

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan salah satu beban kesehatan dunia tertinggi, karena merupakan kanker dengan insiden ketiga tertinggi pada tahun 2017 dengan prevalensi sekitar 2 juta jiwa. Kanker payudara juga menyebabkan 181 ribu kematian tiap tahunnya dan 17,7 juta *disability-adjusted life years* (DALYs) (Bray *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019). Kesintasan pasien kanker payudara memiliki variasi yang cukup lebar dengan kesintasan 5 tahun sebesar 80% pada negara maju dan sekitar 40% untuk negara berkembang. (Coleman *et al.*, 2008)

Kanker payudara pada negara berkembang masih menjadi penyebab utama kematian dan kecacatan pada wanita dengan *case fatality rates* lebih tinggi dibandingkan negara maju. Kematian ini disebabkan oleh rendahnya kesadaran akan manfaat deteksi dini dan pengobatan kanker yang benar serta keterbatasan akses terhadap fasilitas yang mampu mendiagnosis dan menatalaksana kanker payudara. Data pada negara berkembang belum tercatat dengan baik, namun dari data yang dikumpulkan oleh Shulman *et al.* memperlihatkan bahwa sebagian besar pasien ditemukan dalam keadaan stadium lokal baik dengan metastasis ke kelenjar getah bening ketiak maupun dalam keadaan *unresectable*. (Shulman *et al.*, 2010; Martei *et al.*, 2018)

Kanker payudara memiliki tiga pilar utama dalam tatalaksananya, yaitu pembedahan, radioterapi dan terapi sistemik. Radioterapi dan terapi sistemik berfungsi sebagai terapi adjuvan terhadap pembedahan. Terapi sistemik baik berupa obat sitotoksik, terapi hormonal maupun *targeted therapy* ditujukan untuk mengurangi metastasis dan mengatasi sel kanker yang lepas ke darah, sedangkan radioterapi

berperan untuk mengurangi ke kambuhan lokoregional.(Nagao *et al.*, 2013; Bourdeanu and Liu, 2015) Radioterapi adalah terapi kanker dengan menggunakan sinar pengion berupa sinar X atau pun dari radiasi sumber alam. Radioterapi pada kanker payudara pada umumnya berperan sebagai komponen adjuvan untuk *breast conserving therapy* (BCT) pada stadium awal, sebagai adjuvan setelah mastektomi pada stadium lokal lanjut. Penanganan komprehensif secara multidisipliner diperlukan untuk meningkatkan kesintasan dan kualitas hidup pasien kanker payudara. Kemajuan teknologi dalam deteksi dan *monitoring* juga mengarahkan penatalaksanaan kanker payudara semakin *individualized*.

Kanker payudara stadium lokal lanjut memerlukan terapi multimodalitas yang melibatkan terapi sistemik, operasi dan radioterapi. Pada keadaan *unresectable* sistemik terapi sering diberikan terlebih dahulu, namun lebih dari sepertiga pasien tidak mengalami respons yang baik. Radioterapi neoadjuvan dapat berperan dalam kasus *unresectable* untuk menurunkan staging tumor dan menekan *ocult micrometastasis* kanker payudara. (Sousa *et al.*, 2020)

Konsep tradisional menilai radioterapi memiliki efek immunosupresi karena limfosit yang menginfiltrasi tumor memiliki sifat radio sensitif, meskipun efek terkait pemberian radiasi dengan dosis terfraksi masih belum dipahami.(Formenti and Demaria, 2013) Penelitian terkait imunologi dan radioterapi dalam dekade terakhir memperlihatkan bahwa radioterapi menstimulasi respons imun spesifik tumor yang dapat mengeliminasi sel kanker residual. (Kaur and Asea, 2012)

