



## Peran *Reactive Oxygen Species* (ROS) Dalam Sel Punca Kanker

### *The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Cancer Stem Cells*

Febrial Hikmah<sup>1</sup>, Novi Silvia Hardiany<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Biomedical Sciences Program, Faculty of Medicine Universitas Indonesia, Salemba Raya, Jakarta, Indonesia*

<sup>2</sup>*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine Universitas Indonesia, Salemba Raya, Jakarta, Indonesia*

*Corresponding author : febrial.hikmah89@gmail.com*

KATA KUNCI  
KEYWORDS ROS, kanker, redoks, sel punca kanker, terapi  
ROS, cancer, redox, cancer stem cell, therapy

ABSTRAK  
Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan produk samping metabolisme aerobik, terutama dihasilkan oleh mitokondria. Sebagian besar jenis kanker mengandung jumlah ROS yang tinggi. Peningkatan ROS endogenous memicu perubahan adaptif, menginduksi stress oksidatif dan bersifat sitotoksik. Stress oksidatif dapat memicu timbulnya kanker. Namun disisi lain, metode pengobatan radioterapi menginduksi untuk terbentuknya ROS dalam proses kematian sel. Resistensi terapi pada sel kanker dikaitkan dengan tingginya enzim antioksidan yang menetralkan ROS pada sel kanker. Selain itu, resistensi terapi dan rekurensi dihubungkan juga dengan adanya sel punca kanker atau cancer stem cell (CSC). Beberapa penelitian membuktikan, bahwa kadar ROS ditemukan rendah dalam sel punca kanker. Rendahnya kadar ROS tersebut kemungkinan berperan dalam ketahanan hidup sel punca kanker. Oleh sebab itu, modulasi kadar ROS dalam sel punca kanker dapat digunakan sebagai alternatif terapi.

ABSTRACT  
*Reactive Oxygen Species (ROS) are aerobic metabolic byproducts, mainly produced by mitochondria. Most types of cancer contain high amounts of ROS. An increase in endogenous ROS triggers adaptive changes, induces oxidative stress and cytotoxic. Oxidative stress can lead to cancer. But on the other hand, the radiotherapy treatment method induces the formation of ROS in the process of cell death. Resistance therapy in cancer cells is associated with high antioxidant enzymes that neutralize ROS in cancer cells. In addition, therapeutic resistance and recurrence are also associated with the presence of cancer stem cells (CSC). Several studies have shown that ROS levels are found to be low in cancer stem cells. Low levels of ROS are likely to play a role in the survival of cancer stem cells. Therefore, modulation of ROS levels in cancer stem cells can be used as an alternative therapy.*

## PENDAHULUAN

Kanker menjadi permasalahan utama baik di negara maju maupun negara berkembang. Laporan kesehatan dunia dari World Health Organization (WHO) tahun 2008, memperkirakan bahwa hingga tahun 2030 penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang cenderung meningkat. Peningkatan tersebut mencakup 70% diantaranya terjadi di negara berkembang. Kematian yang disebabkan oleh kanker, 30% disebabkan oleh gaya hidup dan Human Papilloma Virus (HPV).

Kanker berawal dari transformasi sel-sel normal yang terakumulasi disebut tumor. Sel kanker tumbuh secara abnormal dan tidak terkendali, menyerang jaringan disekitarnya serta mampu bermigrasi ke organ tubuh lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik. Kemampuan bermigrasi tersebut dikenal dengan istilah metastasis (Almeida and Barry, 2010).

Kanker disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya *reactive oxygen species* (ROS). ROS merupakan senyawa yang mengandung oksigen reaktif (Halliwell and Gutteridge, 2007). Kadar ROS yang rendah berfungsi mengaktifkan dan memodulasi jalur transduksi sinyal, memodulasi aktivitas faktor transkripsi yang sensitif redoks serta meregulasi pertahanan sel (Hancock, Desikan, and Neill, 2001). Sebaliknya, kadar ROS yang tinggi bersifat toksik terhadap sel dan menginduksi stres oksidatif (Wanandi et. al., 2011).

Stres oksidatif dapat menginduksi kerusakan berbagai komponen dalam sel seperti protein, karbohidrat, lemak

dan DNA. Kerusakan DNA memicu timbulnya kanker. ROS berperan penting dalam inisiasi, progresi dan pertahanan sel kanker (Halliwell and Gutteridge, 2007). Namun disisi lain, metode pengobatan radioterapi menginduksi untuk terbentuknya ROS dalam proses kematian sel. Resistensi sel kanker dikaitkan dengan tingginya enzim antioksidan penangkal ROS pada sel kanker. Selain itu resistensi terapi dan rekurensi juga dihubungkan dengan keberadaan sel punca kanker atau *cancer stem cell* (CSC) (Wanandi et. al., 2013).

Sel punca kanker adalah populasi kecil dari kanker yang memiliki kemampuan memperbaiki diri (*self-renewal*) dan berdiferensiasi menghasilkan sel kanker. Selain itu, sel punca kanker bertanggung jawab terhadap progresi, metastasis, resistensi terapi dan kekambuhan (Tower, 2012). Beberapa penelitian membuktikan, bahwa kadar ROS ditemukan rendah dalam sel punca kanker. Oleh karena itu, tulisan ini akan menelusuri bagaimana peran ROS dalam sel punca kanker.

### **Reactive Oxygen Species (ROS)**

*Reactive oxygen species* (ROS) merupakan senyawa yang mengandung oksigen reaktif sehingga mudah membentuk senyawa baru dengan molekul lain disekitarnya (Halliwell and Gutteridge, 2007). Secara umum ROS terbagi atas dua macam, yaitu oksigen radikal bebas dan nonradikal. ROS radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, contoh superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ).

ROS nonradikal tidak memiliki elektron yang tidak berpasangan tetapi merupakan senyawa reaktif yang dapat diubah menjadi ROS radikal bebas, contoh peroksida ( $H_2O_2$ ) diubah

menjadi radikal hidroksil ( $HO\bullet$ ). Beberapa contoh ROS dapat dilihat pada Tabel 1 (Gupta et. al., 2012).

