2017; Wahid & Miskad, 2016).



Gambar 5. Perkembangan Sel T di Timus

Di korteks timus, sel T yang telah mengekspresikan TCR akan mengalami seleksi positif dengan menggunakan *self* antigen sedangkan koreseptor CD4 serta CD8 akan mengalami seleksi positif menggunakan MHC kelas I dan MHC kelas II dari sel epitel timus. Untuk seleksi negatif TCR $\alpha\beta$ akan berlangsung di medulla timus. Sel T mengalami 2 kali seleksi bertujuan agar sel T memiliki kemampuan ganda (*double competencies*) yaitu mengenal antigen asing menggunakan TCR dan mengenal sel sendiri. Pengenalan terhadap sel sendiri oleh sel T dengan TCR $\alpha\beta$ menggunakan molekul CD4 atau CD8 yang akan mengenal molekul MHC yang diekspresikan oleh sel (makrofag dan sel dendritik asal sumsum tulang serta sel epitel timus). Sel T yang mampu mengenal molekul MHC *self* dan

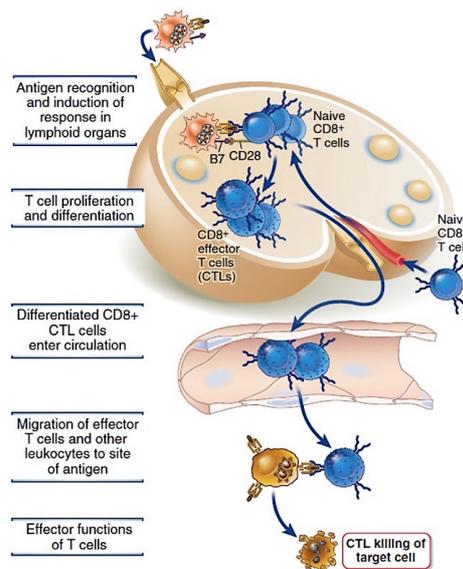
self antigen dengan afinitas lemah akan berkembang menjadi sel T ($\alpha\beta$) matur naif CD8⁺, T ($\alpha\beta$) matur naif CD4⁺ sedangkan Sel T yang mampu mengenal molekul MHC *self* dan *self* antigen dengan afinitas kuat sebagian akan mengalami *clonal deletion* (apoptosis), sebagian lagi diprogram menjadi sel T regulator ($\alpha\beta$) CD4⁺ yang akan menghambat kerja sel T. Sel T regulator yang berkembang di organ limfoid primer lebih dikenal sebagai *natural* T regulator (nTreg). (Abbas et al., 2016, 2017; Sakaguchi, Yamaguchi, Nomura, & Ono, 2008; Wahid & Miskad, 2016).

Sel T matur naif akan meninggalkan timus yang akan masuk ke sirkulasi darah dan *homing* di organ limfoid perifer. Jika sel T matur mengenal antigen (bukan *self*) maka sel T akan teraktivasi menjadi sel T efektor yang akan mengeliminasi antigen dengan berbagai mekanismenya. (Abbas et al., 2017; Wahid & Miskad, 2016).

2.4.1 Limfosit T Sitotoksik CD8

Pembunuhan sel pada imun adaptif dimediasi oleh sel limfosit T sitotoksik, yang merupakan sel T efektor CD8⁺. CD8⁺ merupakan glikoprotein transmembran yang berfungsi sebagai ko-reseptor untuk reseptor sel T. Protein ini memiliki dua jenis isoform, yakni α dan β , dan masing-masing disandikan dengan gen yang berbeda.

Diferensiasi sel T CD8⁺ (CD8⁺ naif) menjadi efekturnya (Sel T sitotoksik fungsional) dengan mengenali antigen yang dipresentasikan sel dendritik. Sel T efektor CD8⁺ kemudian bermigrasi ke jaringan yang mengalami infeksi, pertumbuhan tumor atau rejeksi graft, di mana T efektor CD8⁺ mengenali antigen dan membunuh sel yang memproduksi antigen (Abbas et al., 2017).