Radioterapi menyebabkan kerusakan DNA dan membran sehingga bisa menyebabkan munculnya *double strand breaks* DNA (dsDNA) pada sitosol. Hal ini selanjutnya akan mengaktifkan *pathway* cGAS-STING yang memperkenalkan DNA sel kanker sebagai antigen yang selanjutnya akan memicu respons imun terhadap sel

kanker. Penelitian invitro ditemukan bahwa mekanisme ini sangat bergantung pada dosis radiasi di mana pada dosis radiasi yang lebih tinggi menyebabkan aktivasi enzim *Three prime repair exonuclease 1* (Trex1) yang dikode oleh gen Trex1. Enzim Trex1 akan mendegradasi dsDNA sehingga menurunkan respons imun tumor. Trex1 mulai dikenal sebagai penanda negatif respons imun terpicu radiasi. (Vanpouille-Box *et al.*, 2017) Claire Vanpouille-Box *et al.* pada tahun 2017 menemukan bahwa respon imun radiasi dipengaruhi oleh dosis radiasi yang diberikan. Pada dosis di atas 12-18 Gy terjadi peningkatan *DNA exonuclease Trex1* pada berbagai jenis sel kanker yang mengurangi imunogenitas dengan mendegradasi dsDNA pada sitosol. Penelitian pada mencit dengan sel kanker payudara juga menemukan bahwa pada dosis 24 Gy dalam 3 fraksi terjadi degradasi signifikan dsDNA oleh *DNA exonuclease Trex1*. (Vanpouille-Box *et al.*, 2017)

Pemberian radioterapi pada kanker payudara dilakukan secara terfraksi baik dengan fraksi konvensional maupun hipofraksinasi, di mana dapat terjadi perbedaan respon imun dengan penelitian *invivo* yang memiliki skema dosis berbeda. Radiasi memicu kematian sel imunogenik, yang melepaskan *Tumor associated antigen* (TAAs) dan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang dipresentasikan oleh *antigen presenting cells* (APCs) di kelenjar getah bening. Hal ini akan mengaktifasi sel T efektor yang akan bermigrasi ke lingkungan mikro tumor dan membunuh sel kanker. Efek ini tidak hanya bisa terjadi pada lokal tumor namun bisa juga menyebabkan efek sistemik anti tumor yang disebut dengan *abscopal effect*. (Fields *et al.*, 2017; N *et al.*, 2017)

Sel kanker memiliki sifat yang unik, yang membedakan dari sel normal. Sifat ini dikenal dengan *hallmark of cancer*. Dalam perjalanan penyakit, *instabilitas genetic* menyebabkan sel kanker mengalami mutasi terus menerus sehingga menghasilkan

sifat yang semakin agresif.(Dizdaroglu, 2012) Seiring pertumbuhannya, sel kanker mendapatkan kemampuan untuk lepas dan mandiri dari jaringan primernya. Sel kanker yang mampu lepas dari jaringan tumor primer dan masuk ke dalam aliran pembuluh darah (intravasasi) disebut dengan *circulating tumor cells* (CTC). (Alix-Panabières *et al.*, 2012; Scully *et al.*, 2012; Dasgupta, Lim and Ghajar, 2017)

Biopsi jaringan sebagai standar emas dalam diagnosis memiliki keterbatasan sebagai metode evaluasi berkala karena bersifat invasif. Sebagai alternatif dapat dilakukan biopsi cair dari darah perifer, salah satunya adalah CTC.(Arneth, 2018; Mannelli, 2019) Setiap hari ribuan CTC lepas dari sel primer dan CTC sudah bisa ditemui dalam darah sejak stadium dini dan terus meningkat seiring bertambahnya stadium kanker.(W. C. Wang *et al.*, 2018) Setelah lepas dari tumor primer sebagian besar CTC akan mati dalam aliran darah karena disebabkan tekanan darah dan sel imun dalam aliran darah hal ini menyebabkan CTC memiliki waktu paruh 1-2,4 jam dalam darah.(Stott *et al.*, 2010; Alix-Panabieres and Pantel, 2014) karakter ini menyebabkan CTC berpotensi memberikan gambaran *real time* tumor primer yang dapat digunakan dalam penelitian dan klinis pasien.