Tabel 1. Radikal dan nonradikal ROS serta sistem antioksidan enzim dan nonenzim (disusun kembali oleh penulis) (Gupta et. al., 2012)

ROS	Simbol	Sistem Antioksidan	Simbol
<b>Radikal</b>		<b>Enzim</b>	
Superoksida	$O_2\bullet$	Superoksida dismutase	SOD
Radikal hidroksil	$HO\bullet$	Katalase	CAT
Nitrit oksida	$NO\bullet$	Glutation peroksidase	GPX
Radikal peroksil	$ROO\bullet$	Glutation S-transferase	GST
Radikal organik	$R\bullet$	Glutation reduktase	GR
<b>NonRadikal</b>		<b>Nonenzim</b>	
Hidrogen peroksida	$H_2O_2$	Glutation	GSH
Singlet oksigen	$^1O_2$	Glutaredoksin	Grx
Ozon	$O_3$	Tioredoxin	Trx
Asam hipokloro	HOCl	Sulfiredoksin	Srx
Peroksinitrit	ONOO-	Vitamin A, C, E	

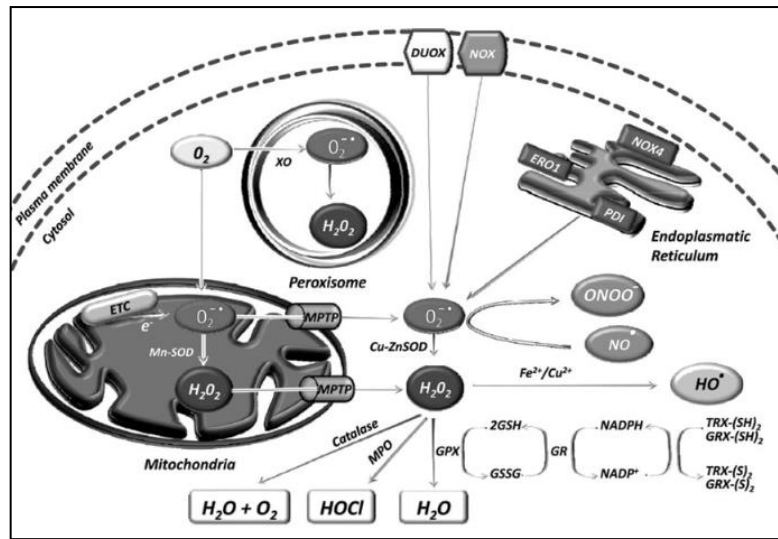
ROS dapat berasal dari exogenous dan endogenous. ROS exogenous, seperti polutan, asap rokok, xenobiotik dan radiasi. ROS endogenous dihasilkan melalui banyak mekanisme, terutama mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma dan kompleks NADPH oksidase (NOX) dalam membran sel. Mitokondria sebagai tempat utama penghasil ROS endogenous (Gambar 1) (Gupta et. al., 2012; Halliwell and Gutteridge, 2007).

DNA mitokondria mengkode protein yang penting untuk jalur pembentukan energi, yaitu fosforilasi oksidatif yang menghasilkan ATP, serta ROS sebagai hasil samping dan menginisiasi kematian sel. Oleh sebab itu, karena perannya, mitokondria disebut juga sebagai "power house" bagi sel. Mitokondria tempat berlangsungnya transpor elektron yang

merupakan sumber utama dari ROS, khususnya kompleks I dan III. Elektron yang berasal dari NADH dan ubiquinon (Q) dapat secara langsung bereaksi dengan oksigen membentuk radikal bebas.<sup>10</sup> Selama metabolisme aerob, sebagian besar oksigen diubah menjadi air dan 1-5% dalam bentuk superoksida ( $O_2\bullet$ ) (Andreyev, Kushnareva, and Starkov 2005; Halliwell and Gutteridge, 2007).

Superoksida merupakan prekursor untuk sebagian besar ROS dan mediator dalam rantai pernafasan. Dismutasi anion superoksida, baik secara spontan maupun reaksi yang dikatalis oleh enzim superoksida dismutase (SOD), dalam matriks mitokondria oleh MnSOD atau pada sitoplasma oleh Cu/ZnSOD, akan menghasilkan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Peroksida kemudian direduksi secara sempurna oleh katalase menjadi air ( $H_2O$ ) atau direduksi parsial

menjadi radikal hidroksil ( $\text{OH}\cdot$ ) yang merupakan reaktif oksigen tinggi.



Gambar 1. Sumber utama penghasil ROS yaitu mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma dan kompleks NOX dalam membran sel. (DUOX, dual oxidase; ERO1, endoplasmic reticulum oxidoreductin 1; ETC, electron transport chain; GPX, glutathione peroxidase; GR, glutathione reductase; GRX-(S)<sub>2</sub>, glutaredoxin oxidized; GRX-(SH)<sub>2</sub>, glutaredoxin reduced; GSH, glutathione; GSSG, glutathione oxidized; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hydrogen peroxide; HO•, hydroxyl radical; HOCl, hypochlorous acid; MPO, myeloperoxidase; MPTP, mitochondrial permeability transition pore; NO•, nitric oxide; NOX, NADPH oxidase; O<sub>2</sub>•-, superoxide radical; ONOO-, peroxynitrite; PDI, protein disulfide isomerase; SOD, superoxide dismutase; TRX-(S)<sub>2</sub>, thioredoxin oxidized; TRX-(SH)<sub>2</sub>, thioredoxin reduce; XO, xanthine oxidase) (Gupta et. al., 2012)

Pembentukan radikal hidroksil tersebut dikatalis oleh logam transisi yang tereduksi yaitu besi ( $\text{Fe}^{2+}$ ) atau tembaga ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (Murphy, 2009).

Secara fisiologis, tubuh memerlukan ROS dengan kadar rendah. Kadar ROS yang rendah berfungsi mengaktifkan dan memodulasi jalur transduksi sinyal, memodulasi aktivitas faktor transkripsi yang sensitif redoks serta meregulasi mekanisme pertahanan. Mengingat fungsi ROS sebagai pensinyalan molekul, ROS harus dihasilkan oleh sel ketika diperlukan saja (Hancock, Desikan, and Neill, 2001; Forman, Fukuto, and Torres, 2004). Sel normal meregulasi kadar ROS intraselular hingga batas nontoksik dengan

menjaga keseimbangan antara ROS yang dihasilkan dengan yang dibuang. Sistem pembuangan ROS difasilitasi oleh antioksidan yang dapat berupa enzim ataupun nonenzim (Halliwell and Gutteridge, 2007; Gupta et. al., 2012).