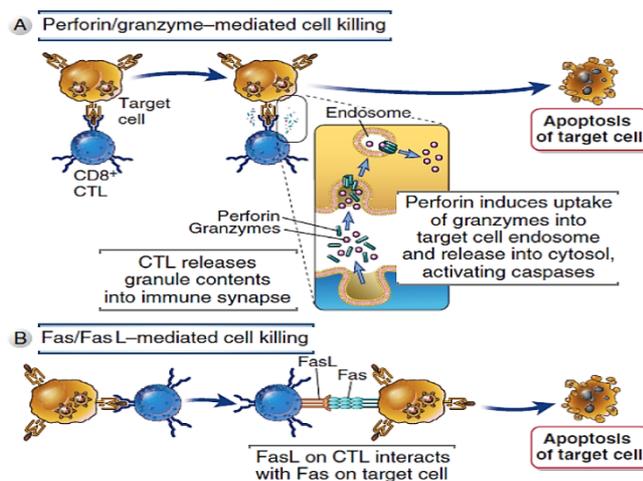
Gambar 6. Aktivasi dan Reaksi Sel T CD8⁺ (Abbas et al., 2017).

Pembunuhan yang dimediasi sel T CD8⁺ melibatkan pengenalan spesifik sel target dan pengiriman protein yang menginduksi kematian sel. Sel T CD8⁺ membunuh target yang mengekspresikan antigen pada MHC kelas I yang memicu proliferasi dan diferensiasi sel T CD8⁺ naif. Sel T CD8⁺ berikatan dan bereaksi terhadap sel target dengan menggunakan reseptor antigen, ko-reseptor (CD8⁺), dan molekul adhesi. Setelah sel T CD8⁺ spesifik antigen berdiferensiasi sepenuhnya menjadi sel T CD8⁺ fungsional, maka sel tersebut sudah dapat membunuh sel berinti yang menampilkan antigen (Abbas et al., 2017).

Mekanisme dasar pembunuhan sel target yang dimediasi sel T CD8⁺ adalah pengiriman protein sitotoksik ke sel target dalam granul sitoplasma (juga disebut lisosom sekretori), sehingga memicu apoptosis sel target. Dalam beberapa menit setelah reseptor dan koreseptor antigen sel T CD8⁺ mengenali kompleks peptida-MHC pada sel target, protein granul sel T CD8⁺ memasuki sel target, dan terjadi kematian 2 hingga 6 jam kemudian (Abbas et al., 2017)

Protein sitotoksik utama dalam granul sel T CD8⁺ (dan sel NK) adalah granzyme dan perforin. Granzyme A, B, dan C adalah protease serin. Granzyme B memotong protein setelah aspartat beresidu dan

merupakan satu-satunya yang menunjukkan sitotoksitas sel T CD8⁺ in vivo. Kemudian mengaktifkan caspase yang menginduksi apoptosis. Perforin adalah molekul yang merusak membran yang homolog dengan protein komplemen C9. Granul juga mengandung proteoglikan yang tersulfasi, serglycin, yang berfungsi untuk menahan granzyme dan perforin pada tahap inaktif. Fungsi utama perforin adalah memfasilitasi pengiriman granzyme ke dalam sitosol sel target. Perforin dapat mempolimerisasi dan membentuk pori-pori pada membran sel target (Abbas et al., 2017).



Gambar 7. Mekanisme Pembunuhan Sel Target yang dimediasi CTL/ sel T CD8⁺ (Abbas et al., 2017).

sel T CD8⁺ juga menggunakan mekanisme pembunuhan granul-independen yang dimediasi oleh interaksi molekul membran pada sel T CD8⁺ dan sel target. Pada aktivasi, sel T CD8⁺ mengekspresikan protein membran yang disebut Fas ligan (FasL) yang berikatan dengan reseptor kematian (death receptor) Fas, yang diekspresikan pada banyak tipe sel. Interaksi ini juga menghasilkan aktivasi caspase dan apoptosis target yang mengekspresikan Fas (Abbas et al., 2017).

