

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering didiagnosis dan merupakan penyebab kematian utama akibat kanker pada wanita di seluruh dunia. Penatalaksanaan kanker konvensional seperti operasi, kemoterapi, terapi hormonal, dan radioterapi merupakan metode utama yang telah digunakan dalam pengobatan kanker selama beberapa dekade. Meskipun metode ini telah memberikan manfaat yang signifikan, hasilnya bervariasi tergantung pada jenis kanker, stadium, dan respons individu terhadap terapi. Terkadang terapi konvensional tidak memberikan hasil yang memuaskan, terutama pada kanker yang telah menyebar atau yang resisten terhadap pengobatan. Oleh karena itu, penelitian harus terus dilakukan guna menemukan pendekatan baru dan lebih efektif yang bertujuan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan dan mengurangi efek samping. (Barrios, 2022)

Teori *seeds and soil* yang dikemukakan Stephen Paget mendorong para peneliti untuk tidak hanya fokus pada sel kanker saja, namun juga pada *tumor micro environment* (TME). Semakin banyak studi yang membuktikan peran TME dalam mendukung progresi, invasi, angiogenesis dan metastasis, menginduksi *cancer stem cells*, dan *immune escape* sel kanker payudara. Komponen utama TME yang saat ini diteliti secara luas adalah *Tumor Associated Macrophage* (TAM). (Lin et al., 2019)

Sebuah meta-analisa menyatakan bahwa kepadatan TAM yang tinggi secara signifikan berhubungan dengan negatifnya reseptor hormonal, Ki67 yang tinggi, grading histopatologi buruk, metastasis kelenjar getah bening, dan *overall survival* yang buruk. (Ni et al., 2019) TAM merupakan biomarker prognostik independen terhadap penurunan OS dan DFS. (Jeong & Hwang, 2019) TAM dapat memprediksi respon kemoterapi neoadjuvan dan dapat digunakan sebagai kandidat biomarker prognostik untuk OS yang buruk pada pasien TNBC. (Ye et al., 2021) TAM juga berperan penting dalam memprediksi respons kemoterapi neoadjuvan pasien TNBC. (Arole et al., 2021) TAM menyebabkan radioresistensi pada kanker payudara dengan DFS yang lebih pendek. (Garvin et al., 2018). TAM sangat terkait dengan karakteristik kanker payudara yang agresif seperti limfovaskular invasi dan subtipe non-luminal. Dalam analisis *survival*, gabungan ekspresi TAM yang tinggi dan LVI menunjukkan penurunan *recurrence free survival* (RFS) dan *disease specific survival* (DSS) yang signifikan. (Chen et al., 2021)

Meskipun mayoritas literatur menyimpulkan infiltrasi TAM merupakan indikator prognosis buruk pada kanker payudara, khususnya terkait potensi metastasis, beberapa studi melaporkan hasil berbeda. Yunianda dkk melaporkan TAM di stroma dan intratumor tidak berasosiasi dengan faktor klinikopatologis apapun. (Respati, 2023). Ahearn dkk dalam *Women's Circle of Health Study* meneliti populasi pasien mayoritas wanita kulit hitam, justru menemukan bahwa pada TNBC, densitas CD163 TAM yang tinggi berkorelasi dengan *overall survival* yang lebih baik. Sedangkan untuk subtipe luminal dan HER2 pada studi tersebut, TAM tidak berasosiasi signifikan dengan survival. (Omilian et al., 2024)

Variasi penggunaan biomarker untuk mendeteksi TAM di jaringan tumor menjadi salah satu sumber perbedaan hasil antar penelitian. Penanda CD68 merupakan marker klasik untuk mendeteksi seluruh populasi makrofag jaringan. Sementara itu, CD163 adalah reseptor *scavenger* spesifik makrofag yang diaktifkan secara alternatif (*alternatively activated*) M2 dan sangat jarang ditemukan pada selain sel makrofag. Oleh karena itu, CD163 dianggap sebagai penanda yang lebih spesifik untuk TAM tipe M2. Banyak studi

terkini beralih menggunakan CD163 dalam imunohistokimia untuk kuantifikasi TAM pro-tumor. Sementara itu, beberapa penelitian juga mengeksplorasi CD206 (mannose receptor, M2), CD204 (scavenger receptor-A, M2), serta penanda fungsional seperti iNOS (inducible NO synthase, M1) dan ARG1 (arginase-1, M2) sebagai marker TAM.(Mwafy & El-Guindy, 2020)

Di Indonesia penelitian tentang TAM masih sangat sedikit. Selama dekade terakhir, beberapa penelitian di Indonesia telah mengamati peran TAM dalam agresivitas kanker payudara, meskipun fokus utamanya masih pada ukuran tumor, status nodus aksila, dan faktor prognostik seperti HER2. Ekspresi TAM terbukti lebih tinggi pada kanker payudara yang lebih agresif, contohnya sub tipe HER2 positif(Puspasari et al., 2017) dan ekspresi TAM meningkat pula pada metastasis kelenjar getah bening yang lebih luas.(Wiratama & Sandhika, 2020). Yunianda dkk menyimpulkan TAM berasosiasi dengan karsinoma payudara nonluminal.(Respati, 2023).

Namun, hubungan TAM dengan metastasis jauh secara spesifik masih belum diteliti di Indonesia. Belum ada riset di Indonesia yang secara langsung melaporkan bahwa ekspresi TAM yang tinggi berkorelasi dengan timbulnya metastasis jauh pada pasien kanker payudara. Di Makassar sendiri, sejauh ini belum ada publikasi tentang TAM dan metastasis jauh; meskipun demikian ada penelitian lokal yang meneliti marker mikroenvironment lain, yakni CD44 dan telah membuktikan korelasinya dengan metastasis.(Syarifudin, 2020)

Kedepannya, penelitian multi-sentrik di Indonesia yang melibatkan data metastasis jauh dan survival sangat dibutuhkan untuk memperjelas peran TAM sebagai penanda prognostik. Inilah yang melatarbelakangi penulis melakukan penelitian untuk memperjelas hubungan TAM dengan kejadian metastasis kanker payudara. Jika memang infiltrasi TAM terbukti berhubungan dengan kejadian metastasis jauh, maka TAM dapat dipertimbangkan sebagai indikator penting dalam stratifikasi risiko pasien kanker payudara di Indonesia, sejalan dengan temuan di literatur internasional.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian di atas, dirumuskan pertanyaan penelitian ini sebagai berikut:

Adakah hubungan ekspresi TAM dengan kejadian metastasis jauh kanker payudara?

1.3. Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Diketuinya hubungan antara ekspresi TAM dengan kejadian metastasis jauh pada kanker payudara

b. Tujuan Khusus

1. Mendeskripsikan proporsi ekspresi TAM menurut status metastasis jauh kanker payudara.
2. Menganalisa hubungan ekspresi TAM dengan kejadian metastasis jauh kanker payudara.
3. Menilai *odds ratio* hubungan ekspresi TAM dengan kejadian metastasis jauh kanker payudara.

1.4. Manfaat Penelitian

a. Manfaat Akademik

1. Menambah pemahaman tentang peran lingkungan mikro tumor khususnya TAM pada kanker payudara.
2. Mengetahui hubungan ekspresi TAM dengan kejadian metastasis jauh pada kanker payudara.
3. Profil ekspresi TAM dari penelitian ini bisa menjadi data awal bagi penelitian lanjutan peran TAM sebagai biomarker prognostik dan prediktif kanker payudara serta pengembangan terapi yang menargetkan TAM. Dukungan data dari penelitian ini jika terbukti, akan memberi dasar bahwa terapi yang menargetkan TAM merupakan pendekatan rasional untuk menekan kekambuhan dan penyebaran kanker.

b. Manfaat Klinis

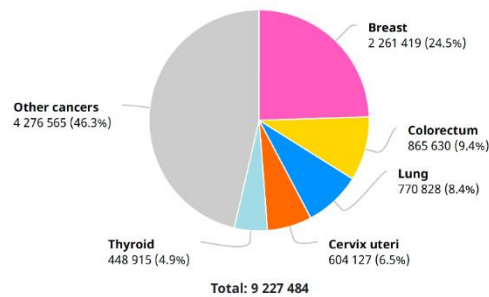
Jika terbukti didapatkan hubungan bermakna antara ekspresi CD163 TAM dengan kejadian metastasis jauh maka:

1. Ekspresi TAM CD163 dapat dipertimbangkan sebagai biomarker prognosis tambahan pada kanker payudara. Pemeriksaan TAM pada saat diagnosis dapat membantu mengidentifikasi pasien berisiko tinggi. Informasi ini bisa melengkapi faktor prognostik yang telah ada untuk stratifikasi risiko yang lebih akurat.
2. Ekspresi CD163 TAM yang tinggi pada lingkungan mikro tumor dapat menjadi pertimbangan dalam menyusun strategi terapi optimal bagi pasien kanker payudara. Pasien dengan infiltrasi TAM tinggi kemungkinan memiliki perjalanan penyakit lebih agresif, sehingga klinisi bisa lebih waspada dalam monitoring dan pemilihan terapi.
3. Penderita kanker payudara dengan ekspresi CD163 TAM yang tinggi semestinya mendapatkan edukasi tentang potensi progresi dan metastasis yang lebih besar serta upaya yang dapat dilakukan untuk memitigasi risiko tersebut.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

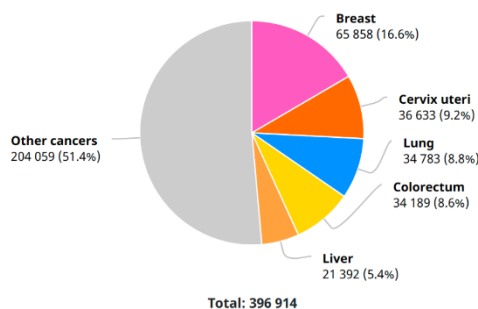
2.1. Insiden Kanker Payudara

Berdasarkan data GLOBOCAN 2020, kanker payudara merupakan kanker dengan insiden tertinggi di dunia dari seluruh gender (2.262.419 kasus). Kanker payudara masih merupakan kanker dengan insiden terbanyak pada perempuan yakni 24.5% dari seluruh tipe kanker.(Sung et al., 2021) Pada tahun 2020, angka kematian kanker payudara secara umum mencapai 684.996 kasus. Jumlah ini menempati peringkat keempat untuk jumlah kematian setelah kanker paru, kanker hati dan kanker lambung.(Arnold et al., 2022)



Gambar 2.1. Persentase Kanker secara Global (Sung et al., 2021)

Berdasarkan data GLOBOCAN 2020, kanker payudara di Indonesia tercatat sebanyak 65.858 kasus, menempati urutan pertama, dengan kematian sebanyak 22.430 kasus, menempati peringkat kedua setelah kanker paru.(Sung et al., 2021) Kanker payudara merupakan kanker terbanyak yang ditangani di rumah sakit. Review data kanker selama 18 tahun di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo, kanker payudara merupakan kanker terbanyak dan menjadi penyebab kematian kedua akibat kanker. Sebagian besar pasien datang dengan stadium lokal lanjut maupun lanjut.(Prihantono et al., 2023)



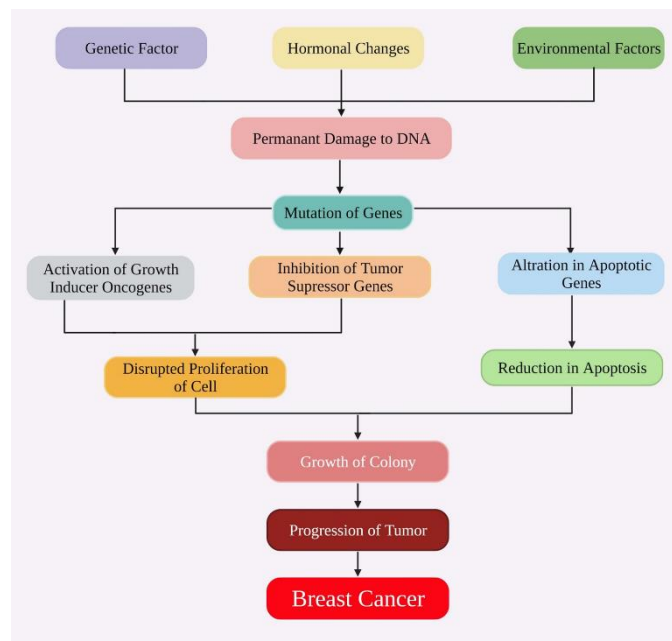
Gambar 2.2. Persentase Kanker di Indonesia (Sung et al., 2021)

