

**MEKANISME KANKER PAYUDARA RESIDIF LOKAL TERHADAP PEMBERIAN  
KEMOTERAPI CYCLOPHOSPHAMID, DOXORUBICIN, FLUOROURACIL  
MELALUI PENINGKATAN HSP60, HSP70 DAN  
PENGARUH LINGKUNGAN MIKRO TAM, IL6**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS IN VITRO



BAMBANG ARIANTO

NIM : 090970127

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

2013

LEMBAR PENGESAHAN  
UJIAN AKHIR TAHAP I (TERTUTUP)  
Telah disetujui tanggal 19 Agustus 2013

Promotor



Prof. Dr. Suhartono Taat Putra dr. MS

NIP. 19480602 198103 1 002

Pembantu Promotor



Prof. Aulanni'am drh.,DES

NIP. 19600903 198802 2 001

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr.Sp.A.(K)SPJP FIHA.

NIP. 19501216 197703 1 002

**Disertasi ini telah diuji pada Ujian Akhir Tahap I (Tertutup)**

**Tanggal 30 Agustus 2013**

PANITIA PENGUJI

Ketua : Prof. Kuntoro. Dr. MPH.PhD.

- Anggota:
1. Prof. Dr. Suhartono Taat Putra. dr.MS.
  2. Prof. Aulanni, drh.,DES
  3. Prof. Dr. Ambar Mudigdo, dr.Sp.PA(K)
  4. Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.
  5. Dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA.
  6. Dr. Eddy Herman Tanggo dr. Sp.B. (K)Onk
  - 7..Dr. I Ketut Sudiana, Drs, MS.

**Ditetapkan dengan:**

**Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Airlangga**

**Nomor : 343/UN3.1.1/KD/2013**

**Tanggal : 27 Agustus 2013**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan YME yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Penyelesaian disertasi ini tidak lepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, maka dari itu dengan hati yang tulus dan penuh rasa syukur, terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada yang terhormat :

Prof.Dr. Suhartono Taat Putra, dr.,MS, sebagai Promotor yang telah dengan ikhlas dan penuh kesabaran membimbing, memotivasi, membantu, memperluas wawasan keilmuan dan memberikan saran serta memberikan dukungan moril secara terus menerus, sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Semoga Tuhan YME selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.

Prof. Aulanni'am drh.,DES sebagai Kopromotor I, yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dengan penuh kesabaran dan perhatian, memperluas wawasan keilmuan, memotivasi secara terus menerus, sehingga disertasi ini dapat terselesaikan. Semoga Tuhan YME selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.

Prof. Dr. H. Fasichul Lisan, Apt., Rektor Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Program Doktor ini.

Prof.Dr.Agung Pranoto,dr.,Mkes., Sp.PD., K-EMD., FINASIM, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Program Doktor, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A (K), Sp. JP AKK, Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran, atas kesempatan mengikuti Pendidikan Program Doktor ini dan memperlancar proses akademik selama pendidikan di Program Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Harjanto JM., dr. AIFM, mantan Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran, atas kesempatan mengikuti Pendidikan Program Doktor ini dan memperlancar proses akademik selama pendidikan di Program Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Hj. Sri Hajati, SH, MS, Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Program Doktor ini.

Para pembimbing dan penguji yang saya hormati Prof. Dr. Ambar Mudigdo, dr.Sp.PA(K), Prof. Kuntoro. Dr. MPH.PhD. Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh. Dr. Eddy Herman Tanggo dr. Sp.B. (K) Onk. Dr. I Ketut Suidiana, Drs, MS. yang telah memberikan dukungan dan asupan sangat berharga dalam pemikiran dan penulisan disertasi ini.

Para dosen yang saya hormati Prof. H. Kuntoro, dr., MPH., Dr PH sebagai Konsultan metodologi penelitian yang telah memberikan asupan, bantuan dalam metodologi penelitian sehingga disertasi ini terselesaikan.

Dr. I Ketut Suidiana, Drs., MS, yang dengan sabar dan penuh perhatian memberikan motivasi dan memperluas keilmuan saya, sehingga disertasi ini dapat selesai.

Direktur RSUD Haji yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.



Ketua Departemen Ilmu Bedah yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. Serta para Staf yang telah dengan penuh pengertian dan kesabaran memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti kegiatan pendidikan.

Dr. Karyono Mintaroem, dr., Sp. PA., Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan seluruh staff serta karyawan Departemen Biomedik FK Universitas Brawijaya, saya ucapkan terimakasih atas segala bantuan memfasilitasi penelitian ini dan kerjasama yang baik selama ini.