Sebuah fenomena di mana reaksi efektor sel T CD8⁺ yang secara bertahap menurun dapat terjadi. Kondisi ini disebut *exhaustion*. Istilah *exhaustion* telah digunakan untuk menggambarkan bahwa reaksi efektor dimulai tetapi dimatikan (tidak seperti pada toleransi, ketika limfosit gagal berkembang menjadi sel efektor). Kelelahan sel T terjadi akibat paparan

antigen yang persisten. Sel T CD8⁺ yang kelelahan memiliki banyak defek fungsional, mencakup penurunan proliferasi, penurunan produksi IFN- γ , dan aktivitas sitotoksik yang jelek. Sel mengekspresikan peningkatan jumlah beberapa reseptor inhibitor, terutama PD-1, dan juga CTLA-4, Tim-3, Lag-3, dan lain-lain. Sel juga mengekspresikan faktor transkripsi yang berhubungan dengan sel efektor dan memori, termasuk T-bet dan eomesodermin, tetapi inaktif secara fungsional. Pemblokiran PD-1 mengembalikan keadaan inaktif menjadi aktif, menunjukkan bahwa exhaustion dapat disebabkan oleh sinyal inhibitor melalui PD-1, dan mungkin reseptor inhibitor lainnya (Abbas et al., 2017).

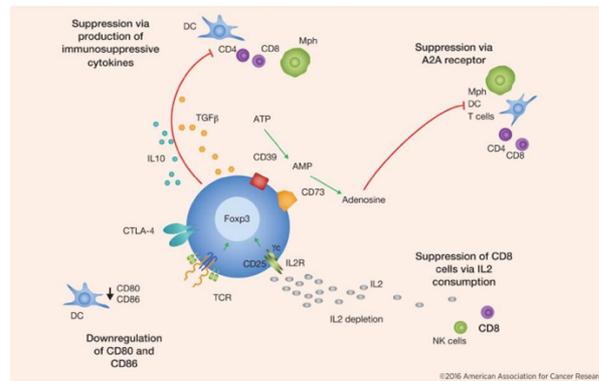
2.4.2 Limfosit T Regulator FOXP3⁺

Limfosit T regulator (Treg) dapat didefinisikan sebagai sel T immunosupresif yang dapat memediasi supresif lokal imunitas anti-tumor, sama seperti dengan sel dendritik, natural killer dan sel B. Sel T regulator berasal dari 5-10% sel T CD4⁺ yang mengenali *self* antigen. Sakaguchi et al (1995) mengungkapkan adanya subset dari sel T CD4⁺ yang mengekspresikan CD25⁺ menunjukkan aktivitas penekan yang kuat dimana sel-sel ini kemudian dikenal sebagai sel limfosit T regulator (Devaud, Darcy, & Kershaw, 2014).

Sel T regulator yang berkembang di timus merupakan hasil reaksi TCR terhadap *self* antigen yang kemudian dikenal sebagai natural T regulator (nTreg) sedangkan sel T regulator yang berasal dari jaringan limfoid perifer yang diinduksi dari sel T CD4⁺ naif dikenal sebagai *induced* T regulator (iTreg) atau Treg1 (Abbas et al., 2016; Sakaguchi et al., 2008). Sel-Sel T regulator memiliki peranan penting dalam berbagai konteks biologis, termasuk diantaranya autoimunitas, kanker, infeksi akut dan kronik, interaksi host-komensal, alergi, kehamilan, perbaikan jaringan, inflamasi metabolik, dan transplantasi (Plitas & Rudensky, 2016).

Kelangsungan hidup dan fungsi sel T regulator bergantung pada sitokin IL-2 yang memiliki dua peran yang berlawanan, yakni meningkatkan

reaksi imun dengan merangsang proliferasi sel T dan menghambat reaksi imun dengan menjaga sel T regulator fungsional.