Studi yang dilakukan di Rumah Sakit Kanker Dharmas menyatakan keterlambatan kedatangan pasien kanker payudara disebabkan oleh faktor interpretasi, psikologi dan sosial ekonomi. Dengan tingginya insiden kanker payudara dan mayoritas pasien datang dengan stadium lokal lanjut maupun lanjut, akan berdampak pada tingginya morbiditas, mortalitas, dan biaya pengobatan. Keadaan ini menunjukkan betapa beratnya permasalahan kanker payudara di Indonesia dan membutuhkan penatalaksanaan yang lebih serius dan lebih baik.(Iskandar et al., 2024)

2.2. Proses Karsinogenesis dan Kaskade Metastasis Kanker Payudara

Memahami proses karsinogenesis kanker payudara sangat penting untuk mengembangkan strategi pencegahan, deteksi dini, dan terapi kanker payudara. Pemahaman mengenai karsinogenesis telah berkembang pesat dalam tiga dekade terakhir. Kemajuan dalam biologi molekuler telah memberikan wawasan tentang perubahan genetik dan jalur molekuler pada kanker payudara.(Zhang et al., 2024)

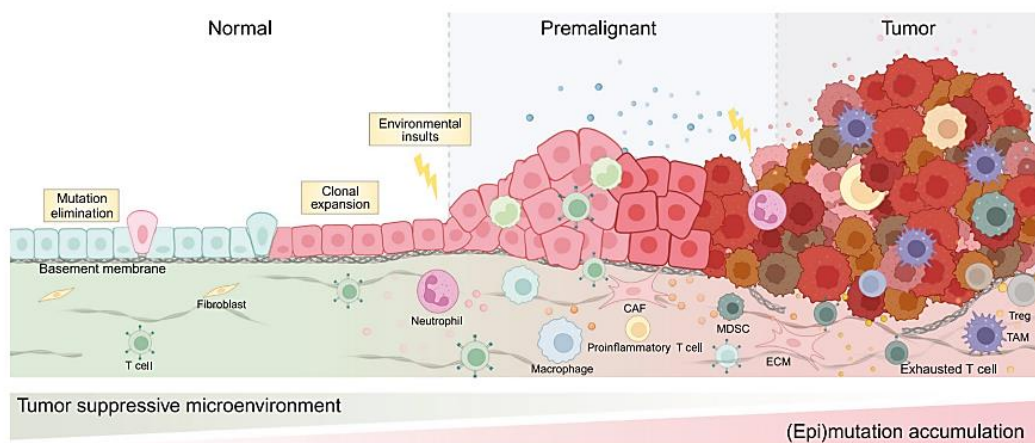
Karsinogenesis adalah proses perubahan kompleks yang menyebabkan sel normal berubah menjadi sel kanker. Kanker payudara terjadi akibat akumulasi mutasi genetik dan disregulasi ekspresi gen (epigenetik), aktivasi proto-onkogen dan inaktivasi tumor supresor gen yang menyebabkan sel kehilangan mekanisme kontrol proliferasi, sehingga menimbulkan lesi neoplastik. Proses karsinogenesis dipengaruhi oleh faktor endogen yang berasal dari tubuh seperti genetika dan kondisi lingkungan mikro serta faktor eksogen (paparan lingkungan yang meningkatkan risiko terkena kanker.(Zhang et al., 2024)



Gambar 2.3. Patofisiologi dan Faktor Risiko Kanker Payudara. (Alharbi et al., 2022)

Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa karsinogenesis pada manusia merupakan proses yang berlangsung secara bertahap dan setiap tahapan menunjukkan perubahan genetik yang menyebabkan transformasi progresif dari sel sehat menjadi sel kanker. (Zhang et al., 2024)

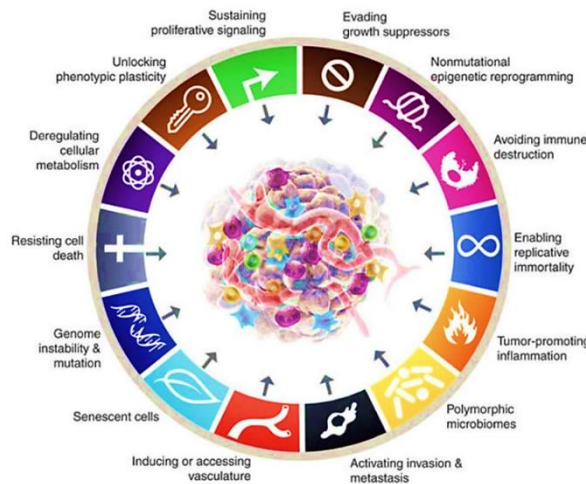
Inisiasi merupakan tahap awal karsinogenesis kanker payudara. Inisiasi merupakan proses dimana sel payudara normal mengalami mutasi genetik atau perubahan pada DNA. Perubahan genetik ini terutama pada gen penting yang mengatur fungsi sel (onkogen dan tumor supresor gen). Mutasi ini bisa didapat dari warisan (mutasi germline) atau diperoleh selama hidup seseorang (mutasi somatik). (Feng et al., 2018)



Gambar 2.4. Tahapan Karsinogenesis.(Zhang et al., 2024)

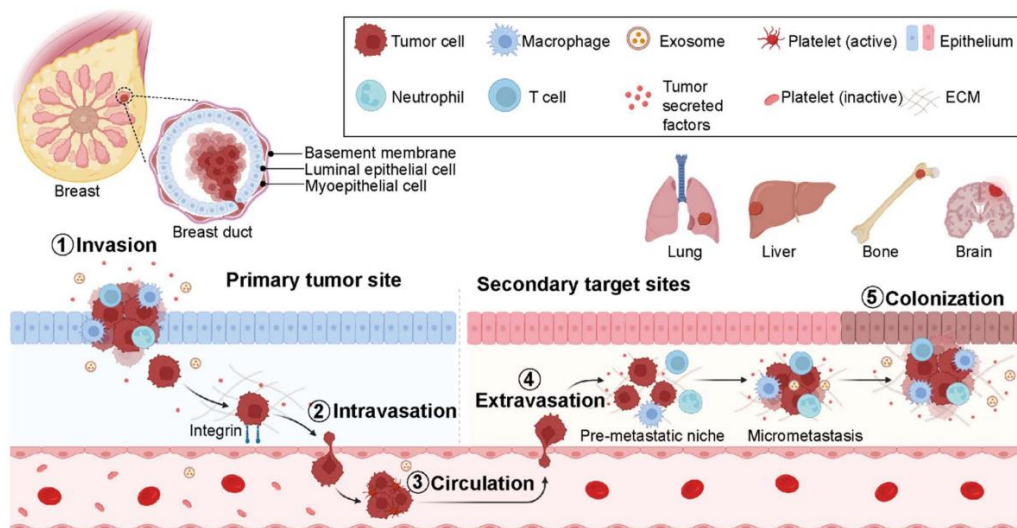
Tahapan kedua karsinogenesis kanker payudara adalah promosi. Pada tahapan ini sel-sel payudara yang telah berubah tersebut menjalani proses yang disebut promosi. Berbagai faktor, seperti ketidakseimbangan hormon, peradangan dan paparan karsinogen, dapat meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel abnormal ini. Hormon estrogen memainkan peran penting dalam mendorong pertumbuhan kanker payudara.(Feng et al., 2018)

Tahapan berikutnya adalah progresi, di mana sel yang telah bertransformasi memperoleh perubahan genetik dan epigenetik tambahan, yang menyebabkan perubahan lebih lanjut dalam perilakunya. Hanahan dan Weinberg mengelompokkannya sebagai karakteristik kanker (*hallmarks of cancer*). (Hanahan, 2022) Dengan ditemukannya mekanisme seluler secara mendetail yang mendorong terjadinya karsinogenesis dan dikelompokkan menjadi 14 petanda kanker, para peneliti berharap untuk membentuk strategi baru untuk melawan kanker dengan menghambat berbagai mekanisme tersebut. (Hanahan, 2022)



Gambar 2.5. *Hallmarks of Cancer* (Hanahan, 2022)

Tahapan terakhir dari karsinogenesis kanker payudara adalah metastasis. Invasi dan metastasis merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas yang diakibatkan kanker, yang merupakan hasil dari interaksi kompleks yang melibatkan sel-sel kanker, sel-sel stromal dan matriks ekstraseluler (ECM). Interaksi ini dapat disederhanakan ke dalam beberapa langkah yang terdiri dari invasi lokal, intravasasi ke dalam pembuluh darah dan limfe, transit dalam aliran darah, ekstravasasi dari pembuluh darah, terbentuknya mikrometastasis, dan pertumbuhan mikrometastasis menjadi tumor makroskopik. (Fares et al., 2020)



Gambar 2.6. Kaskade Metastasis. (Firatligil-Yildirim et al., 2023)

2.3. Peran Lingkungan Mikro Tumor pada Kanker Payudara

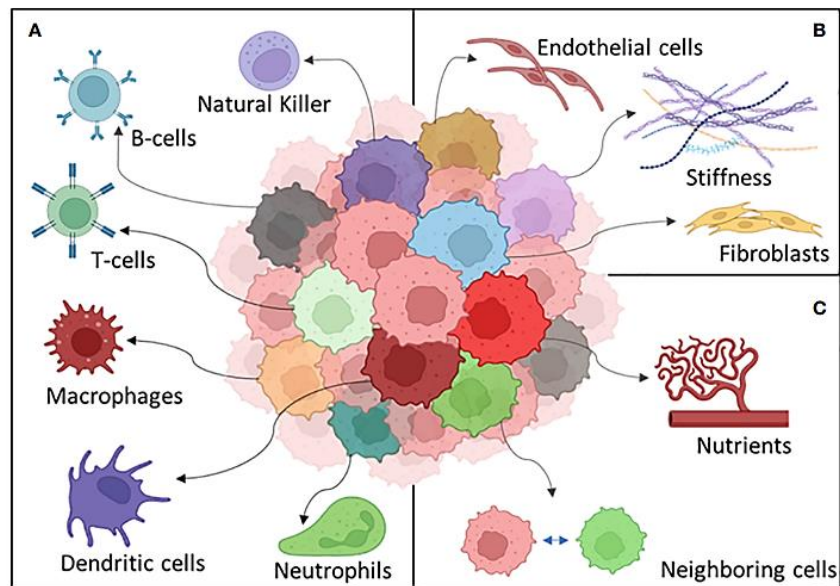
Stephen Paget pada tahun 1889 megemukakan teori “*seed dan soil*” yang menyatakan bahwa sel tumor sendiri tidak cukup untuk perkembangan metastasis. Faktanya, ada interaksi silang yang erat antara sel-sel tumor dan berbagai komponen lingkungan mikro tumor (TME). Paget mengemukakan bahwa “lahan” tempat bertumbuhnya tumor sama pentingnya dengan “benih”. Selama kurun waktu yang lama, fokus utama penelitian mengenai karsinogenesis selalu berfokus pada gen. Dalam dekade terakhir ini, semakin banyak bukti mengenai peran lingkungan mikro pada proses karsinogenesis. Karsinogenesis muncul karena adanya perubahan pada lingkungan mikro, yang menyebabkan timbulnya instabilitas genomik pada epitel yang berkembang menjadi fokus tumor. Upaya memahami interaksi antara sel kanker dan lingkungan mikro tumor membuka jalan untuk terapi kanker yang lebih efektif. Strategi terapeutik yang menargetkan komponen lingkungan mikro tumor, seperti penghambat angiogenesis atau modulator respon imun, sedang dikembangkan. (Hill et al., 2020)