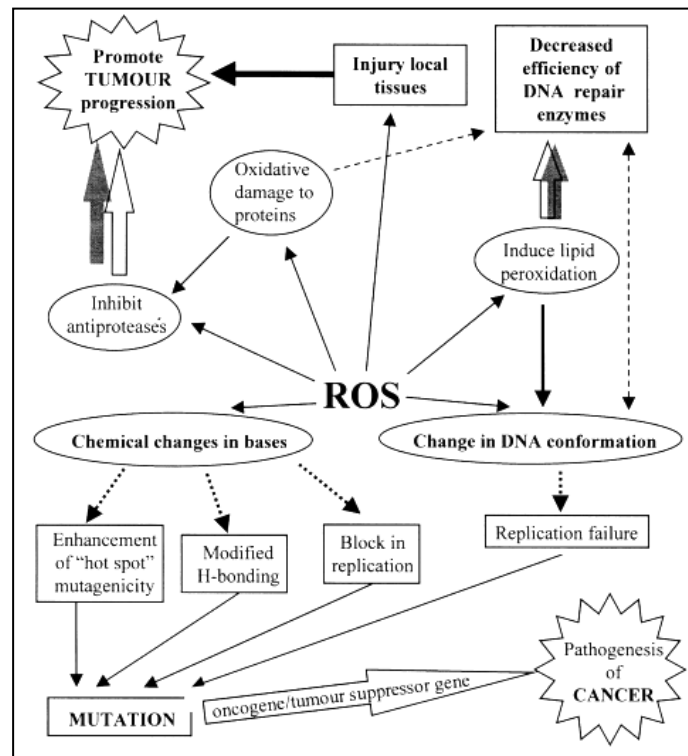
### Reactive Oxygen Species (ROS) Menyebabkan Kanker

Kanker disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya ROS. Kadar ROS yang tinggi bersifat toksik terhadap sel dan menginduksi stres oksidatif (Halliwell and Gutteridge, 2007; Liou and Storz, 2010). Stres oksidatif adalah jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Stres oksidatif dapat

menginduksi kerusakan berbagai komponen dalam sel seperti protein, karbohidrat, lemak dan DNA. Keadaan tersebut pada akhirnya memicu terjadinya program kematian sel melalui peningkatan jalur apoptosis (Gupta et. al., 2012).

Apabila program apoptosis gagal karena kerusakan DNA mitokondria, maka akan memicu timbulnya kanker. DNA mitokondria lebih mudah mengalami kerusakan oksidatif karena tidak adanya protein histon yang bersifat protektif. Radikal kuat hidroksil (HO•) sangat selektif untuk

dapat keluar dari membran mitokondria. Konsekuensinya, apabila terbentuk radikal tersebut maka radikal hidroksil dapat mengoksidasi guanin (G) atau timin (T). Sejumlah kecil kerusakan basa DNA akibat oksidasi dapat diperbaiki melalui sistem perbaikan DNA oleh enzim DNA glikosilase. Apabila kadar ROS sangat tinggi, maka sistem perbaikan DNA tidak cukup berfungsi sehingga mengubah DNA dan terjadilah kanker (Gambar 2) (Mates, Francisca, and Jimenez, 2000).



Gambar 2. Kondisi normal, sel mampu mendetoksifikasi radikal tetapi saat ROS terakumulasi akan terjadi perubahan makromolekul dan lingkungan selular sehingga memicu mutasi dan kanker (Mates, Francisca, and Jimenez, 2000)

Kerusakan DNA oleh ROS salah satu penyebab utama terjadinya kanker. Pasien dengan penyakit yang berasosiasi dengan risiko kanker, diindikasikan terjadi peningkatan laju kerusakan oksidatif DNA atau

kekurangan sistem perbaikan DNA. Kerusakan tersebut akan berlanjut ke tahap-tahap karsinogenesis (Halliwell and Gutteridge, 2007).

Karsinogenesis adalah mekanisme bertahap terjadinya kanker, terdiri atas

tiga tahapan inisiasi, promosi dan progresi. Inisiasi adalah tahap permulaan dimana sel normal berubah menjadi premaligna. Karsinogen bereaksi dengan DNA menyebabkan mutasi berlanjut amplifikasi gen. Pada proses inisiasi, cukup terkena sekali paparan karsinogen yang merupakan inisiator, menimbulkan keadaan permanen dan *irreversibel*. Inisiasi tidak mengubah ekspresi gen. Promosi oleh promotor, zat nonmutagen, yang dapat menaikkan reaksi karsinogen dan dapat menimbulkan amplifikasi gen. Sifat-sifat promotor adalah mengikuti kerja inisiator, perlu paparan berkali-kali dan keadaan dapat *reversible*. Promosi dapat mengubah ekspresi gen, induksi enzim dan differensiasi. Progresi terjadi aktivasi, mutasi atau hilangnya gen. Pada progresi, timbul perubahan benigna menjadi premaligna dan maligna (Oliveira et. al., 2007; Dayem, Choi, Kim, and Cho, 2010).

Penelitian mengenai kanker menyatakan bahwa tingginya level ROS berperan dalam menyebabkan kanker (Wanandi et. al., 2011). Disisi lain, jika kadar ROS meningkat hingga batas tertentu yang tidak memungkinkan sel untuk bertahan hidup, ROS memiliki efek sangat sitotoksik yang menyebabkan kematian sel kanker sehingga menghambat pertumbuhan kanker. Hal tersebut dapat diasumsikan bahwa ROS terlibat dalam inisiasi dan progresi kanker (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012; Halliwell and Gutteridge, 2007). ROS juga dapat mengaktifkan faktor transkripsi yang dapat mengontrol ekspresi gen, meliputi proliferasi dan kematian sel kanker itu sendiri (Andreyev, Kushnareva, and Starkov, 2005).

