

Regulasi Protein Caspase 3 pada Mekanisme Apoptosis Kanker Payudara

Ria Kodariah^{1*}, Arief

Prasetyo², Galuh Oktavia³

¹Department of Anatomical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

²Master's Programme in Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

³Biobank Research, Institute of Medical Research Indonesia (IMERI), Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

Penulis korespondensi: Ria

Kodariah

Department Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo

Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta

email: ria.kodariah@ui.ac.id

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas di dunia. Karsinogenesis kanker payudara melibatkan mutasi genetik, faktor hormonal, dan ketidakseimbangan regulasi apoptosis. Apoptosis adalah mekanisme utama dalam mengontrol proliferasi sel kanker payudara, dimana caspase-3 berperan sebagai caspase eksekutor yang memediasi degradasi protein struktural, fragmentasi DNA, dan disintegrasi sitoskeleton. Aktivasi caspase-3 dapat melalui jalur intrinsik, yang dipicu oleh pelepasan sitokrom c dari mitokondria, maupun jalur ekstrinsik yang melibatkan interaksi ligand dengan reseptor kematian, seperti Fas dan TNF. Penurunan ekspresi caspase-3 berkontribusi terhadap resistensi kanker payudara. Oleh karena itu, pemahaman mengenai regulasi caspase-3 dalam jalur apoptosis dapat menjadi dasar pengembangan terapi berbasis induksi apoptosis yang lebih efektif dalam menekan pertumbuhan dan metastasis sel kanker payudara.

Kata kunci: Kanker payudara, apoptosis, caspase-3

ABSTRACT

Breast cancer is one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide. The carcinogenesis of breast cancer involves genetic mutations, hormonal factors, and an imbalance in the regulation of apoptosis. Apoptosis is a key mechanism in controlling the proliferation of breast cancer cells, in which caspase-3 functions as an executioner caspase that mediates the degradation of structural proteins, DNA fragmentation, and cytoskeletal disintegration. Activation of caspase-3 can occur through the intrinsic pathway, triggered by the release of cytochrome c from the mitochondria, or through the extrinsic pathway involving the interaction of ligands with death receptors such as Fas and TNF. Reduced expression of caspase-3 contributes to breast cancer resistance. Therefore, understanding the regulation of caspase-3 within apoptotic pathways can serve as a foundation for developing apoptosis-inducing therapies that are more effective in inhibiting the growth and metastasis of breast cancer cells.

Key words: Breast cancer, apoptosis, caspase-3

PENDAHULUAN

Karsinoma payudara adalah salah satu jenis kanker paling umum terjadi pada wanita di seluruh dunia dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Kanker ini ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal di jaringan payudara yang dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya¹. Berdasarkan data *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) tahun 2022, di seluruh dunia karsinoma payudara menjadi kasus karsinoma nomor 2 setelah kanker paru dengan angka kejadian sebesar 2.296.840 kasus atau 11,5% dari kasus kanker lainnya. Benua Asia mempunyai angka kejadian terbanyak sebesar 42,9%. Karsinoma payudara juga menjadi penyebab kematian akibat kanker nomor empat tertinggi di seluruh dunia sebesar 666.103 kasus atau 6,8% dari kasus kanker lainnya.

Di Indonesia sendiri, pada tahun 2022 kasus karsinoma payudara menjadi yang paling tinggi dibandingkan dengan kasus kanker lainnya sebesar 66.271 kasus atau 16,2% kejadian kanker, serta menjadi nomor 3 penyebab kematian akibat kanker setelah kanker paru-paru dan kanker hati². Tingginya angka kematian pada kanker payudara di Indonesia karena sering kali penderita terlembat mengetahui bahwa dirinya mengidap kanker payudara dan datang pada stadium lanjut³.