Gambar 8. Mekanisme immunosupresi oleh sel T regulator

Sel T regulator mengontrol semua jenis reaksi imun dengan menggunakan berbagai pola mekanisme penekanan: (Li et al., 2015; Plitas & Rudensky, 2016)

1. Sel ke sel

- Ekspresi CTLA-4 sel T regulator yang tinggi memungkinkan downregulasi ekspresi molekul kostimulator CD80 dan CD86 pada permukaan DC yang akan menginduksi peningkatan regulasi dan sekresi Indoleamine 2,3-dioksigenase oleh DC yang kemudian akan mengirimkan sinyal negatif ke sel T efektor.
- T regulator dapat memodulasi reaksi imun melalui penghambatan pematangan DC yang menyebabkan aktivasi sel T efektor menjadi tidak efisien.
- Ekspresi granzim protease dan galectin-1 pada sel T regulator akan menyebabkan apoptosis atau penghentian siklus sel T efektor melalui kontak langsung.

2. Sekresi sitokin

- Memproduksi sitokin imunomodulator seperti IL10 dan TGFβ yang mampu menekan reaksi pro-inflamasi dari sel T, sel NK, sel B, sel dendritic (DC) dan makrofag (Mph);

3. Gangguan metabolisme

- Tingginya ekspresi rantai α reseptor IL-2 pada permukaan sel T regulator mengakibatkan ikatan IL-2 yang tinggi sehingga reaksi sel T CD8 dan sel NK tertahan;
- Aktivitas enzimatik CD39 dan CD73 ekto-enzim yang terekspresi kuat pada permukaan T regulator sehingga memungkinkan konversi ATP ekstra selular (berfungsi sebagai mediator pro-inflamasi) menjadi AMP dan kemudian menjadi adenosin, yang selanjutnya diekspresikan melalui reseptor adenosin untuk menekan reaksi inflamasi sel imun bawaan dan adaptif (sel T, sel B, Mph dan DC) serta jenis lain.

Sebagian besar sel T regulator adalah sel T CD4⁺ yang banyak mengekspresikan CD25⁺, rantai α reseptor interleukin-2 (IL-2), faktor transkripsi FOXP3, CTL4, dan sebagian PD-1. FOXP3 adalah faktor transkripsi anggota *forkhead box* (FOX) protein 3, sebagai pengatur dalam pengembangan dan fungsi sel T regulator. Gen FOXP3 terletak di lengan p kromosom X di Xp.11.23, yang memiliki 11 ekson pengkode (E2-E12) dan 1 ekson non-pengkode (E1). Protein FOXP3 pada manusia memiliki 431 asam amino dengan berat molekul sekitar 47,24 kDa. Selain sebagai penanda terbaik untuk sel T regulator, FOXP3 juga dapat diekspresikan secara sementara oleh sel T CD4⁺ non regulasi pada aktivasi reseptor antigen sel T dan pada sel normal (epitel payudara normal) atau sel kanker non-limfositik (seperti pada kanker pankreas, kanker usus besar, kanker paru-paru, kanker vesika urinaria, dan sel glioblastoma) (Jia et al., 2019; Karanikas et al., 2008; Martin et al., 2010).

Regulasi ekspresi FOXP3 dapat melalui beberapa jalur mekanisme diantaranya adalah jalur PI3K/AKT/mTOR/FOXP3 pathway, EGFR/GSK-3 β /FOXP3 pathway. *Hypoxia-inducible factor pathway*, Hedgehog pathway dan Non-coding RNAs. FOXP3 dapat mengatur ekspresi beberapa gen, baik secara langsung maupun tidak langsung mempengaruhi proses tumorigenesis. FOXP3 secara transkripsi dapat menekan onkogen dan meningkatkan ekspresi gen supresor tumor sehingga dapat disimpulkan