Para Staf dan sejawat di Instalasi RSUD Haji, saya mengucapkan terimakasih yang sedalam dalamnya, telah banyak membantu dan memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti kegiatan pendidikan dan telah menggantikan tugas-tugas selama mengikuti pendidikan.

Prof. Dr. Nasonudin, dr., Sp.PD,K-PTI selaku Direktur *Institute of Tropical Disease*, yang telah memberikan ijin untuk menggunakan fasilitas laboratorium yang beliau pimpin.

Wibi Riawan, Ssi dari bagian Biomedik Universitas Brawijaya Malang yang telah dengan sabar memberikan bimbingan, bantuan dalam penelitian, memberikan asupan, saran, sehingga disertasi ini dapat selesai.

Mbak Helen, A.Md, mas Erik, A.Md, yang telah memberikan bantuan dalam penelitian.

Teman peserta didik Program Doktor Universitas Airlangga angkatan tahun 2009/2010, telah bekerjasama dengan baik dan saling memberi dorongan semangat serta saran untuk kelancaran pendidikan doktor ini.

Para Guru saya yang telah mendidik serta memberikan wawasan, bekal ilmu pengetahuan yang luas dan mendorong maju untuk selalu menambah ilmu.

Terima kasih dan hormat tak terhingga serta cinta yang tak terukur saya kepada kedua orang tua saya Bapak Prof. Bambang Soebali, Drs., As.cc, Ibu Soemiastini, yang dengan penuh cinta kasih dan dukungan, semangat dan doa selama ini.. Kedua almarhum mertua saya, yang semasa hidupnya telah dengan penuh kasih sayang membesarkan, mendidik dan memberikan bimbingan dengan sepuh hati.

Terimakasih yang tak terhingga kepada isteri tercinta Dr.Nyilo Purnami,dr.Sp.THT-KL(K) atas segala doa, dorongan semangat dan kesediaannya berkorban dengan penuh kesabaran mendampingi dalam suka maupun duka selama saya menempuh pendidikan. Semua anak terkasih Deary Previanto, Biyan Maulana dan Vira Triarianti sebagai penyejuk jiwa yang telah merelakan waktu dan menjadikan semangat dorongan untuk menyelesaikan pendidikan ini.

Semua adik saya, Ir.Bambang Rudy Prasetya, Dra. Endang Tri Ratnawati, Ir. Bambang Herdianto dan semua kakak ipar Dra. Sri Harti, Apt., Estiningrum, SH., Nyugesti Handayani, SPd. yang selalu memberikan motivasi, dukungan, cinta kasih dan doa.

Kepada semua pihak, handai taulan dan para sejawat yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan selama saya menempuh pendidikan Doktor ini. Semoga Tuhan YME selalu melimpahkan karunia, rahmat kepada kita semua.

**RINGKASAN****MEKANISME KANKER PAYUDARA RESIDIF LOKAL TERHADAP PEMBERIAN  
KEMOTERAPI CYCLOPHOSPHAMID, DOXORUBICIN, FLUOROURACIL  
MELALUI PENINGKATAN HSP60, HSP70 DAN  
PENGARUH LINGKUNGAN MIKRO TAM, IL6**

Bambang Arianto

Kanker payudara residif lokal sering terjadi setelah terapi. Padahal kanker payudara residif lokal sangat mempengaruhi prognosa penderita kanker payudara. Banyak penelitian berusaha mengungkap mekanisme kanker payudara, tetapi pada kanker payudara residif lokal belum terungkap secara jelas. Penelitian ini ingin mengungkap mekanisme kanker payudara residif lokal berhubungan dengan sel punca kanker, sel kanker dan TAM yang mengekspresikan HSP60, HSP70 dan IL6 serta pengaruh lingkungan mikro IL6 ketika dipajan kemoterapi kombinasi cyclophosphamid, doxorubicin dan fluorouracil.

Metode penelitian *in vitro* dari kultur kanker payudara primi manusia, kemudian dipajan kemoterapi CAF dengan lama pajanan 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Pemilihan jenis kemoterapi CAF karena merupakan kemoterapi standar, tersedia di RS Haji dan harga terjangkau. Waktu pajanan yang diukur pada jam 24, jam 48, jam 72 dan jam 96 untuk mengetahui efek kemoterapi pajanan pendek dan lama berkaitan dengan perubahan biomolekuler dalam sel. Penelitian ini meneliti 3 jenis sel yaitu sel punca kanker yang diduga sebagai penyebab kekambuhan, sel kanker yang merupakan target kemoterapi dan TAM yang berperan pada lingkungan mikro kanker. Teknik identifikasi sel melalui pemeriksaan IHK dengan antibodi monoklonal CD24 untuk sel kanker, CD44 untuk sel punca kanker dan CD163 untuk TAM.