### **Reactive Oxygen Species (ROS) Memicu Kematian Sel**

Tingginya jumlah ROS dapat memicu kematian sel, baik secara apoptosis maupun nekrosis. Apoptosis mengontrol kematian sel dan dapat diinisiasi oleh reseptor kematian (jalur ekstrinsik) atau mitokondria (jalur intrinsik), keduanya tergantung kepada ROS. Apoptosis jalur intrinsik didahului dengan *mitochondrial permeability transition* (MPT) yang menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria. ROS dapat membuka pori dengan mengaktifkan pori-*destabilizing* protein dan menghambat pori-*stabilizing* protein (Bcl-2 dan Bcl-x<sub>L</sub>). Depolarisasi membran mitokondria menyebabkan lepasnya *apoptosis inducing factor* (AIF) dan sitokrom c ke sitoplasma yang diatur oleh Bax dan Bad. Saat keduanya dilepaskan, jalur *caspase* teraktifkan. Sitokrom c berinteraksi dengan kofaktor Apaf-1 dan *procaspase-9* membentuk apoptosome, untuk mengaktifkan *caspase-9*. *Caspase-9* akan mengaktifkan *procaspase-3* menjadi *caspase-3*, efektor pelaksana apoptosis. *Caspase* memecah protein menyebabkan inti pecah dan sel mengalami apoptosis.

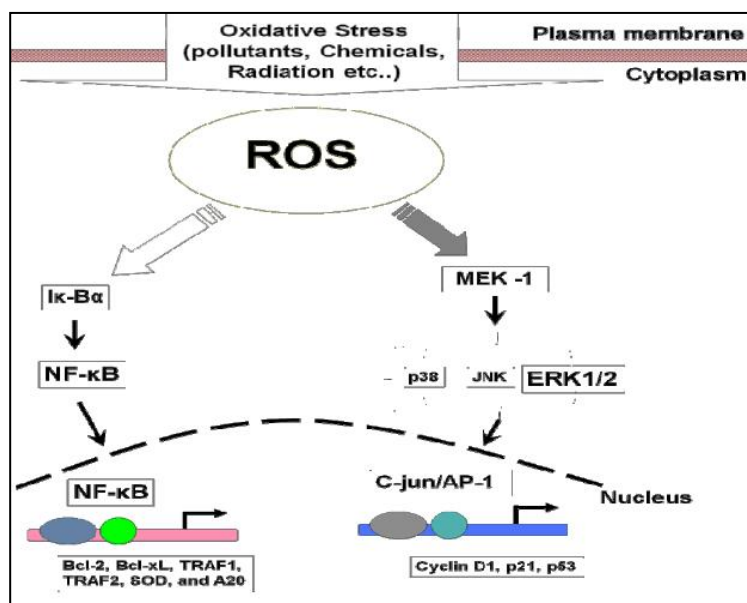
Walaupun kelebihan jumlah ROS dapat menginduksi apoptosis, jumlah ROS yang lebih besar dapat memicu nekrosis kematian sel. Pada beberapa kasus, ROS dapat menginduksi apoptosis dan nekrosis pada sel kanker. Contoh, pada Jurkat limfosit T, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ditemukan dalam dua efek. Konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> rendah menyebabkan sel mengalami apoptosis melalui aktivasi *caspase*. Konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tinggi, tidak terdeteksi aktivitas *caspase* dan sel mengalami nekrosis lalu

mati (Gupta et. al., 2012; Murphy, 2009).

### Mekanisme Proliferasi dan Pertahanan Kanker

ROS dapat menstimulasi proliferasi sel dan mengaktifkan jalur pertahanan melalui beberapa mekanisme pensinyalan. Kerusakan

DNA akibat ROS merupakan penyebab utama terjadinya kanker. Beberapa jalur pensinyalan dan faktor transkripsi mengontrol ROS pada perkembangan kanker, seperti MAPKs dan NF-κB (Gambar 3) (Dayem, Choi, Kim, and Cho, 2010).



Gambar 3. ROS memediasi jalur pensinyalan, proliferasi dan pertahanan sel kanker. Beberapa jalur pensinyalan dan faktor transkripsi mengontrol ROS pada perkembangan kanker, seperti MAPKs dan NF-κB (Dayem, Choi, Kim, and Cho, 2010)

### 1. Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPKs)

Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPKs) termasuk dalam kelompok kinase serin/treonin yang terlibat dalam berbagai proses selular, antara lain metabolisme energi, regulasi ekspresi gen dan proliferasi sel (Norman, Cellurale, and Davis, 2007). Implikasi jalur MAPKs dalam proliferasi sel ditegaskan dalam observasi deregulasi *cascade* kinase yang menghasilkan sel yang bertransformasi menjadi kanker. ROS memiliki kemampuan mengaktifasi

berbagai jalur pensinyalan, termasuk *cascade* fosforilasi MAPKs. *Cascade* tersebut meliputi *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) dan p38 MAPK (Kurata, 2000).

Kadar ROS yang tinggi mengaktifkan *cascade* pensinyalan ERK dan NF-κB. Sebaliknya, kadar ROS yang rendah secara selektif mengaktifkan p38 MAPK dan memicu progresi siklus sel abnormal (Kurata, 2000). ROS mengaktifkan *cascade* pensinyalan, memicu aktivasi dan fosforilasi MAPKs termasuk ERK. Akibatnya, faktor transkripsi NF-κB

dan AP-1 teraktifkan. Pengaktifan tersebut memicu respons gen c-jun dan c-fos yang berperan dalam inflamasi, menghambat apoptosis, memicu proliferasi, transformasi dan diferensiasi sel (Bours, et. al., 1999).

Pengaktifan ERK, JNK dan p38 MAPK menjaga keseimbangan redoks. Keseimbangan pengaktifan ERK dan JNK berfungsi sebagai sistem pertahanan. Penurunan ERK dan peningkatan JNK penting mengindikasikan apoptosis. Jalur ERK terutama mengontrol proses proliferasi dan pertahanan sel, sedangkan jalur JNK mempromosikan proliferasi atau apoptosis. Pengaktifan keduanya dapat memicu peningkatan proliferasi dan pertahanan, walaupun kehilangan JNK pada beberapa kasus dapat memicu tumorigenesis. Di lain pihak, p38 MAPK diaktifkan oleh ROS dan dapat menghambat proliferasi atau promosi apoptosis. p38 MAPK secara selektif berfungsi sebagai sensor ROS selama inisiasi tumorigenesis (Kurata, 2000).