Kemajuan dalam pemahaman TME pada kanker payudara pra invasif dan invasif telah menunjukkan bukti kuat bahwa TME dan molekul terkait infiltrasi sel imun, faktor terlarut dan matriks ekstraseluler yang berubah, terlibat dalam mempromosikan pertumbuhan tumor dan metastasis. Unsur-unsur penting dari lingkungan mikro tumor ini telah memulai identifikasi penanda kanker payudara yang baru yang berhubungan dengan perkembangan dan progresi tumor. Penelitian-penelitian tentang interaksi antara lingkungan mikro tumor dengan sel kanker akhir-akhir ini demikian luas semakin mengonfirmasi hipotesis yang dikemukakan Paget. (Hill et al., 2020)

Lingkungan mikro tumor terdiri atas sel bawaan (seperti *tumor associated macrophages* (TAM), netrofil, sel dendritik (DC), *myeloid derived suppressor cells* (MDSC) dan sel natural killer (NK), sel adaptif (terdiri dari sel T dan sel B), *tumor infiltrating lymphocytes* (TILs), *cancer associated fibroblasts* (CAF), sel endotel, pericytes, lingkungan sitokin dan *extracellular matrix* (ECM). (Domínguez-Cejudo et al., 2023)

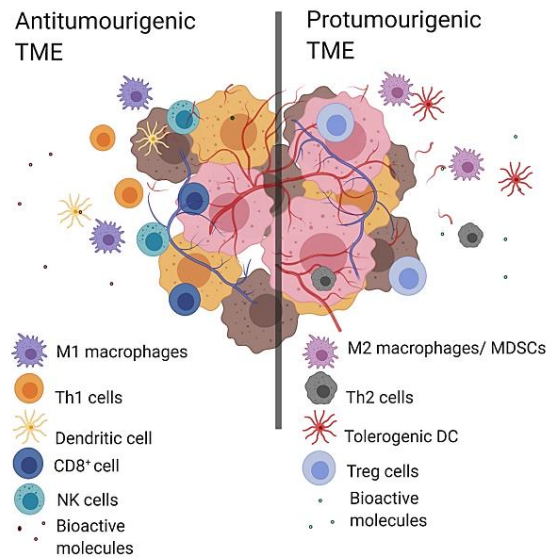
Pada dasarnya ada 3 jenis peran utama sistem imun dalam menekan pertumbuhan kanker. Pertama, sistem imun dapat mengeliminasi patogen onkogenik yang diketahui mempunyai kontribusi dalam karsinogenesis sehingga dapat mencegah terjadinya kanker. Kedua, sistem imun dapat mencegah lingkungan pro-tumoral dengan menghentikan inflamasi segera setelah eliminasi patogen. Ketiga, *imunosurveillance* akan mengaktifkan berbagai jenis sel baik sel-sel dalam sistem imunitas bawaan maupun adaptif, khususnya sel T yang dapat mengeliminasi sel kanker dan menghasilkan molekul-molekul pensinyalan (sitokin) baik di sekitar tumor maupun di perifer. (Y. Liu & Cao, 2015)

Namun dalam interaksinya dengan sistem imun, sel kanker memiliki kemampuan kanker untuk menghindari destruksi sel oleh sistem imun gagal untuk menghambat proliferasi sel kanker, bahkan dapat berperan secara paradoks, yaitu menginduksi perkembangan sel kanker lebih lanjut yang dikenal sebagai hipotesis *imunoediting*. Berbagai cara dilakukan oleh sel kanker agar dapat menghindar dari sistem imun, misalnya yang klasik adalah tidak mengekspresikan MHC dan tidak memproduksi antigen tumor sehingga tidak dikenal oleh sel-sel imun dan berinteraksi dengan sel-sel imun dalam lingkungan mikro tumor yang berakibat progresi menguntungkan perkembangan tumor. Selain itu, dengan memproduksi protein imunosupresif atau ekspresi protein penghambatan pada permukaan sel kanker sehingga menghambat aktivasi dan fungsi sel T. (Y. Liu & Cao, 2015)



Gambar 2.7. Komponen Lingkungan Mikro Tumor. (Proietto et al., 2023)

Hal yang penting bahwa sel tumor dapat secara efisien merekrut sel stroma (misalnya fibroblas), sel imun, dan sel vaskular dengan mengeluarkan faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin. Sel-sel tumor juga memproduksi kemoatraktan yang menarik berbagai sel progenitor dari sumsum tulang maupun dari jaringan sekitar, di antaranya sel-sel progenitor endotel (EPC) *tumor associated macrophages* (TAM), PMN dan sel-sel imun salah satunya adalah sel T $\gamma\delta$ yang memproduksi IL-7 yang ternyata memiliki kemampuan untuk mempromosikan pertumbuhan tumor. Sel-sel ini membangun lingkungan mikro dengan melepaskan sinyal pemacu pertumbuhan dan metabolit antara serta merombak struktur jaringan. Pensinyalan antara sel kanker dan lingkungan mikro tumor merangsang proliferasi dan kemampuan metastatis. Tumor tidak hanya berhasil menghindari dari sistem kekebalan inang, tetapi secara efektif mendapat manfaat dari infiltrasi sel imun dengan memodifikasi fungsinya untuk menciptakan lingkungan mikro yang mendukung perkembangan tumor. (Hill et al., 2020)

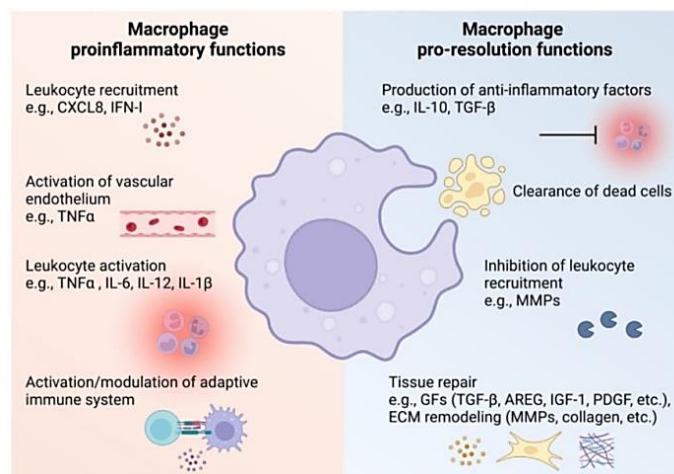


Gambar 2.8. Modulasi TME pada Kanker.(Li et al., 2023)

2.4. Tumor Associated Macrophage (TAM)

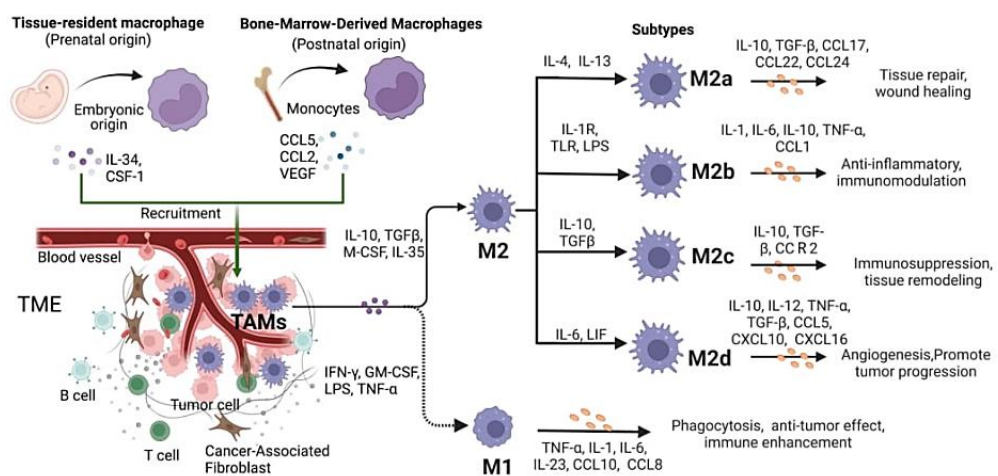
2.4.1. Definisi dan Asal-usul TAM

Makrofag adalah sel hematopoietik yang merupakan komponen imunitas alami (*innate immunity*), yang berfungsi sebagai pertahanan melawan patogen, fagositosis debris, memfasilitasi penyembuhan luka dan memicu migrasi sel imun lainnya melalui sekresi berbagai macam faktor. Selain itu makrofag berperan memicu respon imun spesifik dengan mempresentasikan antigen ke sel T. Makrofag yang menginfiltrasi jaringan tumor atau membentuk populasi di sekitar TME disebut sebagai *tumor-associated macrophages* (TAM). TAM adalah komponen utama TME, yang mencakup lebih dari 50% dari total sel imun yang menginfiltrasi tumor, dan dapat mempengaruhi perkembangan kanker payudara melalui beragam mekanisme.(Khan et al., 2023)



Gambar 2.9. Fungsi Makrofag.(Mehta et al., 2021)

Sumber utama makrofag adalah monosit yang dihasilkan dari *hematopoietic stem cells* (HSC) yang berdiferensiasi menjadi *granulocyte-macrophage progenitors* (GMP) dan kemudian menjadi *monocyte-dendritic cell progenitors* (MDP). Selain itu, makrofag yang menetap di jaringan berasal dari *yolk sac progenitors* merupakan sumber utama makrofag lainnya, yang berproliferasi atau berdiferensiasi *insitu*, seperti makrofag alveolar, mikroglia, dan sel Kupffer. Monosit matur yang dilepaskan ke dalam darah serta makrofag yang menetap di jaringan, direkrut dan diaktifkan oleh berbagai sinyal di TME dan kemudian menunjukkan dampak yang signifikan terhadap inisiasi dan promosi tumor, metastasis, regulasi imun, dan angiogenesis.(Lin et al., 2019)(Su et al., 2024)

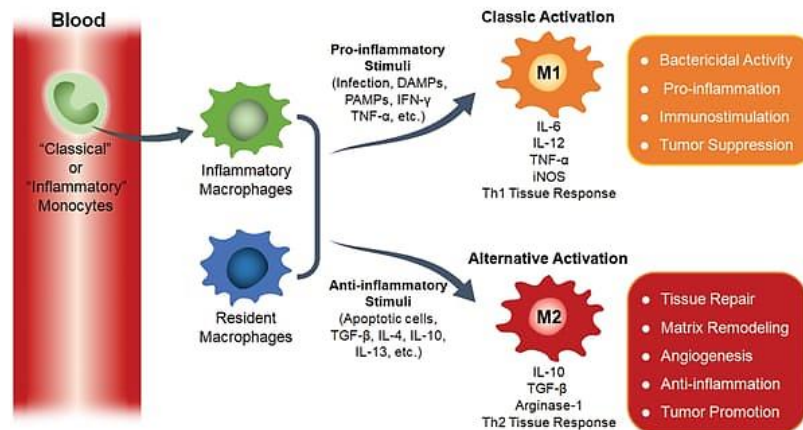


Gambar 2.10. Asal-usul TAM.(Li et al., 2023)

2.4.2. Karakteristik dan Polarisasi TAM

Makrofag dapat bersifat proinflamatorik untuk destruksi sel dan jaringan, maupun antiinflamatorik untuk penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Hal ini pertama kali dikemukakan oleh Mantovani dengan “macrophage balance hypotesis”. Dua sifat yang berlawanan ini merupakan suatu spektrum yang diatur secara ketat, dengan satu sisi disebut makrofag klasik atau M1, sedangkan sisi lainnya makrofag alternatif atau M2. Makrofag dapat berubah dari M1 ke M2 dan sebaliknya, tergantung pada stimulus lingkungan mikro.(Yu et al., 2024)