Variabel yang diukur ada 4 variabel yaitu HSP60, HSP70, IL6 dan apoptosis. Pengukuran HSP60 karena masih ada kontroversi proapoptosis atau antiapoptosis, HSP70 sebagai sitoprotektif antiapoptosis dan IL6 berpengaruh pada lingkungan mikro kanker. Variabel tergantungnya adalah apoptosis.

Walaupun penelitian *in vitro*, tetapi supaya mendekati *in vivo*, maka sampel yang digunakan adalah kultur primer kanker payudara dipajan kemoterapi, sehingga sel tetap dalam lingkungan mikro. Pemeriksaan yang dilakukan dengan teknik IHK double staining, diidentifikasi jenis sel dan diukur ekspresi HSP60, HSP70, IL6 serta apoptosis. Apoptosis dilakukan pemeriksaan melalui metode Tunel. Peran IL6 besar pada lingkungan mikro kanker, untuk itu juga melalui pemeriksaan Elisa diukur kadar IL6 ekstrasel.

Analisis statistik dengan uji beda Anova untuk menganalisa efek kemoterapi pada sel kanker, sel punca kanker dan TAM. Uji korelasi bivariate digunakan untuk mencari hubungan antar variabel.



Hasil pajanan kemoterapi CAF terhadap kanker payudara menyebabkan sel kanker paling banyak apoptosis, Apoptosis TAM lebih rendah dibanding sel kanker dan sel punca kanker paling tahan terhadap kemoterapi. Pajanan kemoterapi CAF menyebabkan ekspresi HSP60 dan HSP70 meningkat tinggi menyebabkan fungsi HSP60 dan HSP70 tidak optimal sehingga apoptosis sel kanker, sel punca kanker tidak maksimal, ketika waktu pajanan diperpanjang sel melakukan adaptasi sehingga HSP60, HSP70 menurun menuju optimal meningkatkan apoptosis. Lingkungan mikro dibentuk oleh IL6 dari TAM dan berpengaruh pada sel kanker, sel punca dan TAM. Pengaruh IL6 terhadap sel kanker melakukan regulasi apoptosis mengarah proapoptosis. Pengaruh IL6 terhadap sel punca kanker melakukan edukasi sehingga mudah beradaptasi terhadap lingkungan mikro. Pengaruh IL6 terhadap TAM melakukan regulasi dan edukasi TAM dalam mempengaruhi lingkungan mikro.

Kesimpulan HSP60, HSP70 dan IL6ekstrasel mempunyai pengaruh pada sel kanker, sel punca kanker dan TAM sehingga terjadi kanker payudara residif lokal. Manfaat klinis, waktu pajanan kemoterapi yang lama meningkatkan apoptosis sel kanker, tetapi tetap sulit membunuh sel punca kanker.



**ABSTRACT****MECHANISM OF RECURRENT LOCAL BREAST CANCER TO CYCLOPHOSPHAMID , DOXORUBICIN , FLUOROURACIL CHEMOTHERAPY WITH THE EXPRESSION OF HSP60 , HSP70 AND THE EFFECT OF MICRO-ENVIRONMENT OF TAM, IL6****Bambang Arianto**

**Background:** Recurrent local breast cancer often occurs after receiving chemotherapy. What is the mechanism of local recurrent breast cancer is not clear. This study aimed to find the mechanisms of local recurrent breast cancer in association with cancer stem cells, cancer cells, TAM and the expression of HSP60 , HSP70 and IL6 . **Methods:** study was designed in vitro experimental research laboratory. Primary cultures from human breast cancer then exposed with combination chemotherapy of Cyclophosphamid 500µg/ml , Doxorubicin 5 ug / ml , 25µg/ml Fluorouracil for 4 days. Observation was taken serially at 24, 48, 72 and 96 hours . IHC double staining method was done to identify the expression of HSP60 , HSP70 , IL6 in cancer stem cells ( CD44 ) , cancer cells ( CD24 ) and TAM ( CD163 ) . Elisa method was used to measure IL6. Observations apoptosis of cancer cells , cancer stem cells and TAM were using TUNEL method . **Results:** The exposure of CAF chemotherapy caused cancer cell apoptosis (mean 34.25) , cancer stem cells (mean 5) and TAM (mean 11.75) in every 100 cells. The longer of exposure time to chemotherapy led an increasing on apoptosis, but on 72 hours of exposure was identified that cancer stem cells began to adapt . The role HSP60 and HSP70 as chaperon proteins affected apoptosis with optimal amount of protein folding rejuvenate proapoptosis protein, including interleukin 6 , then apoptosis was increased . The apoptosis was needed to kill cancer cells that are damaged and could not be repaired. Interleukin 6 influenced the regulation of apoptosis and educate cancer stem cells which are resistant to chemotherapy. **Conclusion :** HSP60 , HSP70 as chaperones and IL6 as a regulator protein caused resistance of cancer stem cells to chemotherapy, allowing the locally recurrent breast cancer . .