Patogenesis kanker payudara melibatkan serangkaian perubahan molekuler dan seluler yang menyebabkan sel normal di jaringan payudara berubah menjadi sel kanker. Proses ini dimulai dengan mutasi genetik pada gen yang terlibat dalam siklus sel, seperti gen BRCA1 yang berperan dalam penekanan tumor, regulator stabilitas genom, dan perbaikan DNA, gen BRCA2 berperan sebagai penekan tumor, pengontrol pembelahan dan perkembangan sel melalui perbaikan DNA dan regulator siklus sel⁴, gen TP53 mensintesis protein p53 yang berperan dalam perbaikan kerusakan DNA pada siklus sel dengan menekan CDK dan cyclin B⁵, dan gen PIK3CA berperan dalam pengaturan proliferasi lewat pengaktifan jalur PIK3/AKT/mTOR⁶. Paparan hormon estrogen dan progesteron juga dapat memicu proliferasi sel melalui jalur sinyal hormon yang mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel kanker⁷. Patogenesis kanker payudara juga dapat tejadi akibat disfungsi mekanisme apoptosis. Di sisi lain, adanya disfungsi pada apoptosis menjadi salah satu faktor yang juga mendukung patogenesis kanker payudara.

Apoptosis merupakan proses kematian sel terprogram yang penting untuk menjaga keseimbangan sel dalam tubuh. Pada kanker payudara, regulasi apoptosis terganggu, yang menyebabkan sel-sel kanker bertahan hidup lebih lama daripada seharusnya. Terdapat beberapa mekanisme yang mempengaruhi apoptosis dalam sel kanker payudara seperti mutasi pada gen pengatur apoptosis, pengaruh lingkungan mikrotumor dan adanya protein-protein regulator seperti Bcl-2 dan caspase⁸.

Caspase adalah protein yang termasuk ke dalam keluarga protease yang bertugas sebagai regulator kematian sel. Caspase berperan penting dalam apoptosis kanker melalui mekanisme kaskade proteolitik yang memicu kematian sel secara terprogram. Caspase-3 diaktifkan sebagai respon terhadap sinyal apoptotik. Karena peran penting caspase dalam apoptosis, beberapa terapi kanker ditujukan untuk menginduksi aktivasi caspase dalam sel kanker payudara. Beberapa obat yang bertujuan untuk mengaktifkan caspase

dapat membantu meningkatkan kematian sel kanker dan menurunkan viabilitas tumor. Salah satu protein caspase yang berperan sebagai eksekutor dalam jalur apoptosis adalah caspase-3⁹.

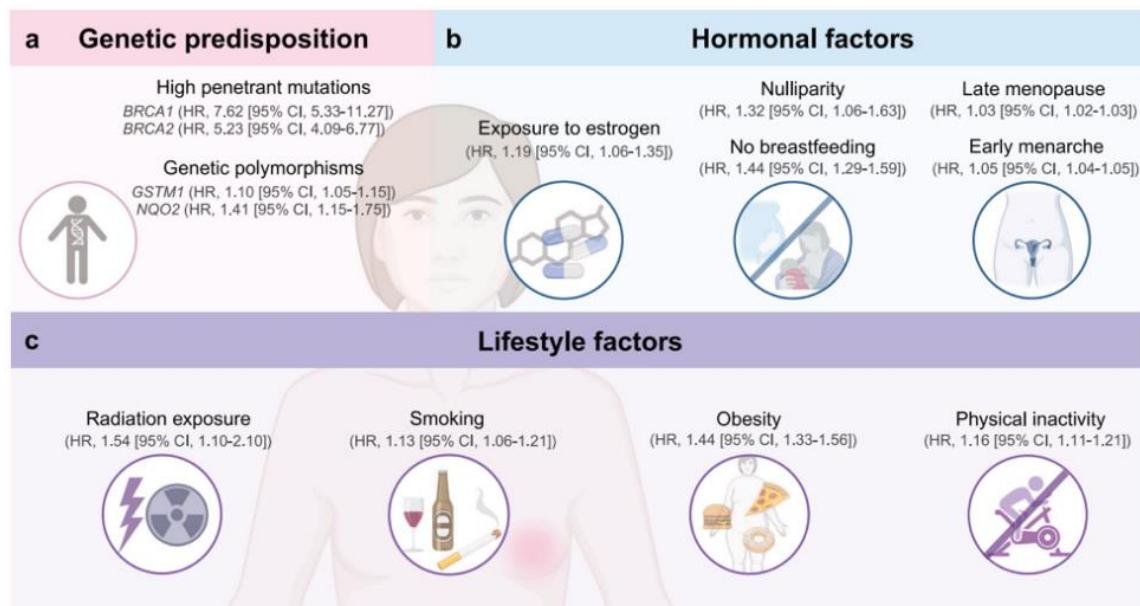
Protein Caspase-3 bekerja dengan cara memotong protein struktural di dalam sel, menyebabkan fragmentasi DNA, disintegrasi sitoskeleton, dan merusak protein-protein di dalam sitoplasma. Terdapat dua jalur utama aktivasi caspase-3, yaitu jalur intrinsik (melalui pelepasan sitokrom c oleh mitokondria) dan jalur ekstrinsik (melalui reseptor kematian). Terapi berbasis caspase-3 menunjukkan efektivitas dalam menargetkan kanker payudara *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC) dengan memanfaatkan jalur apoptosis untuk menekan pertumbuhan tumor dan mencegah metastasis¹⁰. Pada penelitian caspase-3 pada jaringan kanker payudara menyebutkan bahwa adanya korelasi jumlah caspase-3 yang diukur menggunakan *Western blotting* dengan tingkat apoptosis¹¹.