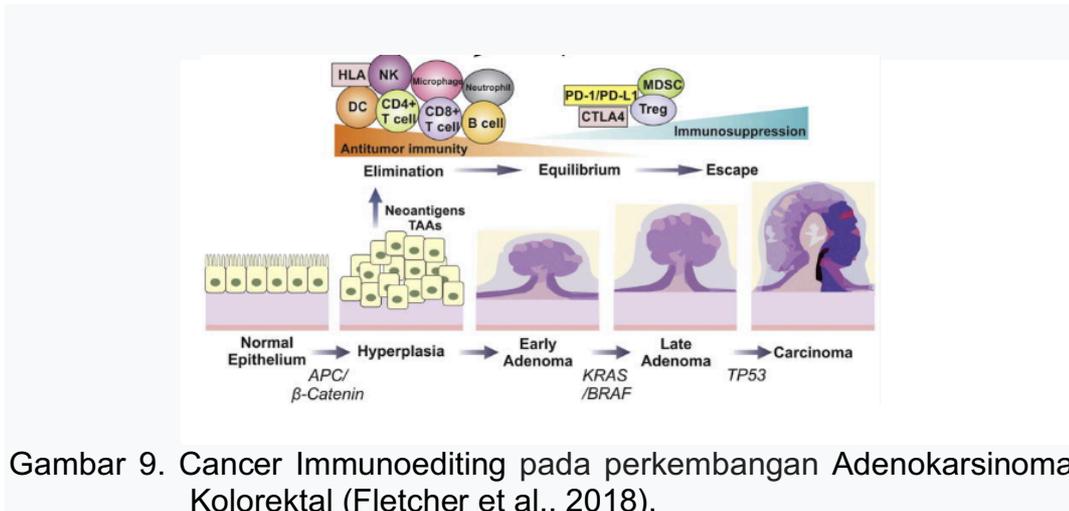
bahwa FOXP3 berfungsi sebagai gen supresor pada beberapa jenis kanker. Namun pada beberapa jenis kanker lainnya, FOXP3 tampak bersifat onkogenik, mengaktifkan jalur pensinyalan untuk proliferasi sel dan invasi. (Jia et al., 2019)

2.5 Limfosit T Sitotoksik CD 8⁺ dan Limfosit T Regulator FOXP3⁺ pada TILs Adenokarsinoma Kolorektal

Imunitas sangat penting pada kanker kolorektal di mana reaksi dalam usus telah dilatih untuk mengabaikan mikroflora komensal namun tetap mampu untuk memicu serangan terhadap patogen. Kemampuan jaringan kolorektal untuk melakukan hal tersebut bergantung pada serangkaian sinyal dan interaksi antara bakteri, sel epitel, *innate immunity* seperti sel dendritik, monosit, dan makrofag. Pada kanker kolorektal terdapat sel imun adaptif seperti sel T efektor yang memiliki efek anti tumor dan sel T regulasi yang memiliki efek pro-tumor (Norton, Ward-Hartstonge, Taylor, & Kemp, 2015).

Pada gambar 9, tampak perkembangan kanker kolorektal yang didorong oleh perubahan genetik pada jalur APC / β -catenin, mengarah pada jalur Wnt signaling yang menyimpang dan akan membentuk fokus hiperplastik dan adenoma pada fase awal. Mutasi APC akan diikuti oleh mutasi gen lainnya seperti KRAS / BRAF dan penghambat tumor seperti TP53 menghasilkan pembentukan adenoma fase akhir dan karsinoma. Sel tumor yang muncul menghasilkan neoantigen yang bermutasi atau *tumor associated antigen* (TAA) yang dapat memicu respons imun antitumor yang diprakarsai oleh sel dendritik (DC) dan dimediasi oleh sel T CD8⁺, sel T CD4⁺, dan sel imun lainnya. Proses ini akan memilih sel tumor yang mampu bertahan dari serangan sistem imun, dan juga menciptakan lingkungan mikro immunosupresif karena aktivasi jalur PD-1 / PD-L1 dan CTLA4, serta sel immunosupresif seperti regulator T sel (Treg) dan *myeloid-derived suppressor cells* (MDSC). Selama proses ini, respon imun anti tumor dan immunosupresi mencapai keseimbangan (equilibrium), dan pada

akhirnya memungkinkan sel tumor untuk keluar dari pengawasan imun (escape) (Fletcher et al., 2018).



Gambar 9. Cancer Immunoediting pada perkembangan Adenokarsinoma Kolorektal (Fletcher et al., 2018).