Keywords : HSP 60 , HSP 70 , IL6 , stem cells , recurrent , breast cancer

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul depan	
Sampul dalam.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Ucapan terima kasih.....	iv
Ringkasan.....	viii
Abstrak.....	x
Daftar Isi.....	xi
Daftar Tabel.....	xv
Daftar Gambar.....	xvii
Daftar Singkatan.....	xx
<b>BAB 1</b> <b>PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1    Latar Belakang.....	1
1.2    Rumusan Masalah.....	4
1.3    Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4    Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6
<b>BAB 2</b> <b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1    Epidemiologi.....	7
2.2    Anatomi, Pertumbuhan dan Perkembangan.....	8
2.2.1 Anatomi.....	8
2.2.2 Pertumbuhan Payudara.....	9
2.3    Kanker Payudara.....	13
2.3.1 Klasifikasi.....	13
2.3.2 Status reseptor hormone dan HER2 pada kanker payudara	16
2.3.3 Asal sel kanker payudara.....	19

2.3.4	Penanganan kanker payudara.....	20
2.4	Sel Punca.....	22
2.4.1	Sel punca kanker payudara.....	24
2.4.2	Mekanisme heterogen kanker payudara.....	30
2.4.3	Perbedaan CD44 dan CD24 dalam heterogenitas tumor.....	32
2.4.4	Lingkungan mikro sel punca (Niche).....	34
2.4.5	Sel punca quiescence (diam).....	36
2.5	Tumor Associated Macrophage.....	38
2.6	Interleukin 6.....	39
2.7	Cara kerja kemoterapi.....	42
2.7.1	Doxorubicin.....	42
2.7.2	Cyclophosphamide.....	43
2.7.3	Fluorourasil.....	45
2.7.4	Efektifitas kemoterapi terhadap kematian sel kanker payudara	45
2.7.5	Mekanisme resistensi obat kemoterapi pada kanker payudara	46
2.8	Mekanisme kematian sel.....	48
2.8.1	Apoptosis.....	48
2.8.2	Sel punca dan apoptosis.....	53
2.9	Heat Shock Protein.....	54
2.9.1	Heat shock protein 60.....	55
2.9.2	Heat shock protein 70.....	57
2.9.3	Fungsi HSP pada proses apoptosis.....	59
2.9.5	Heat shock factor.....	60
2.9.6	HSP pada kanker payudara.....	62
2.9.7	HSP ekstrasel.....	63
<b>BAB III</b>	<b>KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>	<b>65</b>
3.1	Kerangka konseptual.....	65
3.2	Hipotesa.....	67
<b>BAB IV</b>	<b>MATERI DAN METODE PENELITIAN.....</b>	<b>68</b>
4.1.	Rancang bangun penelitian.....	68
4.2	Sampel/Subyek penelitan.....	69

4.2.1	Unit eksperimen.....	69
4.2.2	Sampel.....	69
4.2.3	Besar sampel.....	70
4.2.4	Pengelompokan sampel.....	70
4.2.5	Teknik pengambilan sampel.....	71
4.3	Variabel penelitian.....	71
4.3.1	Klasifikasi variable penelitian.....	71
4.3.2	Definisi operasional.....	72
4.4	Tempat dan waktu penelitian.....	74
4.6.1	Tempat Penelitian.....	74
4.6.2	Waktu penelitian.....	74
4.5	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	74
4.6	Cara Pengelolaan dan Analisa Data.....	75
4.7	Luaran penelitian.....	76
4.8	Kerangka operasional peneltian.....	77
4.9	Bahan dan alat penelitian.....	78
4.10	Cara kerja.....	79
4.10.1	Isolasi dan kultur sel kanker payudara.....	79
4.10.2	Pajanan pada kultur kanker payudara dengan dosis kominasi	80
4.10.3	Pengamatan apoptosis sel kanker yang mengalami apoptosis: Doublestain DNA terfragmentasi (TUNEL) dan ekspresi CD24 (imunositokimia) .....	80
4.10.4	Cara pewarnaan immunodoublestain dan pewarnaan ekspresi HSP60, HSP70 dan IL6 pada sel kanker (CD24), sel punca kanker (CD44) dan TAM (CD163) .....	89
4.10.5	Prosedur perhitungan hasil pemeriksaan IHK.....	82
<b>BAB 5</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS.....</b>	<b>83</b>
5.1	Pengambilan bahan sampel penelitian.....	83
5.2	Pemeriksaan Hematoxillin Eosin.....	83
5,3	Pemeriksaan IHK reseptor hormone kanker payudara.....	84
5.4	Distribusi sel punca kanker, sel kanker dan TAM.....	85