## 2. Nuclear Factor Kappa B (NF- $\kappa$ B)

Nuclear Factor Kappa B (NF- $\kappa$ B) merupakan faktor transkripsi yang apabila teraktifkan secara signifikan dapat memodulasi redoks. NF- $\kappa$ B berperan dalam meregulasi beberapa gen yang terlibat imunitas, inflamasi dan respons antiapoptosis. Molekul tersebut berperan dalam pengontrolan respons pertahanan terhadap ROS (Bours, et. al., 1999).

Pengaktifan NF- $\kappa$ B berhubungan dengan karsinogenesis karena peranannya dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel serta inflamasi. NF- $\kappa$ B meregulasi beberapa gen yang terlibat dalam transformasi, proliferasi dan

metastasis sel. NF- $\kappa$ B secara normal melewati protein inhibitor I $\kappa$ -B $\alpha$  pada sitoplasma. ROS mengaktifkan NF- $\kappa$ B melalui fosforilasi, ubiquinon dan degradasi proteasomal protein inhibitor I $\kappa$ -B $\alpha$  dengan cepat. Translokasi NF- $\kappa$ B ke nukleus mengaktifkan gen transkripsi (Karin, 2006).

Pengaktifan beberapa gen yang diregulasi NF- $\kappa$ B, antara lain bcl-2, bcl-xL, TRAF 1, TRAF 2, SOD dan A20, yang mempromosikan pertahanan sel menghambat jalur apoptosis. NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi yang berperan penting dalam ekspresi beberapa gen yang produknya dapat menekan kematian sel tumor, menstimulasi progresi siklus tumor, meningkatkan transisi epitel menjadi mesenkimal yang penting dalam invasif tumor dan menghasilkan tumor dengan lingkungan mikro inflamasi. Lingkungan tersebut mendukung progresi, invasi dan metastasis jaringan. NF- $\kappa$ B yang menginduksi ekspresi IL-6, sitokin yang berperan dalam respons imun dan inflamasi (Karin, 2006; Klaunig and Kamendulis, 2004).

Berdasarkan penjelasan di atas, ROS dapat mengaktifkan jalur pensinyalan yang menghambat kematian sel kanker itu sendiri dengan pengaktifan *cascade* fosforilasi MAPKs dan NF- $\kappa$ B (Kurata, 2000). Namun disisi lain, metode pengobatan radioterapi menginduksi untuk terbentuknya ROS dalam proses kematian sel. Resistensi sel kanker dikaitkan dengan tingginya enzim antioksidan penangkal ROS. Selain itu, belakangan ini resistensi terapi dan rekurensi juga dihubungkan dengan sel

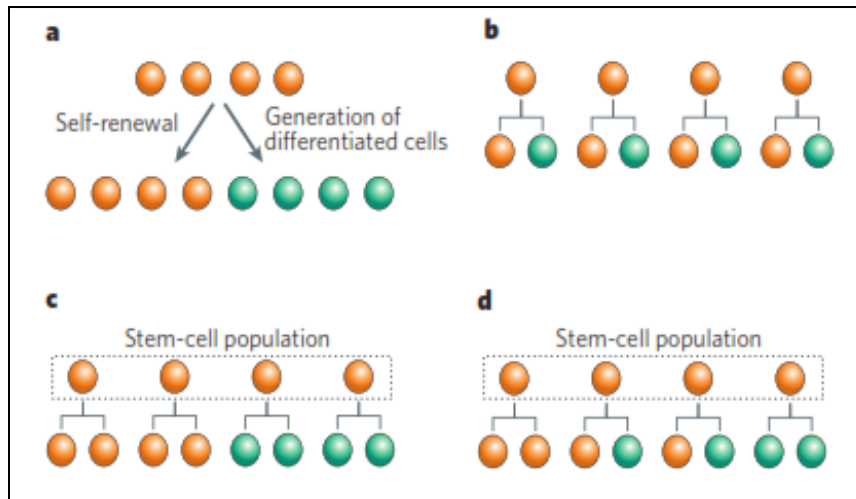


punca kanker atau *cancer stem cell* (CSC) (Wanandi, et. al., 2013).

### Kemampuan Memperbarui Diri (*Self Renewal*) dan Diferensiasi Sel Punca Kanker atau *Cancer Stem Cell* (CSC)

Sel punca atau *stem cell* memiliki kemampuan memperbarui diri (*self-*

*renewal*) dan diferensiasi yang tinggi, yang bertujuan mempertahankan homeostasis dari sistem *stem cell pool*. Sel punca berdiferensiasi menjadi sel-sel terminal dengan morfologi dan fungsi bervariasi (Gambar 4) (Tower, 2012).



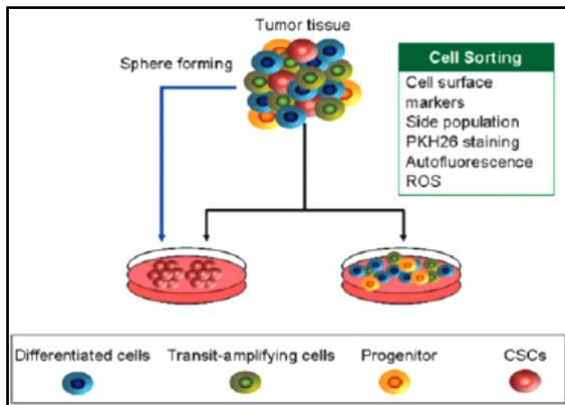
Gambar 4. (a) sel punca (orange) berperan dalam pembaruan diri dan diferensiasi (hijau) (b-d) strategi sel punca untuk menjaga keseimbangan sel punca dan sel diferensiasi (b) pembelahan sel asimetris: setiap sel punca menghasilkan satu sel punca dan satu sel diferensiasi. (c-d) strategi populasi untuk menjaga keseimbangan dan perbaikan sel setelah cedera (c) pembelahan sel simetris: setiap sel punca menghasilkan baik dua sel punca atau dua sel diferensiasi (d) kombinasi pembelahan sel secara asimetris dan simetris (Tower, 2012)

Sebagian besar sel punca pada jaringan, seperti sumsum tulang berada pada fase  $G_0$  dan lingkungan hipoksia. Keadaan tersebut bertujuan menjaga sel dari akumulasi kesalahan replikasi DNA, mempertahankan homeostasis dan regenerasi. Keadaan pada fase  $G_0$  dengan siklus yang lambat dalam sel punca, kemungkinan meningkatkan resistensi terhadap stres oksidatif, senyawa kimia atau radiasi. Oleh karena itu, kadar ROS merupakan faktor yang sangat penting dalam meregulasi sel punca dalam fase  $G_0$

(Morrison and Kimble, 2006; Cipolleschi et. al., 2002).