Pengaruh inflamasi yang dimediasi oleh sel imun pada kanker kolorektal menunjukkan interaksi yang kompleks dari sel imun bawaan dan adaptif. Sel T bereaksi terhadap antigen spesifik yang diekspresikan oleh tumor. Antigen ini disajikan oleh sel imun, APC, termasuk di dalamnya dendritik dan makrofag, tetapi juga sel non-imun seperti sel epitel atau sel tumor. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa sel T CD8⁺ melalui IFN γ , perforin dan granzim dapat menghancurkan tumor yang sudah ada (Norton et al., 2015).

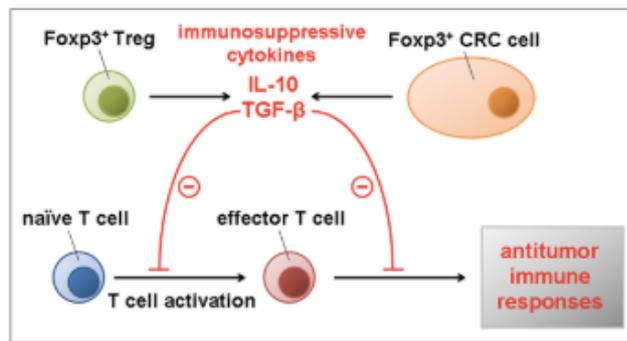
Naito et al. mempelajari infiltrasi sel T CD8⁺ pada 131 kasus kanker kolorektal yang dipilih secara acak, yang telah ditindaklanjuti selama minimal lima tahun. Infiltrasi sel T dikelompokkan menjadi tiga kelompok; (a) infiltrasi di dalam sarang sel kanker; (b) infiltrasi pada stroma kanker; dan (c) infiltrasi sepanjang batas invasif (tumor-host interface). Sel T CD8⁺ didistribusikan terutama di sepanjang batas invasif dan di stroma, namun sel T CD8⁺ dalam sarang sel kanker yang paling terkait dengan survival pasien dengan analisis multivariat (Naito et al., 1998).

Salah satu yang berperan dalam lingkungan mikro immunosupresif adalah sel T regulator. Sel T regulator memiliki peran yang lebih luas dalam tumorigenesis kanker kolorektal. Pada beberapa jenis kanker pada

manusia, ekspresi FOXP3 diatur secara berlebihan dan dapat mendorong perkembangan kanker yang mengarah ke prognosis yang buruk. Sementara pada beberapa jenis kanker lainnya ekspresi FOXP3 yang berlebihan mengarah ke prognosis yang baik. Sel T regulator yang diinduksi memperoleh fenotip supresor dengan adanya sitokin seperti TGF β ; fenotip regulator ditandai dengan peningkatan regulasi faktor transkripsi FOXP3 dan produksi IL-10. (Naito et al., 1998)

Akumulasi sel T regulator pada lingkungan mikro tumor dapat terjadi melalui beberapa mekanisme:(Martin et al., 2010)