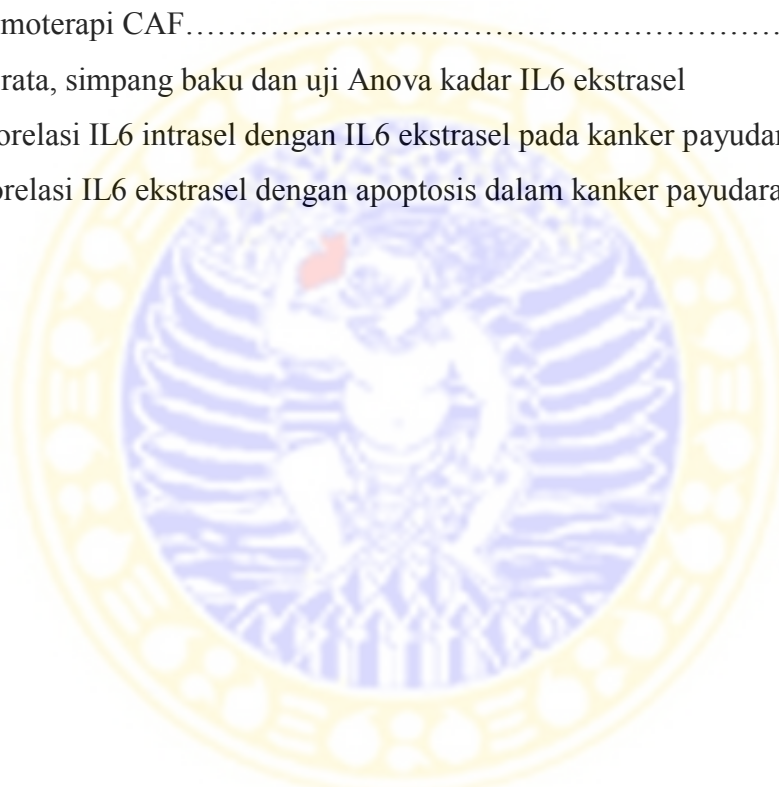


5.5	Distribusi sel dalam kultur kanker payudara.....	87
5.6	Profil apoptosis sel kanker, sel punca kanker dan TAM.....	88
5.7	Profil ekspresi protein .....	90
5.7.1	Profil sel kanker payudara mengekspresi HSP60, HSP70, IL6, Apoptosis.....	91
5.7.2.	Profil sel punca kanker payudara mengekspresi HSP60, HSP70, IL6, apoptosis.....	99
5.7.3	Profil TAM yang mengekspresi HSP60, HSP70, IL6, apoptosis.....	107
5.7.4.	Profil kadar IL6 ekstrasel.....	115
<b>BAB 6</b>	<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>118</b>
6.1.	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap distribusi sel dalam kanker payudara .....	121
6.2.	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap apoptosis.....	123
6.3	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap ekspresi HSP60, HSP70, IL6 dan apoptosis pada sel kanker payudara.....	123
6.4	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap ekspresi HSP70 pada sel kanker	126
6.5	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap ekspresi HSP60 pada sel kanker	130
6.6	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap ekspresi IL6 pada sel kanker	133
6.7	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap ekspresi HSP60, HSP70, IL6 dan apoptosis pada sel punca kanker payudara.....	135
6.8	Pengaruh kemoterapi CAF terhadap ekspresi HSP60, HSP70 dan IL6 pada TAM dalam kanker payudara.....	140
6.9	Nilai kebaruan penelitian.....	146
<b>BAB 7</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>149</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>152</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>162</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi berdasar morfologi.....	15
Tabel 2.2	Klasifikasi berdasar molekuler dan imunohistokimia.....	16
Tabel 2.3	Klasifikasi obat kemoterapi.....	21
Tabel 2.4	Pilihan terapi sistemik <i>adjuvant</i> kanker payudara.....	22
Tabel 2.5	Fenotipe karakteristik sel punca kanker payudara.....	30
Tabel 2.6	Kelompok anti kanker dan cara kerja.....	42
Tabel 2.7	Mekanisme resisten kanker payudara terhadap obat kemoterapi.....	47
Tabel 2.8	Mekanisme apoptosis.....	49
Tabel 2.9	HSP yang berperan pada apoptosis.....	60
Tabel 2.10	Fungsi protein stress.....	64
Tabel 5.1	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel kanker yang apoptosis pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	92
Tabel 5.2	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel kanker yang mengekspresikan HSP60 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF....	93
Tabel 5.3	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel kanker yang mengekspresikan HSP70 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	94
Tabel 5.4	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel kanker yang mengekspresikan IL6 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	95
Tabel 5.5	Korelasi antar variable yang diteliti pada sel kanker ketika dipajan kemoterapi CAF.....	98
Tabel 5.6	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel punca kanker yang apoptosis pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	100
Tabel 5.7	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel punca kanker yang mengekspresikan HSP60 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	101
Tabel 5.8	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel punca kanker yang mengekspresikan HSP70 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	102
Tabel 5.9	Rerata, simpang baku dan uji Anova sel punca kanker yang mengekspresikan IL6 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	103
Tabel 5.10	Korelasi antar variable yang diteliti pada sel punca kanker ketika dipajan kemoterapi CAF.....	106