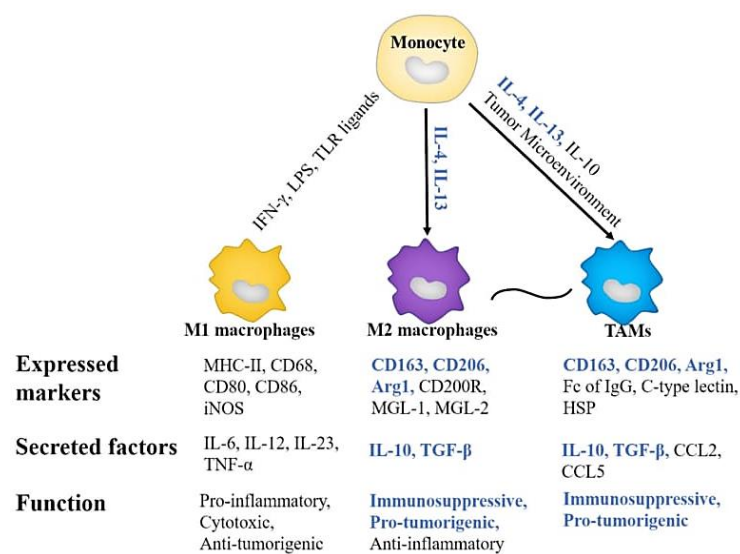
Kedua jenis makrofag ini berbeda dalam penanda, karakteristik metabolisme, dan profil ekspresi gen. Makrofag M1 menjalankan fungsi membunuh tumor melalui pengenalan sel kanker dan fagositosis disertai dengan produksi mediator proinflamasi seperti interferon γ (IFN- γ) dan interleukin-12 (IL-12), NO, ROI, TNF α , untuk destruksi mikroorganisme dan sel tumor. M1 sangat baik dalam mempresentasikan antigen, serta merupakan aktivator sel Th1. Secara metabolik, M1 cenderung meningkatkan ambilan dan retensi Fe oleh intrasel untuk mengurangi asupan Fe untuk bakteri dan sel tumor.(Cha & Tam, 2020)



Gambar 2.11. Aktivasi Makrofag.(Mehta et al., 2021)

Makrofag M2 mengeluarkan sitokin anti-inflamasi seperti IL-4, IL-10, IL-13, dan mengekspresikan banyak arginase-1, *mannose receptor* (MR, CD206), dan *scavenger receptor*. Ekspresi CD68, CD14, HLA-DR, dan CD204 digunakan untuk klasifikasi makrofag, dan protein lain seperti CD206, CD163 digunakan untuk klasifikasi TAM.(Chen et al., 2019)

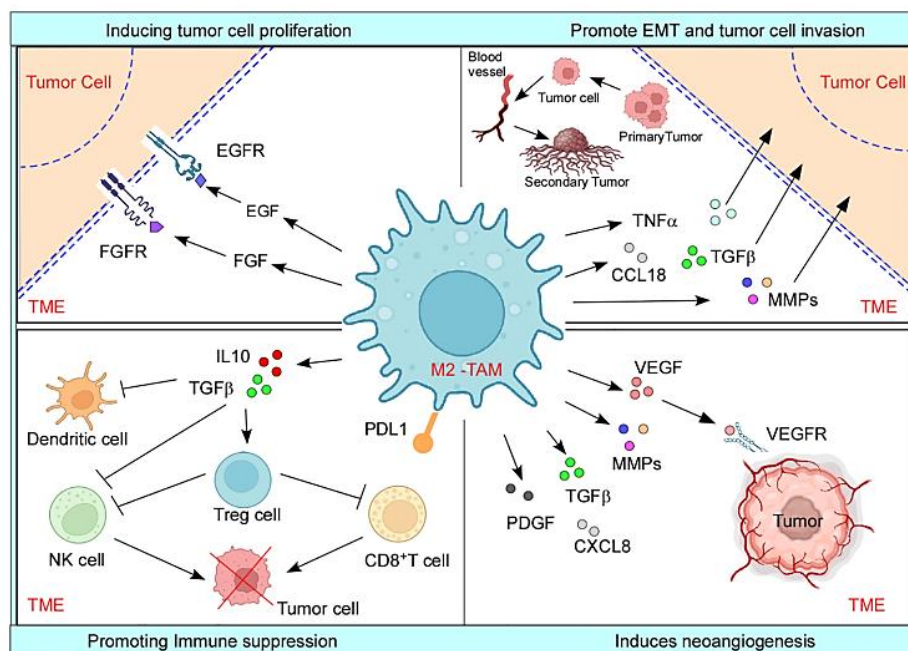
Selama perkembangan tumor, jumlah makrofag M2 meningkat dan mereka menjadi tipe TAM yang dominan di TME. Secara umum sel tumor mendorong makrofag ke M2, sehingga terhindar dari destruksi. Makrofag M2 berperan sebagai “promotor tumor”, yang mendukung perkembangan kanker payudara dengan mendorong invasi dan metastasis sel tumor, angiogenesis, *cancer stemness*, meregulasi metabolisme energi, dan mendukung penghindaran terhadap sistem imun. Peran makrofag dapat ditemukan pada seluruh aspek perjalanan tumor, yaitu proliferasi, angiogenesis, invasi, metastasis, immunosupresi, dan *remodelling* ECM.(Pan et al., 2020)



Gambar 2.12. Biomarker TAM (Chen et al., 2019)

Konversi antara M1 (anti-tumorigenesis) dan M2 (pro tumorigenesis) adalah proses biologis yang disebut “polarisasi makrofag” sebagai respons terhadap sinyal lingkungan mikro. Hal ini konsisten dengan pengamatan klinis bahwa akumulasi makrofag di TME sebagian besar dikaitkan dengan prognosis yang lebih buruk. (Tan et al., 2021)

Polarisasi TAM diatur oleh beberapa sitokin lingkungan mikro, kemokin, faktor pertumbuhan, dan sinyal lain yang berasal dari sel tumor dan stroma. *Colony stimulating factor 1* (CSF-1) dan *C-C motif ligand 2* (CCL2) adalah faktor perekrut dan stimulan M2 yang paling dominan. CCL2 membentuk polarisasi makrofag menuju fenotip protumor melalui C-C chemokine receptor 2 (CCR2) yang diekspresikan pada permukaan makrofag. *Vascular endothelial growth factor A* (VEGF-A) menginduksi polarisasi dan infiltrasi TAM dengan adanya IL-4 dan IL-10. Sinyal EGFR tidak hanya mendorong proliferasi dan invasi sel tumor secara langsung, namun juga mengkondisikan TME dengan cara mengatur rekrutmen makrofag dan polarisasi TAM. (Lin et al., 2019)

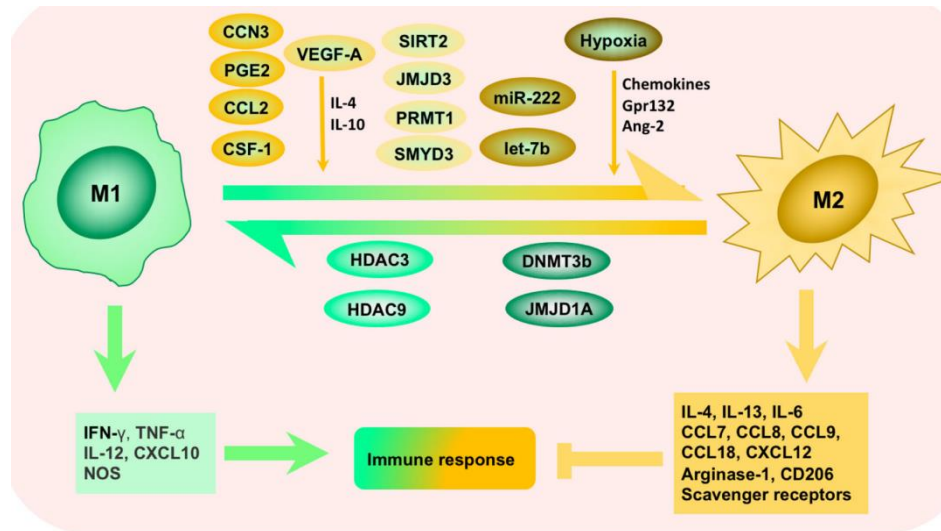


Gambar 2.13. Peran TAM pada kanker payudara. (Lin et al., 2019)

Prostaglandin E2 (PGE2) bersinergi dengan CSF-1 untuk mendorong polarisasi M2 melalui aktivasi CSF-1R. Selain itu, CCN3 (juga dikenal sebagai NOV, nefroblastoma yang diekspresikan secara berlebihan) menyebabkan peningkatan infiltrasi makrofag M2. Kemokin lain seperti IL-4, IL-6, IL-13, CCL7, CCL8, CCL9, CCL18, dan CXCL12 juga sangat terekspresi pada tumor dan terlibat dalam rekrutmen dan polarisasi TAM. (Gao et al., 2022)

Hipoksia yang disebabkan oleh sel-sel tumor dengan metabolisme yang kuat dan pertumbuhan yang cepat namun dengan vaskularisasi yang tidak memadai, merupakan gambaran umum yang terjadi pada sebagian besar tumor padat. Hipoksia berperan sebagai regulator makrofag yang penting, yang membantu sel tumor mengatasi

kekurangan nutrisi dan mengubah TME menjadi tempat yang lebih kondusif untuk pertumbuhan sel tumor. Kondisi hipoksia juga menyebabkan terjadinya *immune escape* dan mendorong glikolisis. Kemokin yang diinduksi oleh hipoksia, seperti CCL2, CCL5, CSF-1, VEGF, semaphorin 3A (SEMA3A), *endothelial cell monocyte-activating polypeptide-II* (EMAP-II), endothelin, *stromal cell derived factor 1α* (SDF1α), eotaxin, dan oncostatin M menyebabkan migrasi TAM ke daerah hipoksia. (Gao et al., 2022)



Gambar 2.14. Regulasi polarisasi TAM. (Lin et al., 2019)

Hipoksia memodulasi fenotip TAM menuju profil pro-tumoral melalui berbagai faktor. Laktat, yang diproduksi secara masif melalui glikolisis anaerobik sel tumor di daerah yang kekurangan oksigen, merupakan salah satu penginduksi utama fenotip M2. Hal ini dapat ditangkap oleh *G protein-coupled receptor 132* (Gpr132), suatu reseptor membran pada makrofag, yang kemudian mengaktifkan sinyal hilir dan memodulasi ekspresi gen polarisasi. (Pan et al., 2020)

Fungsi stimulasi akumulasi dan polarisasi makrofag juga dapat dicapai oleh angiopoietin-2 (Ang-2), yang secara umum diterima sebagai pengatur stabilisasi dan pertumbuhan pembuluh darah bersamaan dengan VEGF, Ang-1, melalui pengikatan khusus pada reseptor Tie-2. Ang-2 juga dapat diregulasi secara dramatis oleh hipoksia. (Pan et al., 2020)

Regulator epigenetik lainnya yakni mikroRNA (miRNA) juga mengendalikan polarisasi makrofag. Sampai saat ini, miR-125, miR-155, miR-378, miR-9, miR-21, miR-146, miR-147, miR-187, miR-222, dan miRlet7b telah dilaporkan sebagai modulator TAM yang dominan. Misalnya, miR-222-3p, yang terlibat sebagai promotor tumor pada beragam jenis tumor, mengaktifkan makrofag ke fenotip M2 melalui downregulasi *suppressor of cytokine signaling-3* (SOCS3) yang merupakan regulator umpan balik negatif dari jalur pensinyalan JAK/STAT. (Cha & Tam, 2020)

2.4.3. Peran TAM dalam Proses Metastasis

Sebagai komponen penting dari lingkungan mikro tumor, TAM terlibat dalam hampir setiap tahapan metastasis yaitu invasi, angiogenesis, intravasasi, survival CTC, ekstrasvasasi, dan pembentukan *pre-metastatic niches* (PMN). (Lin et al., 2019)