Memahami peran caspase-3 dan mekanisme persinyalan yang terlibat di dalamnya dapat membantu memahami salah satu mekanisme apoptosis yang terjadi pada kanker payudara, sehingga membantu pemahaman mengapa salah satu strategi dalam pengembangan pengobatan kanker payudara adalah melalui peningkatan apoptosis. Tujuan dari penulisan makalah ini adalah menjelaskan bagaimana regulasi protein caspase-3 pada mekanisme apoptosis kanker payudara.

Kanker Payudara

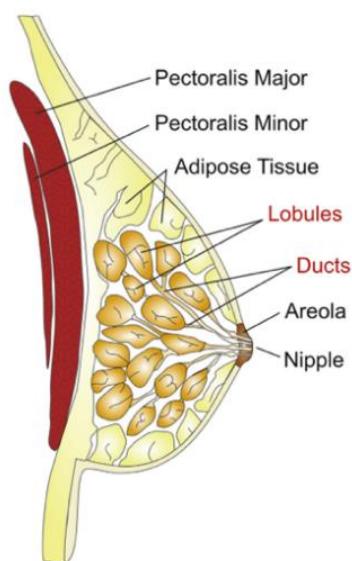
Kanker payudara adalah keganasan yang terjadi pada sel-sel jaringan payudara. Karsinogenesis kanker payudara terjadi melalui proses bertahap yang melibatkan perubahan genetik dan lingkungan yang menyebabkan transformasi dari sel normal menjadi kanker payudara. Proses ini dimulai dengan hiperplasia, diikuti oleh perubahan *pra-malignant* dan akhirnya berkembang menjadi karsinoma *in situ*. Mutasi garis keturunan atau *germline mutation*, seperti gen BRCA1/2, serta mutasi somatik akibat faktor lingkungan, dan paparan estrogen yang tinggi berkontribusi terhadap akumulasi perubahan genomik yang mendongrung pertumbuhan sel kanker. Faktor-faktor lain, seperti proliferasi sel yang dipicu oleh faktor pertumbuhan secara autokrin, rekrutmen sel inflamasi, dan mekanisme penghindaran sistem imun turut mempercepat proses karsinogenesis. Seiring berjalanannya waktu, perubahan ini mengarah pada perkembangan karsinoma *in situ*, dimana sel-sel patologis masih terbatas dalam duktus, tetapi belum menyebar ke jaringan di sekitarnya. Interaksi antara faktor

genetik dan lingkungan dapat memperburuk risiko dan mempengaruhi perkembangan kanker payudara¹².