Tabel 5.11	Rerata, simpang baku dan uji Anova TAM yang apoptosis pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	108
abel 5.12	Rerata, simpang baku dan uji Anova TAM yang mengekspresikan HSP60 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	109
Tabel 5.13	Rerata, simpang baku dan uji Anova TAM yang mengekspresikan HSP70 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	110
Tabel 5.14	Rerata, simpang baku dan uji Anova TAM yang mengekspresikan IL6 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	111
Tabel 5.15	Korelasi antar variable yang diteliti pada TAM ketika dipajan kemoterapi CAF.....	114
Tabel 5.16	Rerata, simpang baku dan uji Anova kadar IL6 ekstrasel	116
Tabel 5.17	Korelasi IL6 intrasel dengan IL6 ekstrasel pada kanker payudara	117
Tabel 5.18	Korelasi IL6 ekstrasel dengan apoptosis dalam kanker payudara	117



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Anatomi dan histology kelenjar payudara .....	9
Gambar 2.2	Perkembangan embrio kelenjar payudara.....	10
Gambar 2.3	Perkembangan kelenjar payudara saat dewasa.....	11
Gambar 2.4	<i>The terminal end bud</i> (TEB).....	12
Gambar 2.5	Model diferensiasi epitel payudara.....	13
Gambar 2.6	Asal usul kanker payudara.....	19
Gambar 2.7	Klasifikasi kanker payudara berdasar subtppe intrinsic dan hubungannya dengan sel punca kanker. ....	20
Gambar 2.8	Kemampuan sel punca dalam proliferasi, self renewal, diferensiasi dan transformasi.....	24
Gambar 2.9	Model hipotesa tentang asal usul sel punca kanker.....	26
Gambar 2.10	Teori Cancer Stem Cell.....	31
Gambar 2.11	Teori Clonal Evolution.....	31
Gambar 2.12	Model hipotesa asal usul intertumor dan heterogenitas intratumor pada kanker payudara.....	32
Gambar 2.13	Model hipotesis perkembangan tumor menjadi progresif dan metastase pada sel kanker payudara.....	33
Gambar 2.14	Perkembangan kelenjar susu pada tingkat potensi stemness.....	35
Gambar 2.15	Sitokin dalam lingkungan mikro tumor.....	36
Gambar 2.16	Jalur sel punca quiescence.....	37
Gambar 2.17	Polarisasi makrofage .....	39
Gambar 2.18	Farmokokinetik/farmakodinamik cyclophosphamide.....	44
Gambar 2.19	Hubungan sel punca kanker, hipotesa clonal evolution, heterogenitas dan progresifitas kanker.....	48
Gambar 2.20	Proses Apoptosis.....	51
Gambar 2.21	Mekanisme kemoterapi menyebabkan apoptosis.....	53
Gambar 2.22	Model of Hsp60-regulated cytoprotection in cancer .....	57
Gambar 2.23	Signal fisiologi aktivasi ekspresi HSP70.....	58
Gambar 2.24	HSP70 memacu pelepasan sitokine.....	59
Gambar 2.25	HSP60 dan HSP70 memacu pelepasan sitokine pro inflamasi.....	61