2.4.3.1. Peran TAM dalam Invasi dan Migrasi Sel Kanker

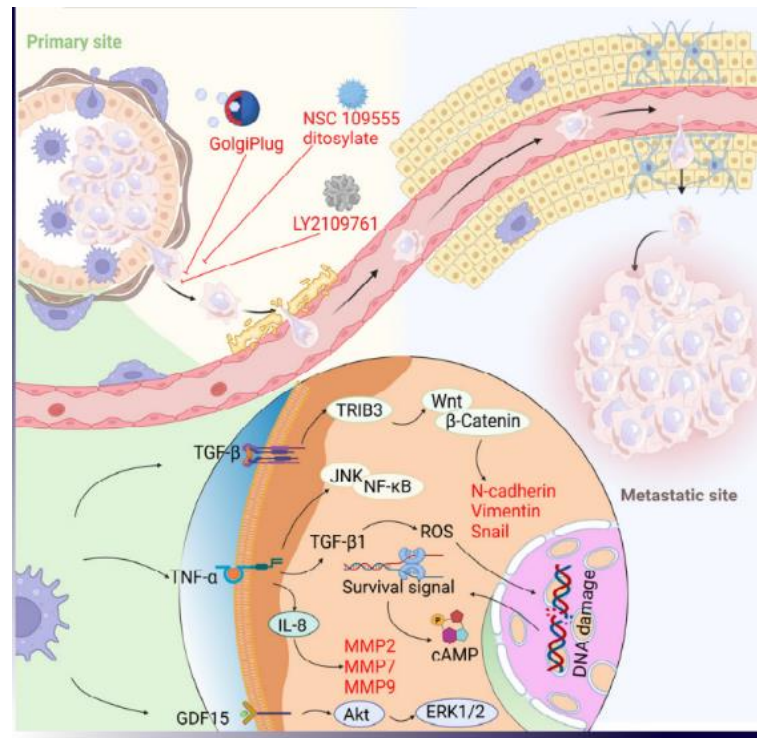
Patomekanisme molekuler LVI pada kanker payudara melibatkan perubahan pada EMT, ECM, produksi faktor angiogenik, dan modulasi sistem imun, dengan TAM memainkan peran sentral. TAM merupakan komponen penting dalam TME yang berperan dalam LVI dengan cara memodifikasi TME. TAM mensekresi sitokin anti-inflamasi, produksi faktor pertumbuhan, remodelasi ECM, dan modulasi sistem imun. Penelitian terbaru memberikan wawasan tentang mekanisme ini dan menawarkan pendekatan terapeutik yang potensial untuk mengurangi LVI dan meningkatkan hasil klinis pasien kanker payudara. (Klingen et al., 2017)

Proses LVI dimulai dengan sel tumor memperoleh kemampuan invasif dan keluar dari membran basal ke stroma sekitarnya. Sel tumor yang sangat invasif selalu memiliki karakteristik yang sama yaitu hilangnya polaritas intrinsik dan perlekatan yang longgar pada struktur jaringan di sekitarnya. *Epithelial-mesenchymal transition* (EMT) adalah kejadian utama dalam transformasi morfologis ini, yang berkontribusi terhadap sifat biologis ganas termasuk invasi dan metastasis. Selama proses EMT, sel-sel tumor kehilangan sambungan sel-sel (*cell-cell junctions*) dan polaritas apikal-basal sebagai akibat dari represi E-cadherin dan memperoleh fenotip sel mesenkim yang motil. (Gwak et al., 2015)

Banyak penelitian menunjukkan bahwa TAM terlibat dalam regulasi proses EMT. Immunostaining sampel kanker memperlihatkan tepi sarang tumor yang menjadi hotspot EMT merupakan tempat di mana TAM banyak berinfiltrasi. *Cell line* kanker yang dikultur bersama dengan TAM menunjukkan peningkatan ekspresi N-cadherin dan *Snail*, yang mana keduanya merupakan ciri khas fenotip mesenkim. Sementara itu, E-cadherin terlihat mengalami penurunan regulasi. (Gwak et al., 2015)

TAM juga berpartisipasi dalam proses EMT melalui sekresi berbagai faktor terlarut, seperti IL-1 β , IL-8, IL-6, TNF- α , dan *transforming growth factor- β* (TGF- β) yang berkontribusi pada perubahan TME, menginduksi EMT, dan meningkatkan motilitas sel kanker. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa IL-6 dapat menginduksi ekspresi MMP dan memodifikasi ECM yang menguraikan komponen ECM seperti kolagen dan elastin. TNF- α meningkatkan permeabilitas pembuluh darah yang mendukung LVI (Wang et al., 2019). IL-1 β juga berperan dalam mempromosikan LVI dengan meningkatkan ekspresi adhesi molekul dan memperburuk kerusakan jaringan sekitarnya dan merangsang produksi MMP. (Lin et al., 2019)

TAM memproduksi berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin. TGF- β adalah salah satu sitokin yang diproduksi dalam jumlah banyak oleh TAM. TGF- β adalah regulator kuat dalam proses pertumbuhan sel, perbaikan jaringan, dan proses kanker seperti invasi dan metastasis. TGF- β berikatan dengan reseptor spesifik pada sel tumor, yaitu TGF- β receptor type I (TGFR1) dan TGF- β receptor type II (TGFR2). Setelah TGF- β berikatan dengan reseptornya, jalur sinyal yang disebut Smad-dependent pathway diaktifkan. Aktivasi ini mengarah pada fosforilasi dan aktivasi Smad2 dan Smad3, yang kemudian membentuk kompleks dengan Smad4, mengaktifkan jalur sinyal TRB3 (Tribbles homolog 3). TRB3 adalah protein yang berfungsi sebagai adaptor dalam berbagai jalur sinyal seluler. (Wu et al., 2022)

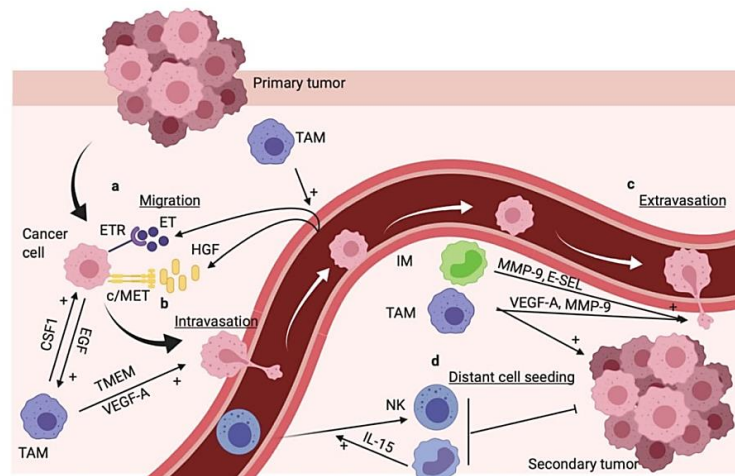


Gambar 2.15. Peran TAM dalam invasi dan migrasi kanker.(Wu et al., 2022)

2.4.3.2. Peran TAM dalam Intravasasi Sel Tumor

Sel tumor yang menerobos pori-pori kecil endotel vaskular untuk mendapatkan akses pembuluh darah inang merupakan langkah penting berikutnya dalam metastasis. Eksperimen yang memanfaatkan pencitraan multifoton intravital memberikan visualisasi intravasasi secara langsung dan kinetik. Dalam percobaan ini, sel tumor yang sedang melakukan intravasasi divisualisasikan selalu disertai dengan makrofag dalam satu diameter sel, menunjukkan bukti langsung adanya TAM yang terlibat dalam intravasasi sel tumor.(Gadde et al., 2023)

Banyak penelitian telah mengidentifikasi susunan tripartit; TAM, sel tumor, dan sel endotel sebagai “*the tumor microenvironment of metastasis*” (TMEM). TMEM merupakan prediktor peningkatan metastasis hematogen dan prognosis buruk pada kanker payudara. Mekanisme yang mendasari interaksi sinergis ini sangat kompleks. Di satu sisi, makrofag memecah ECM di sekitar endotel dengan sejumlah enzim proteolitik seperti cathepsin, matriks metalloproteinase, dan serin protease. Di sisi lain, TAMs membajak sel-sel tumor ke dalam sirkulasi melalui umpan balik positif yang terdiri dari CSF-1 yang diproduksi oleh sel tumor dan EGF yang diproduksi oleh TAM. Sitokin merangsang kerja motilitas makrofag serta produksi EGF, yang pada gilirannya memberi sinyal pada sel tumor dan memediasi migrasi kemotaktik menuju pembuluh darah. Penghambatan jalur pensinyalan CSF-1 atau EGF mengganggu migrasi kedua jenis sel tersebut dan juga mengurangi jumlah sel tumor yang bersirkulasi.(Delprat & Michiels, 2021)



Gambar 2.16. Peran TAM dalam intravasasi sel tumor. (Delprat & Michiels, 2021)

2.4.3.3. Peran TAM dalam Imunosupresi dan Survival CTC

Setelah penetrasi ke dalam pembuluh darah, sel-sel tumor harus dipersiapkan untuk dapat *survive* dan melakukan ekstrasvasi. Gumpalan (*clots*) yang berkumpul di sekitar sel-sel tumor mengurangi *pressure* sel-sel *natural killer* (NK) terhadap sel tumor. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa TAM memicu jalur pensinyalan survival PI3K/Akt pada sel kanker payudara dengan melibatkan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) melalui integrin $\alpha 4$. Aktivasi jalur PI3K/Akt kemudian menyelamatkan sel kanker dari sitokin proapoptosis seperti *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL). (Zhong et al., 2020)

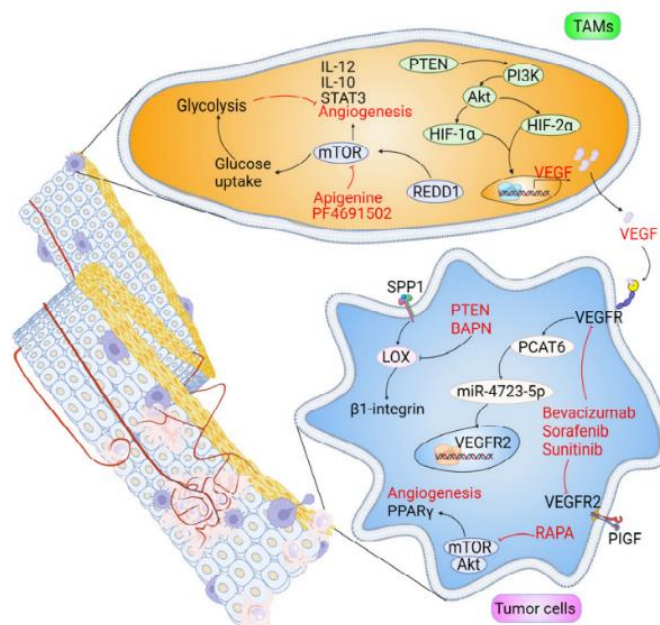
Di sisi lain, banyak sel tumor yang *survive* dilindungi oleh TAM karena kemokin atau sitokin yang disekresikan secara langsung. TAM dapat mengeluarkan faktor-faktor yang menekan aktivitas sel T sitotoksik dan meningkatkan aktivitas sel T regulator. TAM juga dapat berinteraksi dengan sel-sel imun lain seperti sel dendritik, menghambat respons imun lokal. Penghambatan respon imun oleh TAMs dan sel-sel kanker dapat meningkatkan risiko metastasis jauh. (Chanmee et al., 2014)

2.4.3.4. Peran TAM dalam Angiogenesis

Banyak bukti yang menunjukkan peran TAM dalam mendorong angiogenesis dan limfangiogenesis. Pembuluh darah tumor berperan sebagai jalur utama metastasis kanker. Ketika tumor padat tumbuh hingga ukuran tertentu, suatu proses yang disebut sebagai "*angiogenic switch*" akan diaktifkan oleh berbagai mekanisme untuk memicu pembuluh darah dengan kepadatan tinggi untuk pasokan nutrisi. TAM adalah pemain penting dalam regulasi "*angiogenic switch*" ini. Mereka membentuk klaster di daerah intra-tumoral dan tepi depan yang invasif, keduanya merupakan *hotspots* angiogenesis dan metastasis. Sebaliknya, tidak adanya TAM secara signifikan mengurangi kepadatan pembuluh darah sebesar 40%. Selain mempengaruhi pembentukan pembuluh darah tumor baru, TAM juga merangsang remodeling pembuluh darah yang sudah ada menjadi bentuk yang lebih berliku-liku dan "*leaky*" sehingga mendukung penyebaran tumor. (Lin et al., 2019)