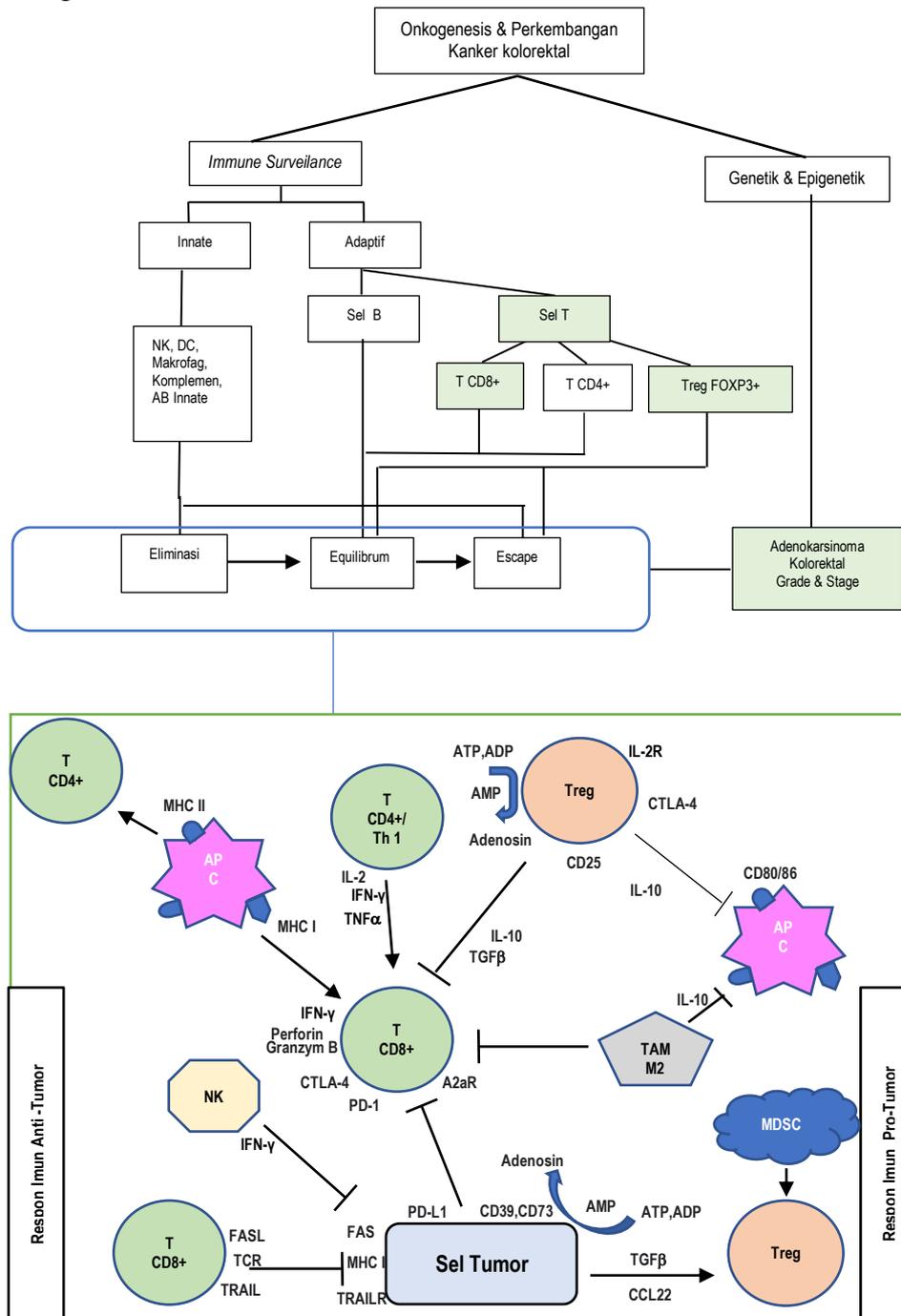
1. Sel T regulator mengekspresikan kemokin CC reseptor 4 (CCR4) yang akan berikatan dengan kemokin ligan 22 (CCL22) yang diproduksi oleh sel tumor.
2. Sekresi dan ekspresi mediator anti-inflamasi, TGF- β danIDO dapat secara langsung atau tidak langsung melalui sel-sel imun yang berhubungan dengan tumor menginduksi konversi sel T efektor menjadi sel T regulator.
3. Lingkungan mikro tumor menyimpan banyak MDSC yang secara aktif menekan aktivasi sel T dengan memproduksi arginase, ROS dan IL-10 serta menginduksi sel T regulator.
4. Sel T regulator memiliki keunggulan ketahanan selektif dibandingkan sel T efektor dimana sel tumor mengekspresikan ligan penginduksi kematian seperti PD-L1 dan FasL. Selain itu sel T regulator juga dapat menginduksi mediator reseptor (misalnya TRAIL atau TNF-related apoptosis inducing ligands) atau deplesi sel T yang dimediasi oleh granzyme/perforin.
5. Faktor-faktor seperti TGF- β secara lokal disekresi dalam tumor dan menyebabkan proliferasi sel T regulator.



Gambar 10. FOXP3 pada onkogenesis dan perkembangan tumor. (Kim et al., 2013)

Terakumulasinya sel T regulator FOXP3⁺ pada lingkungan mikro tumor akan meningkatkan pelepasan sitokin immunosupresif seperti IL-10 dan TGFβ baik oleh sel T regulator FOXP3⁺ atau sel tumor FOXP3⁺ yang akhirnya akan menghambat aktivasi sel T naif, sehingga membatasi reaksi imun anti tumor dan mendukung onkogenesis dan perkembangan tumor (Grimmig, Kim, Germer, Gasser, & Waaga-Gasser, 2013).