Sel punca kanker atau *cancer stem cell* (CSC) adalah populasi kecil dari kanker yang memiliki kemampuan memperbarui diri dan berdiferensiasi menghasilkan sel tumor. Selain itu, sel punca kanker bertanggung jawab terhadap progresi, metastasis, resistensi terapi dan kekambuhan sel-sel kanker. Sel punca kanker diduga berperan dalam resisten terapi (Wiestler, Haendler, and Mumberg, 2007). Ada tiga kunci observasi mendefinisikan sel

punca kanker dalam populasi. Pertama, hanya polulasi minor sel kanker yang memiliki potensi menjadi



Gambar 5. Isolasi sel punca kanker (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012)

tumor apabila ditransplantasikan ke dalam mencit imuno-defisiensi. Kedua, terdapat petanda yang khas pada

setiap permukaan sel punca kanker yang dapat dibedakan dengan sel non-tumorigenik.

Ketiga, tumor terdiri atas sel punca kanker dan sel non-tumorigenik sehingga memberikan keberagaman fenotip pada tumor induk (Gambar 5) (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012).

Penelitian mengenai *leukemia stem cell* menggunakan penanda permukaan CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup> untuk memisahkan sel tumorigenik dan nontumorigenik. Sel yang terdapat penanda CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup> pada permukaannya dapat berproliferasi baik secara *in vitro* dan *in vivo* sedangkan yang lain tidak. Sel punca kanker dapat diperkaya melalui penanda permukaan yang bermacam-macam (Tabel 2) (Gupta, et. al., 2012).

Tabel 2 Fenotip permukaan sel dari sel punca kanker yang diidentifikasi pada kanker manusia (Gupta, et. al., 2012)

Jenis Kanker	Fenotipe CSC
AML	CD34 <sup>+</sup> /CD38 <sup>-</sup> , CD44 <sup>+</sup> , CD34 <sup>+</sup> /CD123 <sup>+</sup> , CD47 <sup>+</sup>
ALL	CD34 <sup>+</sup> /CD10 <sup>-</sup> , CD34 <sup>+</sup> /CD19 <sup>-</sup>
Kanker payudara	CD44 <sup>+</sup> /ESA <sup>+</sup> /CD24 <sup>-</sup> /Lin <sup>-</sup> , ALDH1 <sup>low</sup>
Kanker otak	CD133 <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>
Melanoma	ABC5 <sup>+</sup> , CD271 <sup>+</sup> , JARIDIB <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> , CD20 <sup>+</sup>
Kanker paru-paru	CD133 <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> /EpCAM <sup>+</sup>
Kanker hati	CD13 <sup>+</sup> , CD90 <sup>+</sup> /CD44 <sup>-</sup> , CD133 <sup>+</sup> , CD24 <sup>+</sup>
Kanker kulit	CD34 <sup>+</sup> , Integrin $\alpha_5\beta_1^{high}$
Kanker prostat	CD44 <sup>+</sup> /Integrin $\alpha_2\beta_1^{high}$ /CD133 <sup>+</sup>

Ket: AML (leukimia mieloid akut); ALL (leukimia limfoblastik akut); ESA (antigen spesial epitel); ALDH1 (aldehid dehidrogenase-1); JARIDIB (H3K4 demetilase); EpCAM (molekul adesi sel epitel)

CD133 dipercaya sebagai penanda sel punca kanker pada berbagai tipe kanker otak. Sel kanker yang bermarka CD133<sup>+</sup> dapat diperkaya setelah dilakukan radiasi pada glioma. Ada atau tidaknya marka pada permukaan sel diketahui dengan cara *flow cytometry*, metode untuk mengisolasi

sel punca kanker. Sel punca kanker dapat terwarnai oleh zat flouresen karena terjadi pengikatan ATP transporter. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa sel punca kanker memiliki kemampuan pluripotensi (Gupta, et. al., 2012).

Selain pluripotensi, sel punca kanker juga mampu berdiferensiasi. Beberapa studi menunjukkan bahwa sel punca kanker memiliki potensi endotelial dan adipotik. De Maria *et al.* dalam Gupta, *et. al.* menyatakan, bahwa mayoritas sel endotelial pada glioblastoma membawa mutasi yang sama sebagai sel kanker. Hasil tersebut menyimpulkan bahwa sel punca kanker kemungkinan berkontribusi menjadi endotelium vaskular pada tumor. Sel tersebut mampu berdiferensiasi menjadi sel vaskular atau bentuk mimikri vascular (Gupta, *et. al.*, 2012).

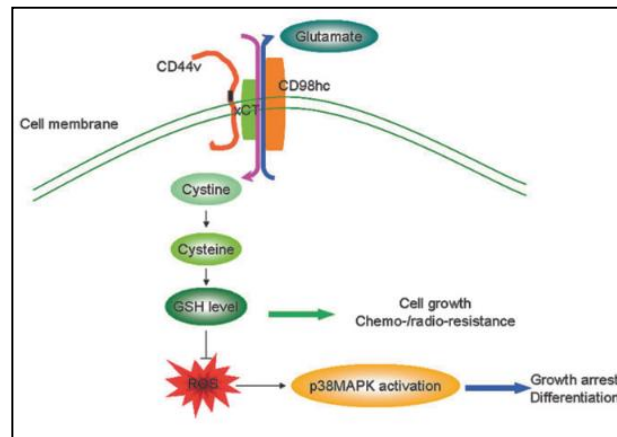
Sel punca kanker memiliki kemampuan untuk menginisiasi dan menahan pertumbuhan yang penting bagi progresi dan kekambuhan kanker. Sel punca kanker dapat berdiferensiasi menjadi sel kanker pada tahap yang berbeda saat maturasi secara proses tidak langsung. Adanya sinyal dalam lingkungan mikro tertentu membuat perubahan yang terjadi menjadi seimbang antara sel punca kanker dengan non-tumorigenik (Gupta, *et. al.*, 2012).