Para peneliti mengemukakan peran penting VEGF dan MMP-9 dalam mengatur angiogenesis yang digerakkan oleh TAM. Selain itu beberapa molekul proangiogenik lain yang juga terlibat, seperti *fibroblast growth factor* (FGF)-2, CXCL8, IL-1, IL-8, siklooksigenase (COX)-2, oksida nitrat (iNOS), dan MMP7. Selain itu TAM mengekspresikan reseptor tirosin-protein kinase Tie-2 (juga dikenal sebagai reseptor angiopoietin-1) disebut sebagai TEMs. Eksperimen mengklarifikasi bahwa TEM memiliki aktivitas proangiogenik yang dramatis, karena Tie-2 mampu berikatan dengan semua angiopoietin yang diketahui (Ang-1, Ang-2, Ang-3, dan Ang-4). (Lin et al., 2019)

TAM memproduksi VEGF sebagai respons terhadap hipoksia dan sinyal dari sel tumor dan lingkungan inflamasi di TME. VEGF yang disekresikan kemudian mempengaruhi sel endotelial dan sel-sel tumor di TME, berperan penting dalam proses angiogenesis dan proliferasi sel tumor. VEGF berperan dalam merangsang pembentukan pembuluh darah baru untuk mendukung pertumbuhan tumor dengan menyediakan oksigen dan nutrisi. (Wu et al., 2022)



Gambar 2.17. Peran TAM dalam angiogenesis. (Wu et al., 2022)

Progresi kanker menyebabkan pertumbuhan tumor yang cepat dan pembuluh darah yang tidak memadai, menghasilkan kondisi hipoksia di TME. Hipoksia ini merangsang berbagai jalur sinyal dalam sel kanker dan sel-sel lain di TME, seperti TAM. Hipoksia dapat menyebabkan aktivasi PI3K (Phosphoinositide 3-kinase) melalui peningkatan faktor pertumbuhan yang diproduksi oleh sel kanker dan sel-sel TME. Faktor-faktor ini, termasuk IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1) dan EGF (Epidermal Growth Factor), mengikat reseptor pada permukaan sel dan memicu aktivasi PI3K. (Wu et al., 2022)

Sebagai kesimpulan VEGF yang dihasilkan oleh TAM berikatan dengan VEGFR2 pada sel endotelial untuk mempromosikan angiogenesis. PlGF, berikatan dengan VEGFR1, meningkatkan aktivitas VEGF dan VEGFR2, memperkuat proses angiogenesis. SPP1 (Osteopontin) memodulasi efek VEGF dan VEGFR2, berkontribusi pada pembentukan pembuluh darah baru dalam TME. Kolaborasi antara VEGF, PlGF, dan SPP1 dalam TME mendukung pertumbuhan dan progresi tumor dengan meningkatkan suplai darah dan mendukung metastasis. VEGF yang dihasilkan oleh TAM berikatan dengan VEGFR2 untuk memicu angiogenesis melalui jalur PI3K-AKT-mTOR, yang mendukung proliferasi dan migrasi sel endotelial serta pembentukan pembuluh darah baru. Semua faktor ini berkolaborasi dalam mendukung perkembangan tumor dan metastasis dengan meningkatkan suplai darah ke tumor. (Wu et al., 2022)

2.4.3.5. Peran TAM dalam Proliferasi Sel Tumor

TAM memproduksi CCL18 sebagai respons terhadap sinyal dari tumor dan faktor-faktor inflamasi lainnya. Setelah disekresikan, CCL18 berinteraksi dengan sel-sel tumor dan sel-sel lainnya. CCL18 berikatan dengan reseptor kemokin pada sel tumor, khususnya dengan CCR8 (C-C chemokine receptor type 8). Setelah aktivasi CCR8, Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) diaktifkan. PI3K menghasilkan produk lipid yang memicu aktivasi AKT. Aktivasi AKT (Protein Kinase B) mengarah pada regulasi berbagai proses seluler seperti proliferasi, pertumbuhan, dan survival sel. CCL18 juga dapat mengaktifkan jalur MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), termasuk ERK1/2 (Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 and 2). Aktivasi jalur MAPK berkontribusi pada regulasi proliferasi sel dengan meningkatkan ekspresi gen-gen yang terlibat dalam siklus sel dan proliferasi. (Wu et al., 2022)

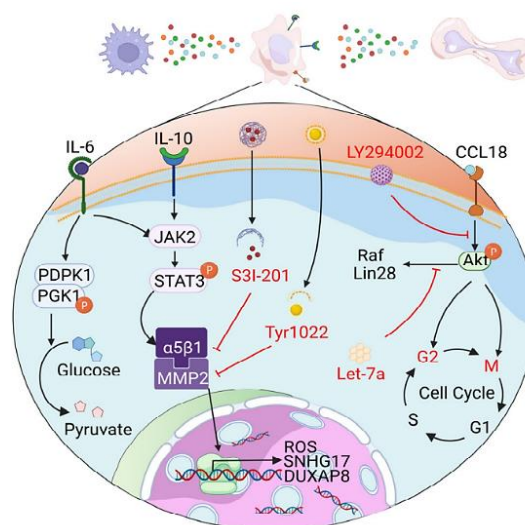
Aktivasi jalur PI3K-AKT dan MAPK dapat meningkatkan ekspresi cyclin D1, yang berperan dalam transisi dari fase G1 ke fase S dalam siklus sel. Aktifnya cyclin D1 berinteraksi dengan CDK (Cyclin-Dependent Kinases), untuk memfasilitasi kemajuan siklus sel dan proliferasi sel tumor. Aktivasi AKT berperan dalam inhibisi apoptosis dengan meningkatkan ekspresi protein anti-apoptotik seperti Bcl-2, yang mendukung survival sel tumor dan mengurangi kematian sel terprogram. (Wu et al., 2022)

TAM memproduksi sitokin anti-inflamasi IL-10 sebagai respons terhadap sinyal dari tumor dan lingkungan inflamasi di sekitar tumor. IL-10 berikatan dengan reseptor IL-10 yang terletak pada permukaan sel tumor dan sel imun lainnya. Pengikatan IL-10 pada reseptornya mengaktifkan jalur sinyal intraseluler, terutama melalui aktivasi JAK1 (Janus Kinase 1) dan TYK2 (Tyrosine Kinase 2). Aktivasi JAK1 dan TYK2 menyebabkan fosforilasi dan aktivasi STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3), yang merupakan faktor transkripsi kunci dalam sinyal IL-10. Setelah fosforilasi, STAT3 berpindah ke inti sel

dan mengaktifkan ekspresi gen yang terlibat dalam pengaturan proliferasi sel, survival, dan reaksi inflamasi. STAT3 mengatur ekspresi berbagai gen yang mendukung proliferasi sel tumor dan mengurangi respons imun. (Wu et al., 2022)

Aktivasi jalur sinyal IL-10 dapat meningkatkan ekspresi cyclin D1 dan CDK (Cyclin-Dependent Kinases), yang berperan dalam transisi siklus sel dari fase G1 ke fase S, mendukung proliferasi sel tumor. IL-10 meningkatkan ekspresi protein anti-apoptotik seperti Bcl-2, mengurangi aktivitas protein pro-apoptotik, dan mendukung kelangsungan hidup sel tumor. IL-10 menginduksi immunosupresi dengan menghambat aktivitas sel T dan sel-sel imun lainnya, mengurangi kemampuan sistem kekebalan untuk mengidentifikasi dan membunuh sel tumor. IL-10 berkontribusi pada pembentukan lingkungan TME yang mendukung pertumbuhan tumor dengan mengurangi inflamasi dan meningkatkan dukungan seluler untuk tumor. (Wu et al., 2022)

TAM memproduksi IL-6 sebagai respons terhadap sinyal inflamasi dan faktor-faktor dari tumor. Setelah diproduksi, IL-6 disekresikan ke dalam TME, di mana ia mempengaruhi berbagai sel, termasuk sel tumor. IL-6 berikatan dengan kompleks reseptor IL-6 yang terdiri dari dua subunit: IL-6R (IL-6 receptor) dan GP130 (glycoprotein 130). IL-6R mengikat IL-6 dan berfungsi sebagai reseptor utama, sedangkan GP130 adalah komponen dari sinyal transduksi. Ikatan IL-6 dengan IL-6R pada permukaan sel tumor menyebabkan pengaktifan GP130, yang selanjutnya memicu aktivasi JAK (Janus Kinase). Aktivasi JAK mengarah pada fosforilasi dan aktivasi STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3). STAT3 kemudian berpindah ke inti sel dan mengaktifkan ekspresi gen yang mempengaruhi proliferasi dan survival. (Wu et al., 2022)

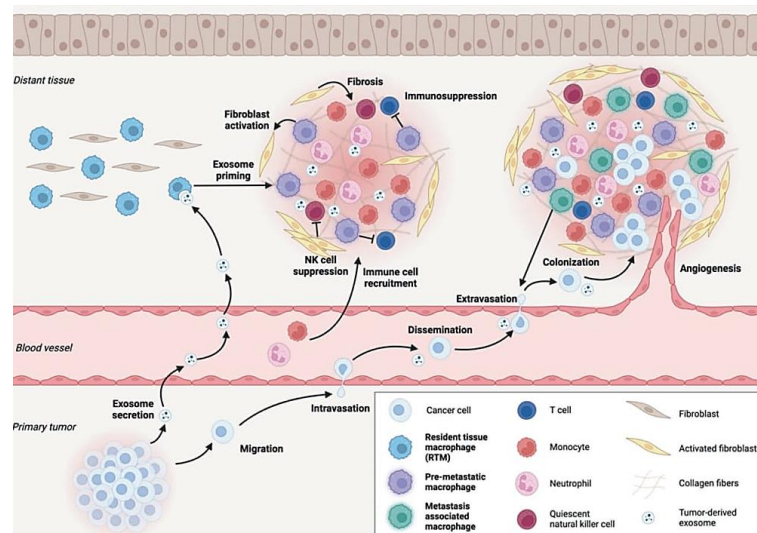


Gambar 2.18. Peran TAM dalam proliferasi sel tumor. (Wu et al., 2022)

2.4.3.6. Peran TAM dalam Metastasis Jauh

Setelah menetap di kapiler organ target, sel tumor akan mencoba menempel dan menerobos keluar melalui dinding pembuluh darah dengan bantuan TAM. Para peneliti menemukan bahwa tingkat ekstrasvasi menurun drastis setelah hilangnya TAM diikuti dengan kegagalan metastasis.(Lin et al., 2019)

Metastasis tidak selalu merupakan kejadian lanjut dalam perkembangan tumor. Tumor primer akan mengkondisikan organ sekunder dan menentukan penyebaran spesifik organ sebelum tibanya sel tumor. Situs yang disiapkan tersebut cenderung terjadi metastasis dan dikenal sebagai konsep *pre-metastatic niches* (PMN). Penelitian mengklarifikasi bahwa TAM adalah salah satu penentu utama pembentukan PMN. Makrofag dimobilisasi ke aliran darah dan kemudian diklasterkan di situs pra-metastatik oleh berbagai faktor yang disekresikan tumor, seperti CCL2, CSF-1, VEGF, TNF- α , TGF- β , *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP)-1, dan eksosom.(Aramini et al., 2021)



Gambar 2.19. Peran TAM dalam metastasis jauh.(Bied et al., 2023)

Selain itu, makrofag yang menetap di jaringan, seperti sel Kupffer hati, makrofag alveolar paru, dan osteoklas, juga terlibat dalam mengatur pembentukan PMN pada saat stimulasi. Kehadiran makrofag tersebut memberikan *road map* untuk penempatan sel tumor yang bersirkulasi (CTC) ke dalam PMN dengan peningkatan ekspresi kemokin seperti *stromal derived factor* (SDF) -1 dan Ang-1 dan merombak ECM ke arah yang mendukung sel tumor dengan cara mensekresi enzim perombak ECM seperti MMP, integrin, dan lisil oksidase (LOX), yang sebagian besar telah disebutkan di atas sebagai penginduksi penting angiogenesis, EMT, dan ekstrasvasi. TAM juga melakukan komunikasi silang sel T helper-1 (TH1) dan sel dendritik serta melemahkan sifat tumorisidal dan kemampuan mempresentasikan antigen tumor yang menyebabkan imunosupresi dan pada akhirnya meningkatkan survival sel tumor di tempat yang baru.(Qiu et al., 2018)