Gambar 1. Faktor risiko penyebab dan pemicu karsinogenesis kanker payudara. Faktor genetik, seperti gen *BRCA1*. Faktor Hormon, seperti Estrogen dapat memicu perkembangan kanker payudara. Dan Faktor gaya hidup juga dapat memicu perkembangan kanker payudara¹²

Kanker payudara terbentuk dari berbagai area dalam jaringan payudara, seperti saluran (ducts), lobulus, atau jaringan di sekitarnya¹³. Sekitar 50-80% kasus kanker payudara merupakan *invasive ductal carcinoma* (IDC) atau karsinoma duktal invasif, sementara sisanya mencakup *invasive lobular carcinoma* atau karsinoma lobular invasif (ILC).



Gambar 2. Anatomi Asal Kanker Payudara. Kebanyakan kasus kanker payudara terbentuk pada bagian lobulus dan duktus¹³

Klasifikasi Kanker Payudara

Kanker payudara dapat dibedakan menjadi 5 subtipen berdasarkan profil molekuler, yaitu luminal A, luminal B, HER2+, basal-like, dan TNBC. Luminal A memiliki reseptor estrogen (ER) dengan/atau reseptor progesteron (PR) serta dengan/atau reseptor HER2 yang rendah. Luminal A ini secara data berkisar 40% dari seluruh kanker payudara dan memiliki perkembangannya yang lambat. Luminal B memiliki reseptor ER dan atau reseptor PR, HER2 positif atau negatif, dan menunjukkan tingginya protein Ki-67. Luminal B memiliki kemampuan perkembangan lebih cepat dibanding luminal A. Jenis HER2+ adalah yang memiliki ekspresi gen reseptor HER2 yang tinggi, tetapi tidak memiliki reseptor ER/PR atau ER/PR negatif. Jenis TNBC adalah jenis kanker payudara yang memiliki kemampuan perkembangan yang progresif dibandingkan jenis kanker payudara lainnya⁷.

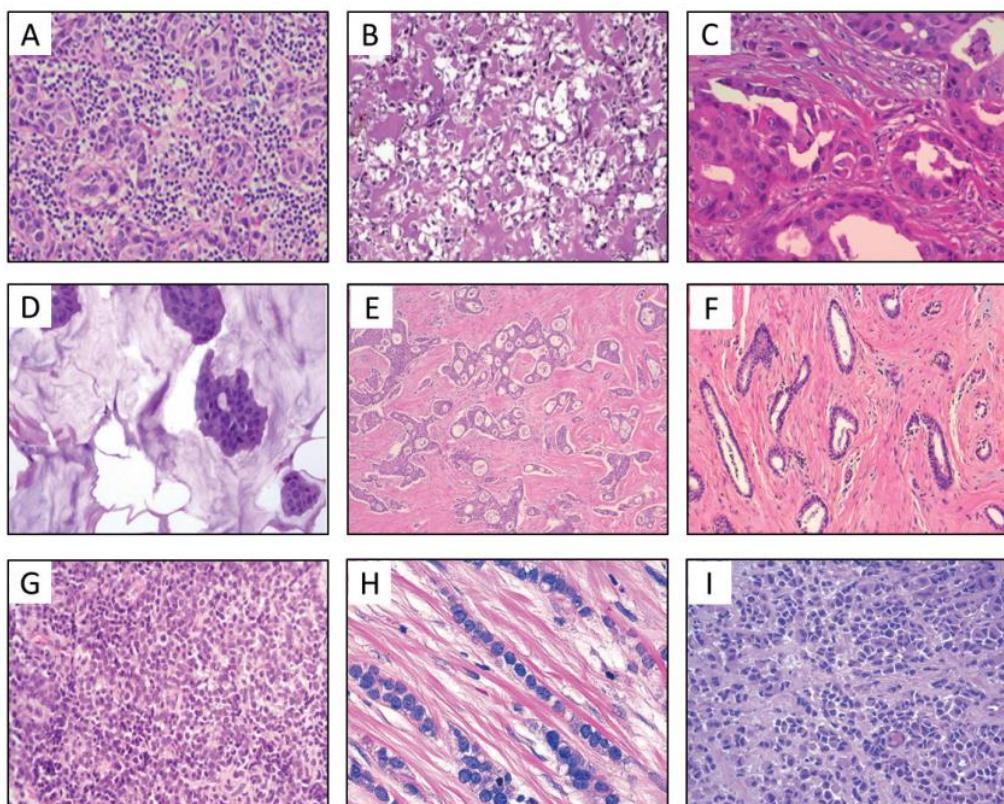
Berdasarkan WHO, terdapat 19 subtipen dari karsinoma payudara invasif atau *invasive breast carcinoma* (IBC), yaitu terdiri dari IBC no special type (NST), *invasive lobular carcinoma* (ILC), *malignant adenomyoepithelioma*, karsinoma papiler invasif, karsinoma tubular, karsinoma kribriiform, karsinoma mucinous, mucinous cystadenocarcinoma, karsinoma mikropapiler invasif, karsinoma dengan diferensiasi apokrin, karsinoma metaplastik, karsinoma