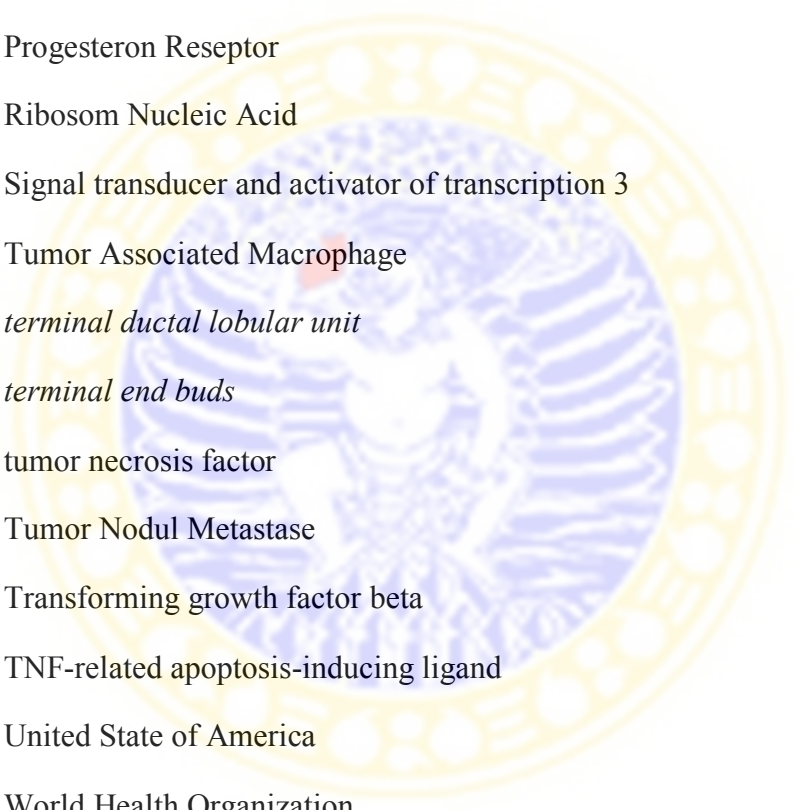
Gambar 2.26	Regulation of transcription of heat shock protein gens by HSF	61
Gambar 2.27	Aktifitas immunomodulator HSP ekstraselluler pada Antigen resentating Cell.....	64
Gambar 3.1	Kerangka Konsep.....	65
Gambar 5.1	Representatif HE jaringan payudara.....	84
Gambar 5.2	Representatif IHK reseptor hormone.....	85
Gambar 5.3	Representatif IHK distribusi sel punca kanker (CD44), sel kanker (CD24) dan TAM (CD163).....	86
Gambar 5.4	Representatif IHK distribusi sel punca kanker (CD44), sel kanker (CD24) dan TAM (CD163) pada kultur primer.....	86
Gambar 5.5	Distribusi sel punca kanker, TAM dan sel kanker pada kanker payudara	87
Gambar 5.6	Diagram garis rerata sel kanker, sel punca kanker dan TAM yang mengekspresikan apoptosis .....	89
Gambar 5.7	Sel kanker primi (CD24).....	91
Gambar 5.8	Rerata sel kanker yang apoptosis pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	92
Gambar 5.9	Rerata sel kanker yang mengekspresikan HSP60 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	93
Gambar 5.10	Rerata sel kanker yang mengekspresikan HSP70 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	94
Gambar 5.11	Rerata sel kanker yang mengekspresikan IL6 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	95
Gambar 5.12	Ekspresi protein tiap kelompok waktu pajanan pada sel kanker dalam grafik batang .....	96
Gambar 5.13	Sel punca kanker (CD24).....	99
Gambar 5.14	Rerata sel punca kanker yang apoptosis pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	100
Gambar 5.15	Rerata sel punca kanker yang mengekspresikan HSP60 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	101
Gambar 5.16	Rerata sel punca kanker yang mengekspresikan HSP70 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	102