2.5. Scavenger Receptor (CD 163) Sebagai Biomarker TAM

Biomarker yang umumnya digunakan untuk mengidentifikasi TAM diantaranya adalah CD163 (*Scavenger Receptor for Hemoglobin-Haptoglobin Complex*), CD206 (*Mannose Receptor, MRC1*), CD204 (*Scavenger Receptor A, SR-A1*), serta Arginase-1 (*ARG1*). (Lin et al., 2019)

CD163 merupakan marker paling spesifik dibandingkan biomarker lain. Metode deteksinya menggunakan immunohistokimia (IHC), flow cytometry, dan qPCR. CD163 memiliki keunggulan dalam spesifitas untuk M2 TAM, mengurangi risiko positif palsu dari sel imun lain, stabilitas ekspresi tinggi dalam jaringan tumor. Diekspresikan secara konsisten pada TAM dalam berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara. CD 163 Berperan dalam imunosupresi, meningkatkan sekresi IL-10 dan TGF- β , serta mendukung pertumbuhan tumor. Ekspresi tinggi dikaitkan dengan prognosis yang buruk, metastasis, dan resistensi terapi. Namun CD 163 tidak secara langsung menggambarkan aktivitas fungsional M2 TAM seperti beberapa biomarker lainnya. (Lin et al., 2019)

Characteristics		Function	Expression		Detection	
			M1	M2	In situ	In vitro
Biomarkers	MMP2/9	Matrix metalloproteinase	–	+	IHC	Digestion
	B7-H4	Inhibiting costimulatory molecule	–	+	IHC	Flowcytometry
	STAT-3	Transcription factor	–	+	IHC	Flowcytometry
	iNOS	Nitric oxide synthase	+	–	IHC	N/A
CDs	HLA-DR	Antigen presentation molecule	+	+	IHC	Flowcytometry
	CD68	Glycoprotein for adherence	+	+	IHC	Flowcytometry
	CD14	LPS co-receptor	+	+	IHC	Flowcytometry
	CD163	Scavenger receptor hemoglobin	–	++	IHC	Flowcytometry
	CD206	Mannose receptor	+	++	N/A	Flowcytometry
	CD204	Macrophage scavenger receptor 1	+	+	IHC	N/A
Cytokines	IL-12p70	Interleukin	++	–	IHC	ELISA
	IL-10	Interleukin	+	++	IHC	ELISA

Marked with "–": no expression; "+": present on cell subset; "++": highly expressed or produced

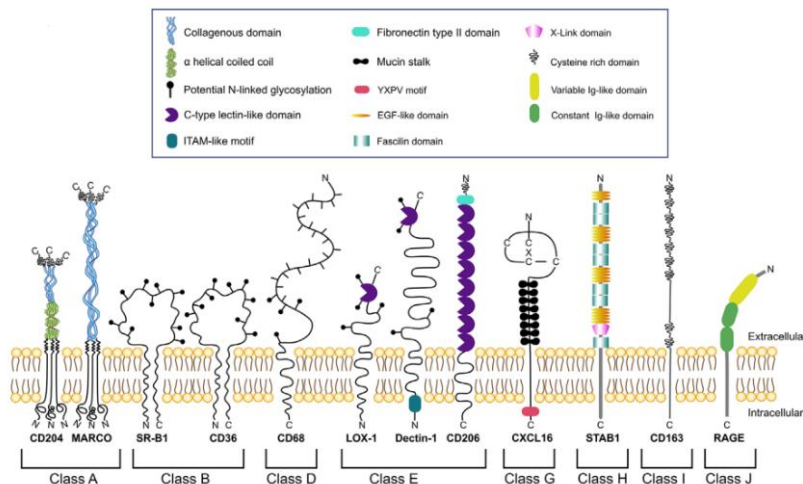
Marked with "–": no expression; "+": present on cell subset; "++": highly expressed or produced

Tabel 1. Biomarker TAM (Lin et al., 2019)

Scavenger receptor CD163 adalah protein yang diekspresikan terutama oleh sel makrofag dan terlibat dalam berbagai proses imunologi, termasuk pengenalan dan eliminasi materi tubuh yang rusak atau teroksidasi, serta pengaturan respon inflamasi. Dalam konteks tumor, CD163 sering digunakan sebagai penanda untuk mengidentifikasi TAM tipe 2. Ekspresi CD163 meningkat pada makrofag yang mengalami polarisasi menuju tipe 2 (TAM2), yang sering ditemukan di lingkungan tumor. (Kazakova et al., 2023)

CD163 adalah *Scavenger* reseptor kelas I yang termasuk dalam keluarga scavenger receptor dan merupakan protein transmembran. Ini dikodekan oleh gen CD163 pada manusia dan ditemukan terutama di permukaan makrofag. Struktur gen CD163 terletak pada kromosom 12q13, dan memiliki panjang total sekitar 50-60 kilobase pasangan. Gen ini mengkode protein untuk bagian domain besar ekstraseluler yang berfungsi dalam pengikatan ligan, domain transmembran yang menghubungkan bagian ekstraseluler dengan domain sitoplasmik. (Homer-vanniasinkam et al., 2015)

Domain ekstraseluler yang besar yang mengikat ligan seperti kompleks haptoglobin-hemoglobin. Domain ini memungkinkan protein untuk mengenali dan mengikat produk limbah yang teroksidasi atau terdegradasi. Domain transmembran menghubungkan domain ekstraseluler dengan bagian dalam sel. Domain Sitoplasmik terlibat dalam transduksi sinyal dari luar sel ke dalam sel, mempengaruhi berbagai jalur sinyal dan respon seluler. (Homer-vanniasinkam et al., 2015)



Gambar 2.20. Kelas *scavenger receptor* yang diekspresikan TAM. (Kazakova et al., 2023)

Untuk mendeteksi ekspresi *scavenger receptor* CD163, dilakukan dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi yang ditujukan khusus terhadap CD163 untuk mengidentifikasi dan memvisualisasikan keberadaan dan distribusi protein ini dalam jaringan histologis. (Jamiyan & Kuroda, 2020)

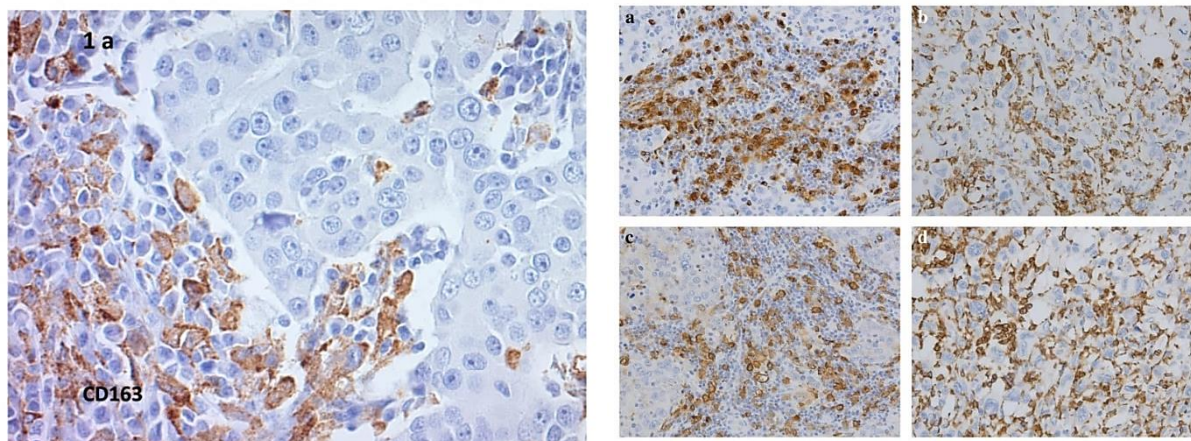
Interpretasi Hasil IHC untuk CD163:

1. **Hasil Positif:**

Distribusi: pewarnaan positif menunjukkan adanya ekspresi CD163 pada makrofag di jaringan. Biasanya, pewarnaan ini akan terlokalisasi pada area tertentu di sekitar sel tumor atau dalam stroma tumor.

Kuantifikasi: Intensitas dan luas area pewarnaan dapat dinilai. Semakin intensif pewarnaan dan luas area yang terwarnai, semakin tinggi ekspresi CD163. Penilaian kuantitatif sering dilakukan untuk menghubungkan dengan prognosis klinis. (Jamiyan & Kuroda, 2020)

2. **Hasil Negatif:** Ketidadaan Pewarnaan: Jika CD163 tidak terdeteksi, ini mungkin menunjukkan rendahnya populasi TAM tipe 2 di jaringan, atau mungkin juga mengindikasikan adanya ekspresi CD 163 yang sangat rendah. (Jamiyan & Kuroda, 2020)



Gambar 2.21. Ekspresi CD 163 menggunakan pemeriksaan IHC.(Jamiyan & Kuroda, 2020)

Tingkat ekspresi CD163 pada sel makrofag dalam jaringan tumor dapat memberikan informasi prognostik. Tingginya ekspresi CD163 yang sangat rendah.(Jamiyan & Kuroda, 2020)ekspresi CD163 sering dikaitkan dengan prognosis buruk dalam berbagai jenis kanker, karena TAM tipe 2 berperan dalam menekan respon imun anti-tumor dan mempromosikan pertumbuhan tumor.(Jamiyan & Kuroda, 2020)

2.6. Strategi Terapi Kanker Payudara dengan Menargetkan TAM

Berdasarkan peran TAM dalam tumorigenesis, upaya penelitian difokuskan pada penargetan TAM protumorigenik sebagai terapi kanker yang potensial. Berbagai aspek biologi makrofag dipertimbangkan ketika mengembangkan strategi yang menargetkan TAM. Di antara strategi tersebut adalah dengan menghambat perekrutan TAM, pemrograman ulang fenotipik menuju M1 antitumorigenik, dan deplesi TAM. Strategi terapi ini sudah dalam fase uji klinis yang memberikan harapan baru rejimen pengobatan yang efektif untuk digunakan secara klinis dan memberi wawasan tentang efikasinya.(Hourani et al., 2021)

2.6.1. Strategi Terapi dengan Cara Menghambat Rekrutmen TAM

Penghambatan perekrutan makrofag yang berasal dari monosit diajukan sebagai strategi yang menjanjikan untuk mengurangi populasi TAM dan untuk meningkatkan respons anti-tumor. Jalur M-CSF/CSF-1R, CCL2/CCR2, CCL5/CCR5 adalah target utama yang menunjukkan potensi dalam terapi kanker. Beberapa antibodi monoklonal dan *small molecule inhibitor* CSF-1R sedang dikembangkan sebagai monoterapi atau dalam kombinasi dengan agen terapeutik lainnya.(Hourani et al., 2021)

CSF-1R Pexidartinib (PLX-3397) telah diteliti dalam beberapa uji klinis untuk pengobatan tumor solid. Chiauranib (CS2164) yang menargetkan CSF-1R dan kinase terkait angiogenesis (VEGFR2, VEGFR1, VEGFR3, PDGFRA), menunjukkan aktivitas antitumor yang signifikan dalam beberapa model xenograft manusia. Beberapa antibodi penghambat CSF-1R juga dikembangkan dan diteliti dalam uji klinis sebagai terapi antikanker. Agen penghambat CSF-1R juga sedang diteliti untuk efek sinergis dengan terapi kanker terkini dalam studi praklinis. Misalnya, peningkatan potensi doksorubisin

yang dikombinasikan dengan BLZ945 pada model kanker ovarium tikus. Halbrook et al. juga melaporkan bahwa kombinasi gemcitabine dan inhibitor CSF-1R AZD7507 menunjukkan hasil pengobatan yang lebih baik untuk survival. Blokade CCL2/CCR2 aksis juga sedang uji dalam beberapa studi klinis dengan hasil terapi yang bervariasi. Leronlimab yang merupakan anti-CCR5 yang dikombinasikan dengan Carboplatin saat ini sedang dalam uji klinis fase 1b/2 pada pasien dengan kanker payudara triple negatif metastatik. (Hourani et al., 2021)