adenoid cystic, karsinoma *acinic cell*, karsinoma sekretori, karsinoma muceopidermoid, adeno-carcinoma polimorfik, *tall cell carcinoma* dengan polaritas terbalik, tumor nueroendocrine, dan karsinoma neuroendocrine¹⁵.

Invasive ductal carcinoma atau IDC dapat diklasifikasikan menjadi “no spesific type” (NST) jika tidak memiliki karakteristik morfologi yang khas, dan “special type” atau tipe khusus jika memiliki morfologi dan fitur tertentu. IDC tipe khusus terdiri dari karsinoma meduler, karsinoma metaplastik, karsinoma apokrin, karsinoma musinous, karsinoma kribriform, karsinoma tubular, dan karsinoma neuroendokrin¹⁴.

IDC-NST merupakan jenis paling umum sekitar 40-75% dari kasus kanker payudara invasif, memiliki variasi morfologi, sel tumor pleomorfik dengan nukleolus menonjol, dan sering ditemukan area nekrosis dan kalsifikasi. Karsinoma meduler terjadi sekitar 5% kasus kanker payudara invasif dan sering dikaitkan dengan mutasi gen BRCA1, tampak sebagai tumor dengan batas jelas, dan tersusun dari sel besar pleomorfik. Karsinoma metaplastik terjadi sekitar 1% kasus kanker payudara dan sering ditemukan pada wanita pascamenopause, terdiri dari sel karsinoma duktal yang bercampur dengan sel skuamosa, spindle cell, atau diferensiasi mesenkimal (kondroid atau

osteoid), dan bersifat agresif dan sering mengalami penyebaran ke kelenjar getah bening. Karsinoma apokrin terjadi 1-4% dari kasus kanker payudara dengan sel tumor besar dan sitoplasma eosinofilik granular, nukleolus menonjol dengan inti multilobular dan, positif pada pewarnaan *Periodic Acid-Schiff* (PAS). Karsinoma musinous terjadi sekitar 2% dari kasus kanker payudara, dengan akumulasi mukus ekstraseluler dalam jumlah besar yang mengelilingi sel tumor. Karsinoma kribriform terjadi 1-3,5% kasus dan memiliki prognosis baik, terdiri dari sel-sel tumor kecil dengan pola kribriform atau berlubang. Karsinoma tubular umumnya terjadi pada wanita usia 50-60 dan terjadi sekitar 2% kasus kanker payudara, terdiri dari struktur tubular menonjol dengan lumen terbuka disusun dalam pola tidak teratur. Karsinoma neuroendokrin memiliki karakteristik menyerupai tumor neuroendokrin saluran cerna dan paru, membentuk agregat tumor dengan bentuk pola alveolar, trabekular atau roset. Karsinoma ILC klasik memiliki bentuk tumor kecil dan seragam, serta menyebar dalam pola linear. Karsinoma lobular pleomorfik adalah variasi dari karsinoma ILC yang memiliki nukleus hiperkromatik dan eksentrik. Gambaran histologis klasifikasi tersebut terlihat pada Gambar 3.