### **Peran Reactive Oxygen Species (ROS) Dalam Sel Punca Kanker**

Kemampuan memperbarui diri dan diferensiasi serta bertahan pada lingkungan hipoksia, membuat sel punca kanker memiliki resistensi yang tinggi terhadap stres. Hal tersebut diduga adanya regulator yang mengatur resistensi dan mencegah diferensiasi. Keadaan hipoksia mampu menginduksi ROS dan menstabilkan

*hipoxia inducible factor 1 $\alpha$*  (HIF-1 $\alpha$ ) yang berperan dalam pertahanan sel tersebut (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012).

Sel punca kanker mengandung ROS intraselular dalam kadar yang lebih rendah dibandingkan dengan sel non-tumorigenik, serta adanya peningkatan ekspresi antioksidan. CD44 merupakan molekul adesi yang diekspresikan pada berbagai jenis sel punca kanker. CD44v (varian isomer CD44) pada sel punca kanker gastrointestinal dapat memicu jumlah antioksidan glutation (GSH) intraselular melalui penstabilan xCT, subunit rantai terang dari transporter pertukaran glutamat-sistin pada membran plasma. Fungsi xCT pada permukaan sel yaitu meningkatkan ketajaman sistin yang merupakan substrat untuk sintesis GSH. xCT sangat penting dalam pengontrolan status redoks intraselular (Gambar 6). Penghilangan CD44v menghambat aktivitas xCT dan menghasilkan peningkatan jumlah ROS dan mengaktifkan p38MAPK. Hal tersebut ditunjukkan dalam observasi jumlah ROS yang dideteksi oleh pewarnaan DCFH-DA pada sel kanker CD44<sup>low</sup> atau CD44<sup>-</sup> yang lebih banyak dibanding sel kanker CD44<sup>high</sup>. Pembungkaman CD44 melalui RNA interferen memicu peningkatan jumlah ROS. Target terapi CD44v dapat mengganggu pertahanan ROS yang kemungkinan dapat membunuh sel punca kanker tersebut (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012).



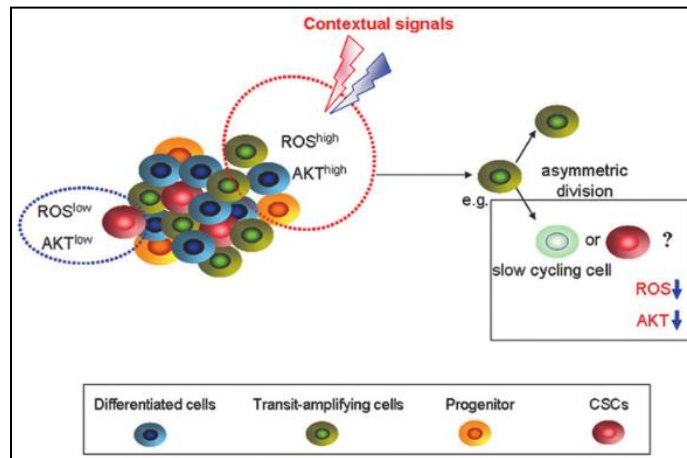
Gambar 6. CD44v meningkatkan sistem pertahanan terhadap ROS melalui interaksi dan stabilisasi xCT (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012)

Penelitian mengenai sel punca kanker payudara dengan marka CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup> menunjukkan terjadi peningkatan sistem pertahanan sel terhadap ROS melalui overekspresi enzim antioksidan, dibandingkan dengan sel non-tumorigenik. Jumlah ROS yang rendah berasosiasi dengan tumorigenesitas dan resistensi terhadap radiasi. Oleh karena itu, untuk mengurangi klonogenesitas dan sensitifitas terhadap radioterapi, dapat dilakukan peningkatan jumlah ROS pada sel punca kanker (Diehn et. al., 2009).

Kim *et al.* juga menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi CD13 dapat mengurangi ROS dan meningkatkan pertahanan sel punca kanker hati melalui proses transformasi faktor pertumbuhan dan menginduksi transisi epitelial menjadi mesenkim. CD13 juga berasosiasi dengan peningkatan jumlah antioksidan pada sel punca kanker hati manusia. Ligase glutamat-sistin mengkatalis tahap sintesis GSH, yang overekspresi pada CD13<sup>+</sup>/CD90<sup>-</sup> dan CD13<sup>+</sup>. Sel tersebut memiliki kadar ROS lebih rendah

dibandingkan CD13<sup>-</sup>. CD13 dapat ditekan dengan menggunakan antibodi CD13-neutralizing atau ubenimex. Senyawa spesifik tersebut memblokir CD13 melalui proses antagonis situs *zinc* dari aminopeptidase-N-domain, menghasilkan jumlah ROS yang meningkat secara signifikan pada sel CD13<sup>+</sup>. Pentargetan CD13 dengan reagen, seperti anti antibodi CD13 atau ubenimex dapat digunakan pada terapi kanker dengan tujuan pembunuhan akar permasalahannya, yaitu sel punca kanker (Kim et. al., 2011).

Kadar ROS dalam sel punca kanker lebih rendah dibandingkan non-tumorigenik dan menjaga sel ROS<sup>low</sup> pada keseluruhan populasinya. Penelitian mengenai hal tersebut hingga kini masih sangat terbatas. Ramaswamy *et al.* menemukan bahwa proliferasi sel kanker payudara memproduksi "G<sub>0</sub>-like" progeni melalui pembelahan asimetrik. Sel tahap G<sub>0</sub> menunjukkan jumlah ROS intraselular yang lebih rendah dan penurunan aktivitas Akt (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012; Dey-Guha et. al., 2011).



Gambar 7. Proliferasi sel kanker secara cepat memproduksi ROS<sup>low</sup> melalui pembelahan asimetrik (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012)

Penghambatan jalur pensinyalan Akt dalam proliferasi sel kanker menghasilkan peningkatan rasio pembelahan asimetrik dan produksi dalam jumlah besar sel ROS<sup>low</sup> dengan pertumbuhan lambat. Stimulator memodulasi pergantian pensinyalan Akt secara dinamis, pembelahan simetrik menjadi asimetrik agar didapatkan ekuilibrium antara jumlah sel punca kanker dan nontumorigenik (Dey-Guha et. al., 2011).