2.6.2. Strategi Terapi Melalui Repolarisasi TAM Menuju Fenotipe Anti-Tumor

Plastisitas makrofag juga dapat digunakan sebagai peluang untuk terapi kanker dengan merepolarisasi TAM menjadi anti-tumor. Ada bukti kemoterapi menggunakan paclitaxel dan sorafenib yang disetujui FDA dapat merepolarisasi TAM. Data praklinis dan klinis menunjukkan bahwa peningkatan fagositosis oleh TAM meningkatkan pemusnahan sel tumor dan presentasi antigen. (Hourani et al., 2021)

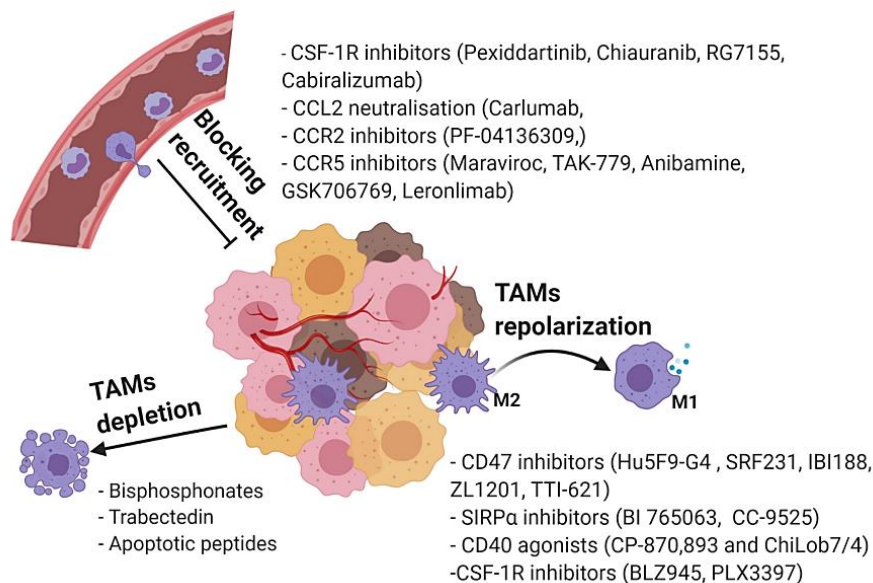
Sel kanker dapat menghindari fagositosis makrofag dengan mengekspresikan CD47 yang mengirimkan sinyal "*don't eat me*" ke sel fagosit melalui interaksi dengan reseptor *signal regulatory protein alpha* (SIRP α). CD47 ditemukan pada berbagai jenis tumor padat dan ekspresinya dikaitkan dengan berkurangnya OS. Dengan demikian memblokir aksis CD47-SIRP α ini telah banyak diteliti dalam pengobatan kanker dengan efek berupa peningkatan fagositosis sel kanker, repolarisasi TAM menuju fenotipe M1, peningkatan presentasi antigen DC ke sel T CD4, peningkatan sitotoksitas seluler yang dimediasi NK. (Hourani et al., 2021)

Repolarisasi makrofag menunjukkan harapan sebagai strategi terapi baru dalam pengobatan kanker. Dengan demikian, imunitas antitumor berpotensi ditingkatkan dengan memprogram ulang makrofag M2 menjadi M1 yang mampu meningkatkan pemusnahan sel tumor. (Hourani et al., 2021)

2.6.3. Strategi Terapi Melalui Deplesi TAM pada TME

Beberapa agen kemoterapi dilaporkan bersifat sitotoksik terhadap TAM. Bifosfonat, yang digunakan dalam pengobatan kanker metastasis tulang seperti kanker payudara dan kanker prostat, juga memiliki sifat membunuh makrofag selain membunuh sel tumor. Di antara bifosfonat yang paling banyak digunakan adalah klodronat dan asam zoledronat yang diberikan sebagai agen tunggal atau dalam kombinasi. (Hourani et al., 2021)

Bifosfonat memiliki bioavailabilitas rendah (waktu paruh plasma pendek, penyerapan cepat dalam tulang dan ekskresi ginjal cepat) dan menyebabkan efek samping diantaranya osteonekrosis rahang, fibrilasi atrium, nefrotoksitas, dan lesi gastrointestinal yang membatasi penggunaan dan potensi terapeutiknya. Pemberian nano bifosfonat memiliki lebih banyak keuntungan dibandingkan pemberian konvensional. Liposom klodronat menekan pertumbuhan tumor dan angiogenesis dan asam zoledronat dalam bentuk nanopartikel kalsium zoledronat berlapis lipid juga mendepleksi TAM dan melemahkan pertumbuhan tumor. (Hourani et al., 2021)



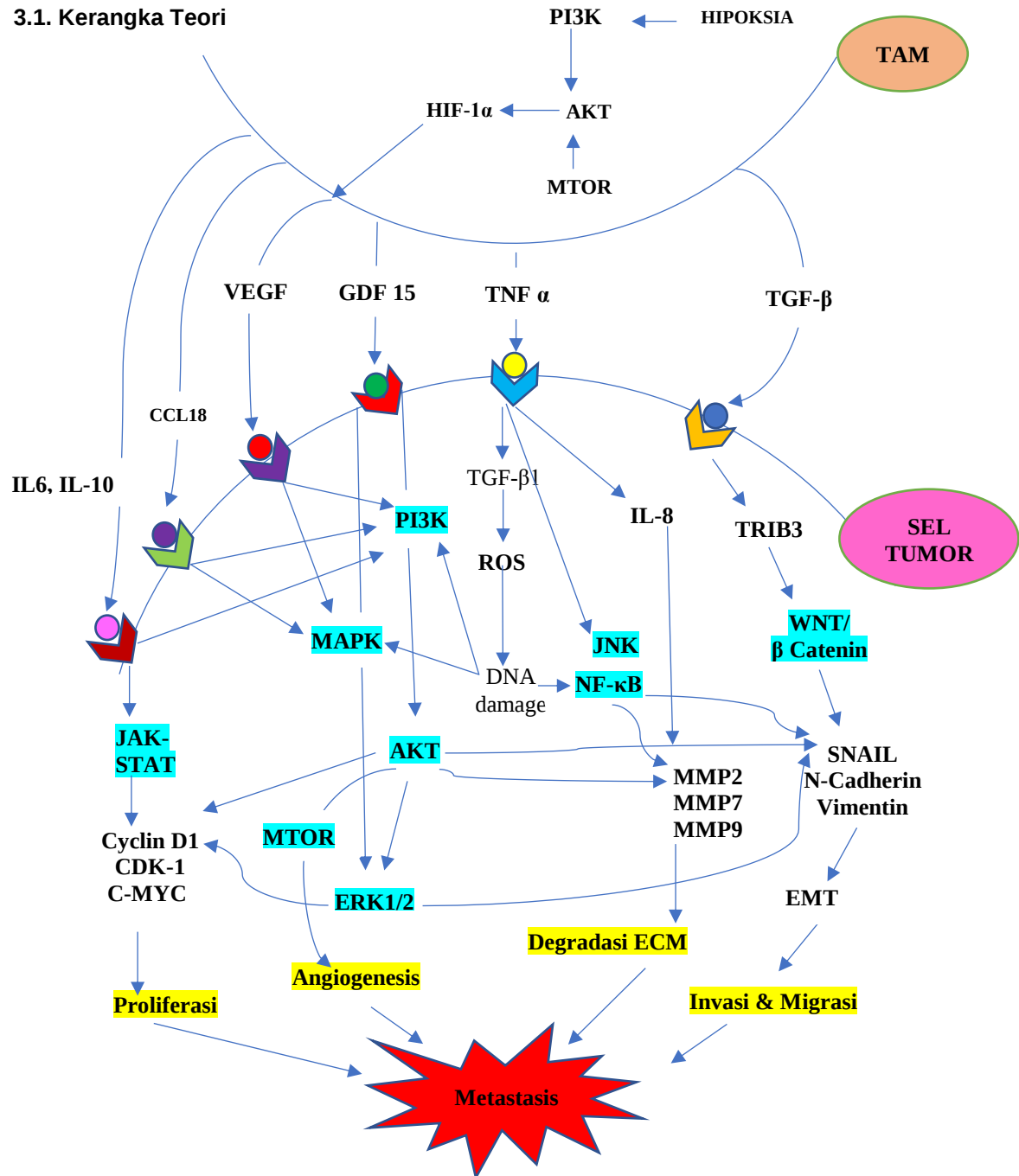
Gambar 2.22. Strategi terapi kanker dengan menargetkan TAM.(Hourani et al., 2021)

Trabectedin adalah agen kemoterapi yang digunakan untuk pengobatan sarkoma jaringan lunak stadium lanjut dan kanker ovarium residif. Selain memiliki efek sitotoksik pada sel kanker, trabectedin juga menginduksi apoptosis yang dimediasi caspase 8 pada makrofag melalui aktivasi sinyal *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL). Lurbinectedin, juga memiliki efek deplesi TAM pada model xenograft kanker ovarium manusia dan fibrosarkoma tikus. Sinergi pengobatan diperoleh ketika lurbinectedin diberikan dalam kombinasi dengan gemcitabine. Kombinasi pengobatan ini ditoleransi dengan baik dalam uji klinis Fase I pada pasien dengan tumor padat stadium lanjut.(Hourani et al., 2021)

Penelitian menunjukkan bahwa deplesi TAM memiliki potensi yang besar sebagai terapi baru kanker, baik dalam bentuk monoterapi maupun kombinasi. Namun pengobatan ini juga menimbulkan efek samping yakni mengurangi populasi makrofag sistemik, yang merupakan pertahanan lini pertama dalam respons imun bawaan. Terapi target menggunakan nano TAM seperti M2pep berpotensi untuk pengembangan terapi yang lebih spesifik dengan potensi efek rendah pada populasi makrofag sistemik. Tentu saja diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi keamanan dan efisiensi. Namun beberapa data praklinis menunjukkan bahwa formulasi dengan peptida yang menargetkan TAM berpotensi mengungguli pengobatan konvensional. (Hourani et al., 2021)

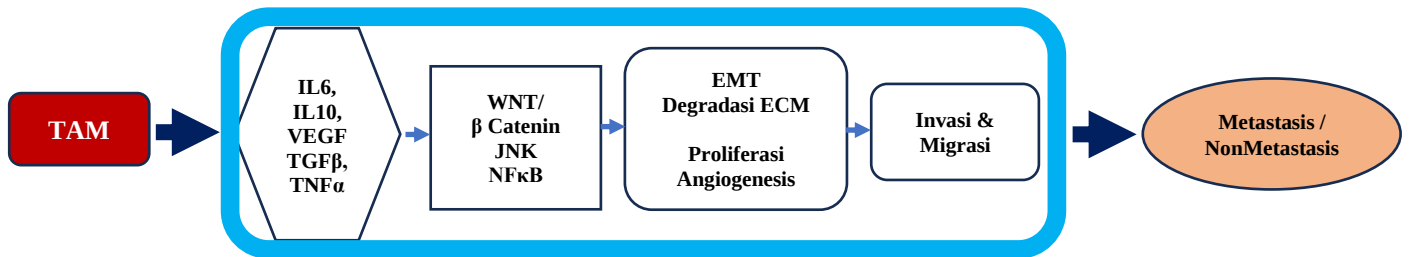
BAB III
KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori

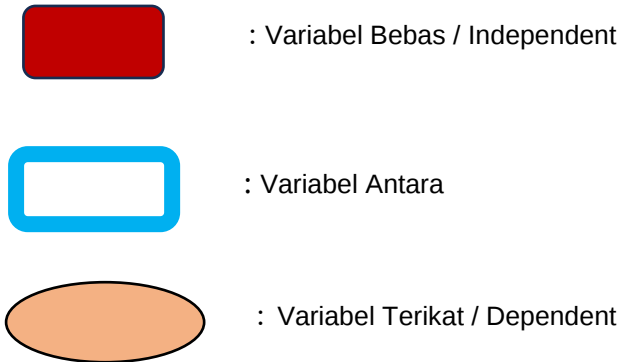


Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Keterangan:



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat hubungan antara ekspresi CD163 TAM dengan kejadian metastasis jauh pada kanker payudara.