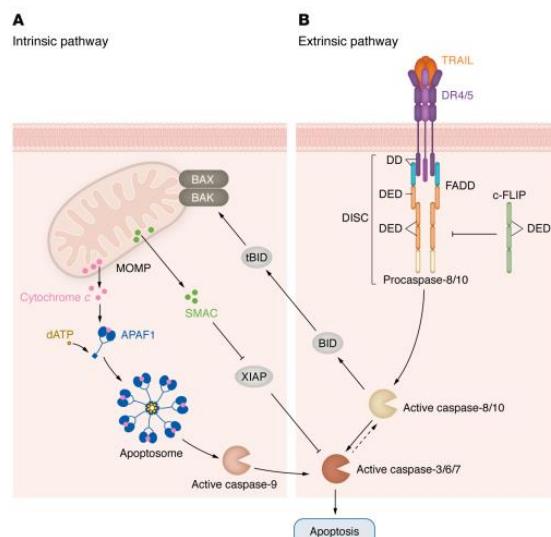
Gambar 3. Gambaran histologi subtipo karsinoma payudara invasif. A. karsinoma meduler. B. karsinoma metaplastik. C. karsinoma apokrin. D. karsinoma musinous. E. karsinoma kribriform. F. karsinoma tubular. G. karsinoma neuroendokrin. H. karsinoma lobular klasik. I. karsinoma lobular pleomorfik¹⁴

Apoptosis

Apoptosis adalah bentuk kematian sel terprogram yang berperan penting dalam menjaga homeostasis jaringan dan mencegah pertumbuhan sel kanker. Apoptosis dapat terjadi melalui dua jalur utama, yaitu intrinsik dan ekstrinsik.

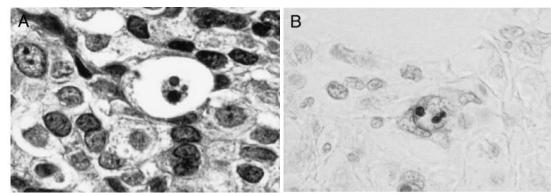
Jalur intrinsik dimulai dari peningkatan permeabilitas membran luar mitokondria (MOM). Pengaturan permeabilitas membran luar mitokondria dilakukan oleh protein keluarga Bcl-2 melalui mekanisme keseimbangan antara protein pro-apoptotik (BAX dan BAK) dan protein anti-apoptotik (Bcl-2 dan Bcl-X). Aktivasi protein pro-apoptotik, yaitu protein BAX dan BAK menyebabkan permeabilitas membran luar mitokondria meningkat, dan memicu pelepasan sitokrom c dan SMAC ke sitoplasma. Sitokrom c berinteraksi dengan *Apoptosis-activating factor-1* (APAF-1) dan procaspase-9 membentuk apoptosom. Caspase-9 akan teraktivasi dan selanjutnya akan mengaktifkan procaspase-3/6/7. Selanjutnya caspase-3/6/7 yang sudah teraktivasi akan menjalankan proses apoptosis¹⁶.

Jalur ekstrinsik dimulai dengan pengikatan ligan, seperti FasL, TNF, TRAIL pada reseptor kematian yang ada di membran plasma sel. Pengikatan ini menyebabkan pembentukan *Death-inducing signaling complex* (DISC) yang melibatkan *Fas-associated death domain* (FADD) dan procaspase-8/10. Caspase-8/10 menjadi aktif dan akan mengaktifkan caspase-3 secara langsung atau lewat pemotongan BH3-interacting domain death agonist (BID) menjadi tBID, yang kemudian mengaktifkan jalur intrinsik melalui mitokondria. Kedua jalur ini saling berhubungan untuk menginduksi apoptosis¹⁷.



Gambar 4. Mekanisme Apoptosis Jalur Intrinsik dan Ekstrinsik¹⁶

Sel yang mengalami apoptosis akan mengalami serangkaian perubahan morfologi yang khas. Perubahan diawali dengan penyusutan sel akibat hilangnya volume sitoplasma, yang disertai dengan kondensasi nucleus dan kromatin menjadi lebih padat. Selanjutnya nucleus mengalami fragmentasi menjadi bagian-bagian kecil. Pada tahap akhir, sel mengalami pemisahan menjadi vesikel-vesikel kecil yang disebut dengan badan apoptotik yang berisikan organel-organel sel dan kromatin. Badan apoptotik kemudian dikenali dan difagositosis oleh makrofag tanpa menyebabkan reaksi inflamasi²⁹. Pada Gambar 5 ditunjukkan sel yang mengalami apoptosis akan dikelilingi oleh Halo dan pada sel yang berada ditengah terdapat kromatin yang terkondensasi (**Gambar 5A**). Pada uji terminal deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick-End Labeling (TUNEL) terlihat pada sel yang mengalami apoptosis akan terlihat fragmentasi inti dan pemecahan DNA (DNA cleavage) (**Gambar 5B**).