Pemanfaatan CTC masih memiliki tantangan besar karena langkanya jumlah CTC pada darah perifer dengan rentang 0-10 sel/ 7,5 ml darah tepi. Deteksi CTC dapat dilakukan menggunakan sitologi imunohistokimia ataupun deteksi berbasis PCR. Peningkatan *detection rate* dapat dilakukan dengan sentrifugasi, filtrasi, immunomagnetic, imunoabsorbtion, pemisahan secara electrophoretic atau difusi dan banyak cara lain. Setiap Teknik deteksi memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Pemeriksaan CTC berbasis PCR dengan metode *enrichment* positif menggunakan marker EpCAM, Her2 dan EGFR memiliki sensitivitas yang setara dengan metode sellsearch yang telah di approve FDA. Hal ini didasari perubahan

ekspresi dari CTC kanker payudara berupa perubahan ekspresi epitelian menjadi mesenkim, dan peningkatan ekspresi Her-2 dan EGFR (Andreopoulou *et al.*, 2012; Schochter *et al.*, 2019)

Untuk memahami lebih jauh mengenai respons imun terpicu radiasi dibutuhkan metode penilaian yang feasibel. Berdasarkan penjelasan di atas peneliti mencoba menggali potensi CTC dalam menilai ekspresi marker respons imun terpicu radioterapi yaitu Trex1 dan cGAS dibandingkan dengan jaringan biopsi tumor primer.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut: Bagaimanakah ekspresi Trex1 dan cGAS antara jaringan biopsi dan circulating tumor cells kanker payudara setelah pemberian radiasi neoadjuvan ?

Secara khusus permasalahan penelitian khusus dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekspresi cGAS dan Trex1 dapat dinilai pada CTC kanker payudara?
2. Apakah terdapat perbedaan ekspresi cGAS pada jaringan biopsi dengan CTC?
3. Apakah terdapat perbedaan ekspresi Trex1 pada jaringan biopsi dengan CTC?
4. Apakah terdapat perbedaan ekspresi cGAS setelah pemberian radiasi neoadjuvan?
5. Apakah terdapat perbedaan ekspresi Trex1 setelah pemberian radiasi neoadjuvan?
6. Apakah terdapat hubungan ekspresi cGAS dan Trex1 pada jaringan biopsi sebelum dan sesudah pemberian radiasi neoadjuvan?
7. Apakah terdapat hubungan ekspresi cGAS dan Trex1 pada CTC sebelum dan sesudah pemberian radiasi neoadjuvan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan perbedaan ekspresi Trex1 dan cGAS antara jaringan biopsi dan *circulating tumor cells* kanker payudara setelah pemberian radiasi neoadjuvan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui apakah ekspresi cGAS dan Treg1 dapat dinilai pada CTC kanker payudara.
2. Menganalisa perbedaan ekspresi cGAS antara jaringan biopsi dengan CTC.
3. Menganalisa perbedaan ekspresi Treg1 antara jaringan biopsi dengan CTC.
4. Menganalisa perbedaan ekspresi cGAS setelah pemberian radiasi neoadjuvan.
5. Menganalisa perbedaan ekspresi Treg1 setelah pemberian radiasi neoadjuvan.
6. Menganalisa hubungan ekspresi cGAS dan Treg1 pada jaringan biopsi pada pemberian radiasi neoadjuvan.
7. Mengetahui hubungan ekspresi cGAS dan Treg1 pada CTC pada pemberian radiasi neoadjuvan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan memberikan pemahaman lebih jauh mengenai potensi CTC sebagai metode non-invasif dalam menilai respons imun terhadap kanker.
2. Penelitian ini juga diharapkan bisa membantu klinisi dalam menentukan penatalaksanaan kepada pasien kanker payudara yang lebih *individualized*.