Gambar 5.17	Rerata sel punca kanker yang mengekspresikan IL6 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF	104
Gambar 5.18.	Ekspresi protein tiap kelompok waktu pajanan pada sel punca kanker dalam grafik batang.....	105
Gambar 5.19	TAM (CD163).....	107
Gambar 5.20	Rerata TAM yang apoptosis pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	108
Gambar 5.21.	Rerata TAM yang mengekspresikan HSP60 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF .....	109
Gambar 5.22	Rerata TAM yang mengekspresikan HSP70 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	110
Gambar 5.23	Rerata TAM yang mengekspresikan IL6 pada kultur kanker payudara yang dipajan kemoterapi CAF.....	112
Gambar 5.24	Ekspresi protein tiap kelompok waktu pajanan pada TAM dalam grafik batang .....	113
Gambar 5.25	Diagram garis rerata kadar IL6 intrasel pada kanker payudara kontrol dan dipajan kemoterapi CAF .....	115
Gambar 5.2	Rerata kadar IL6 ekstrasel.....	116
Gambar 6.1	Korelasi antar variable dalam sel kanker payudara.....	126
Gambar 6.2	Korelasi antar variabel dalam sel punca kanker .....	137
Gambar 6.3	Korelasi antar variable dalam TAM .....	142
Gambar 6.4	Model korelasi HSP60, HSP70 dan IL6 terhadap kanker payudara	146

## DAFTAR SINGKATAN

ABC	: ATP binding cassette
ALDH1	: Aldehida dehidrogenase1
Apaf-1	: Apoptotic protease activating factor - 1
APC	: Antigen Presentating Cell
ATM	: ataxia telangiectasis mutated
<i>Bcl-2</i>	: B-cell lymphoma 2
BCS	: Breast Conserving Surgery
BRCA	: Breast Cancer susceptibility protein
CAF	: Cyclophosphamide, Adriamycin/Epirubicin, 5Fluoro Uracil
Caspases	: Cysteine dependent aspartate specific family of proteases
CCL22	: (C-C motif) ligan 22
CD	: Cluster of Diferentiation
CMF	: Cyclophosphamid, Metotrexate, Fluorouracil
CPA	: Cyclophosphamide
CSCs	: Cancer Stem Cells
DAP	: Diamino benzidin
DNA	: Deoxyribonucleic acid
DOX	: Doxorubicin
ER	: Estrogen Reseptor
FADD	: Fas-associated death domain
5FU	: 5 Fluorouracil
GnRH	: Gonadotropin Relesing Hormones
HER2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HIF1	: Hypoxia-inducible factor 1
HSP	: Heat Shock Protein



HSF	: Heat Shock Factor
IHK	: Imunohistokimia
IL6	: Interleukin 6
ITD	: Institute Tropical Disease
NF- $\kappa$ B	: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
MHC	: Major histocompatibility complex
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PERABOI	: Perhimpunan Ahli Bedah Onkologi Indonesia
PR	: Progesteron Reseptor
RNA	: Ribosom Nucleic Acid
STAT3	: Signal transducer and activator of transcription 3
TAM	: Tumor Associated Macrophage
TDLUs	: <i>terminal ductal lobular unit</i>
TEBs	: <i>terminal end buds</i>
TNF	: tumor necrosis factor
TNM	: Tumor Nodul Metastase
TGF- $\beta$	: Transforming growth factor beta
TRAIL	: TNF-related apoptosis-inducing ligand
USA	: United State of America
WHO	: World Health Organization

- Wels, J, Kaplan, RN, Rafii, S, et al 2011, 'Migratory neighbors and distant invaders: tumor-associated niche cells', *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, pp 558-574.
- Wicha, MS, Liu, S & Dontu, G 2006, 'Cancer Stem Cells: An Old Idea—A Paradigm Shift', *Cancer Res* , vol. 66, no. 4, pp.1883-1890.
- WHO 2010, 'Breast cancer burden', available at <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html>
- WHO 2006, 'Guideline for Management of Breast Cancer', *EMRO Technical Publications* , vol. 31, pp.1-57.
- Wind, NS, Holen, I 2011, 'Review Article Multidrug Resistance in Breast Cancer', From In Vitro Models to Clinical Studies. *International Journal of Breast Cancer*, vol. 2011, pp. 12.
- Woodward, WA, Chen, MS, Behbod, F & Rosen, JM 2005, 'On mammary stem cells', *Journal of Cell Science* , vol. 118, pp. 3585-3594.
- Yagüe, E, Arance, A, Kubitza, L, et al 2007, ' Ability to Acquire Drug Resistance Arises Early during the Tumorigenesis Process', *Cancer Res*, vol 67, pp. 1130-1137.
- Yokota, S & Fujii, N 2010, 'REVIEW Immunomodulatory activity of extracellular heat shockproteins and their autoantibodies', *Microbiol Immunol*, vol.54, pp. 299-307.