Hal tersebut menjelaskan, bahwa produksi sel kanker dengan karakteristik sel punca dan sel ROS<sup>low</sup> selama proliferasi, bertujuan melindungi sel punca kanker yang baru. Populasi melindungi "tumor seed" dari kerusakan DNA yang difasilitasi propagasi tumor. Sel ROS<sup>low</sup> dapat diperkaya setelah kemoterapi pada pasien kanker payudara. Sel ROS<sup>low</sup> dapat dijadikan target selama terapi kanker.

Peningkatan jumlah ROS secara eksogenous mampu membunuh sel punca kanker. Niklosamida, agen

potensial yang meningkatkan jumlah ROS secara selektif membunuh sel punca AML CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup> yang bersifat sitotoksitas minimal melawan sel progenitor dalam sel normal sumsum tulang dari seseorang yang sehat. Mekanisme antineoplasma dari niklosamida kemungkinan dapat menginaktivasi jalur NF- $\kappa$ B (Shi, Zhang, Zheng, and Pan, 2012; Jin et. al., 2010).

## KESIMPULAN

ROS pada dasarnya memang dihasilkan oleh tubuh untuk menjaga homeostasis dan mempertahankan kehidupan makhluk. Kadar ROS yang tinggi memicu terjadinya kanker. Sel punca kanker berperan dalam proliferasi dan sistem pertahanan kanker terhadap stres oksidatif. ROS berperan dalam menstimulasi sel punca kanker untuk tetap bertahan hidup. Peningkatan jumlah ROS secara exogenous menunjukkan dapat membunuh sel kanker secara selektif.

Kadar ROS yang rendah berasosiasi dengan sifat *stemness* dari sel punca kanker. Oleh sebab itu, modulasi kadar ROS pada sel punca kanker dengan pemberian agen pemicu ROS pada kadar tertentu atau penghambatan antioksidan, dapat digunakan sebagai alternatif terapi kanker.

### KEPUSTAKAAN

- Almeida, CA, SA Barry. 2010. *Cancer: basic science and clinical aspects*. 1st ed. UK: Wiley-Blackwell, p 405.
- Andreyev AY, YE Kushnareva, AA Starkov 2005. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species (review). *Biochem.* 70(2): 200-213.
- Bours V, et. al. 1999. Nuclear factor- $\kappa$ B, cancer, and apoptosis. *Biochem. Pharmacol.* 60: 1085-1090.
- Cipolleschi MG, et. al. 2002. The expansion of murine bone marrow cells preincubated in hypoxia as an in vitro indicator of their marrow-repopulating ability. *Leukemia.* 14: 735-739.
- Dayem AA, HY Choi, JH Kim, SG Cho 2010. Role of oxidative stress in stem, cancer and cancer stem cells. *Cancers.* 2: 859-884.
- Dey-Guha I, et. al. 2011. Asymmetric cancer cell division regulated by AKT. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108: 12845-12850.
- Diehn M, et. al. 2009. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature.* 458: 780-783.
- Forman HJ, J Fukuto, M Torres (eds). 2004. *Signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species: pathways and chemical principles*. New York: Kluwer Academic Publishers, p 410.
- Gupta, et. al. 2012. Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: The roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and Therapy (review). *Antioxid. Redox Signal.* 16: 1295-1322.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 2007. *Free radical in biology and medicine*. 4th ed. London: Oxford University Press, p 30-74.
- Hancock JT, R Desikan, SJ Neill 2001. Role of reactive oxygen species in cell signaling pathways. *Biochem. Soc. Trans.* 29: 345-350.
- Jin Y, et. al. 2010. Antineoplastic mechanisms of niclosamide in acute myelogenous leukemia stem cells: inactivation of the NF- $\kappa$ B pathway and generation of reactive oxygen species. *Cancer Res.* 70: 2516-2527.
- Karin M 2006. Nuclear factor- $\kappa$ B in cancer development and progression. *Nature.* 441: 431-436.
- Kim HM, et. al. 2011. Increased CD13 expression reduces reactive oxygen species, promoting survival of liver cancer stem cells via an epithelial-mesenchymal transitionlike phenomenon. *Ann. Surg. Oncol.* 19 Suppl 3:S539-48
- Klaunig JE, LM Kamendulis 2004. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44: 239-267.
- Kurata S 2000. Selective activation of p38 MAPK cascade and mitotic arrest caused by low level oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 275: 23413-23416.
- Liou GY, P Storz 2010. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic. Res.* 44(5): 1-30.
- Mates JM, M Francisca, S Jimenez 2000. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 32: 157-170.
- Morrison, SJ, J Kimble 2006. Asymmetric and symmetric stem-cell division in development and cancer. *Nature.* 44: 1069-1074.
- Murphy MP 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species (review). *Biochem J.* 417: 1-13.
- Norman J, C Cellurale, RJ Davis 2007. A radical role p38 MAPK in tumor initiation. *Cancer Cell.* 11: 101-103.

- Oliveira PA, et. al. 2007. Chemical carcinogenesis. *An. Acad. Bras. Cienc.* 79(4): 593-616.
- Shi, X, Y Zhang, J Zheng, J Pan 2012. Reactive oxygen species in cancer stem cells. *Antioxid. Redox Signal.* 16(11): 1215-1228.
- Tower J 2012. Stress and stem cells. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 1(6): 1-21.
- Wanandi, SI et.al. 2013. *Pengembangan terapi target sel punca kanker payudara manusia asal Indonesia*. Jakarta: FKUI, p.1-11.
- Wiestler OA, B Haendler, D Mumberg (eds). 2007. *Cancer stem cells: novel concepts and prospects for tumor therapy*. Berlin: Springer, p 264.
- World Health Organization (WHO). *World cancer report 2008* [internet]. 2009 [cited 2014 Feb 14]. Available from: [www.who.int/cancer/publications/world\\_cancer\\_repport\\_2008/en](http://www.who.int/cancer/publications/world_cancer_repport_2008/en).
- Zhou, Y, EO Hileman, W Plunkett, MJ Keating, P Huang 2003. Free radical stress in chronic lymphocytic leukemia cells and its role in cellular sensitivity to ROS generating anticancer agents. *Blood.* 101: 4098-4104.