2.6 Kerangka Teori

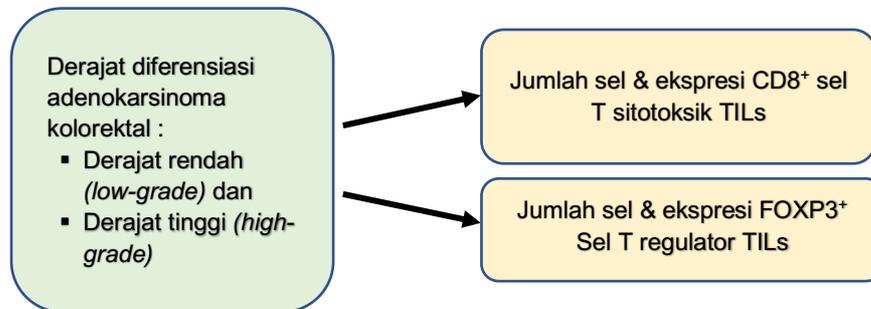


Gambar 11. Kerangka Teori

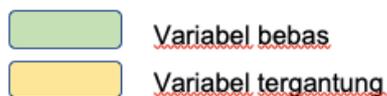
Treg = T regulatory cell, **T CD8⁺** = T sitotoksik CD8⁺, **T CD4⁺** = T helper CD⁺, **TGFβ** = Transforming growth factor beta, **CCL22** = Chemokine ligand-22, **ATP** = Adenosin trifosfat, **ADP** = Adenosin difosfat, **AMP** = Adenosin monofosfat, **FAS** = Fatty-acid synthase, **FASL** = Fatty-acid synthase ligand, **TCR** = T cell receptor, **MHC** = major histocompatibility complex, **TRAIL** = TNF-related apoptosis-inducing ligand, **TRAILR** = TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor, **PD-1** = Program death-1, **PDL-1** = Program death ligand-1, **A2aR** = A2A adenosine receptor, **CTLA-4** = Cytotoxic T lymphocyte-associated protein, **MDSC** = Myeloid-derived suppressor cell, **TAM/M1** = Tumor associated macrophage/ macrophage 1, **APC** = Antigen presenting cell, **DC** = dendritic cell, **IL** = Interleukin, **IL-2R** = Interleukin-2 reseptor, **IFNγ** = Interferon gamma, **TNFα** = Tumor necrosis factor alpha

BAB III KERANGKA KONSEP

3.1 Konsep Penelitian



Keterangan :



Gambar 12. Kerangka Konsep

3.2 Identifikasi Variabel

Pada penelitian ini terdapat variabel, yaitu :

1. Derajat adenokarsinoma kolorektal
2. Jumlah sel dan ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik TILs
3. Jumlah sel dan ekspresi FOXP3⁺ sel T regulator TILs

3.3 Klasifikasi Variabel

1. Jenis variabel berdasarkan skala pengukuran, yaitu :
 - a. Jumlah sel T sitotoksik CD8⁺: variable numerik
 - b. Jumlah sel T regulator FOXP3⁺: variable numerik
 - c. Rasio jumlah CD8⁺/ FOXP3⁺: variable numerik
 - d. Ekspresi CD8⁺ sel T sitotoksik: variabel ordinal
 - e. Ekspresi FOXP3⁺ sel T regulator: variabel ordinal
 - f. Rasio ekspresi CD8⁺/ FOXP3⁺: variabel ordinal
 - g. Derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal: variabel ordinal

2. Peran variabel berdasarkan fungsinya, yaitu :
 - a. Variabel bebas: Derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal
 - b. Variabel tergantung: ekspresi CD8⁺ dan ekspresi FOXP3⁺ serta jumlah sel T sitotoksik CD8⁺ dan sel T regulator FOXP3⁺ TILs