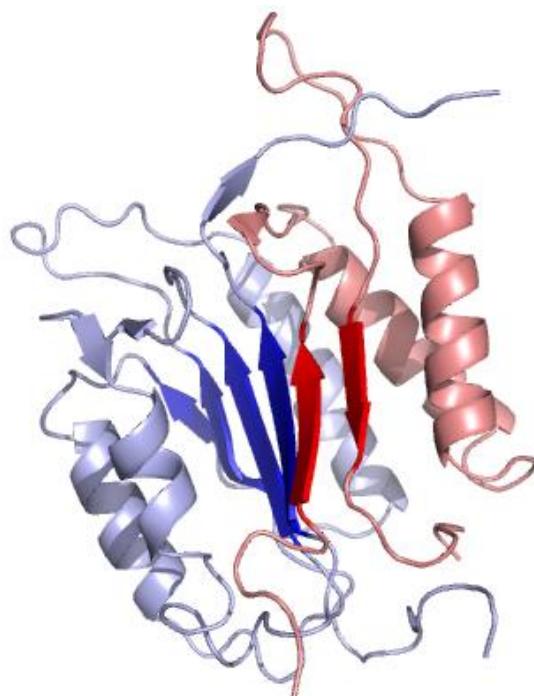
Gambar 5. Gambaran histologi sel kanker payudara yang mengalami apoptosis. (A) Pada pewarnaan Hematoxilin-Eosin, terlihat sel yang mengalami apoptosis akan dikelilingi Halo dan terdapat kondensasi kromatin, (B) pada uji TUNEL terlihat sel yang mengalami apoptosis mengalami fragmentasi inti dan pemecahan DNA³⁰

Caspase

Caspase adalah kelompok enzim protease berbasis sistein yang memotong protein pada residu aspartat tertentu dan berperan penting dalam apoptosis atau kematian sel terprogram. Caspase diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu caspase inisiator (caspase-2, 8, 9, dan 10) dan caspase eksekutor (caspase-3, 6, dan 7). Caspase inisiator awalnya berada dalam bentuk tidak aktif atau zimogen dan diaktifkan melalui dimerisasi, sedangkan caspase eksekutor akan aktif melalui pemotongan proteolitik. Caspase inisiator bertugas memicu kaskade apoptosis dengan mengaktifkan caspase eksekutor. Caspase eksekutor bertanggung jawab dalam pemecahan protein struktural dan enzim penting lainnya untuk menginisiasi apoptosis¹⁸.

Caspase-3

Caspase-3 adalah enzim protease sistein yang memainkan peran penting dalam jalur apoptosis dengan mengubah biokimia dan morfologi dalam sel. Struktur caspase-3 terdiri dari bentuk proenzim dorman (p32) yang mencakup prodomain 3 kDa, subunit besar (p17), dan subunit kecil (p12). Aktivasi caspase-3 terjadi melalui mekanisme pemrosesan proteolitik yang dimediasi oleh caspase inisiator. Selanjutnya, caspase-3 yang telah diaktifkan akan menghilangkan prodomainnya sendiri (p32) untuk membentuk polipeptida p17. Struktur kristal X-ray menunjukkan bahwa caspase-3 aktif berbentuk tetramer, yang terdiri dari dua subunit besar (p17) dan dua subunit kecil (p12) (Gambar 6). Enzim ini memiliki dua situs aktif independen, masing-masing mengandung residu Cys163 dan His121 yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi proteolitik. Situs aktif caspase-3 mengenali dan mengikat motif tetrapeptida spesifik dalam substrat protein untuk menginisiasi pemotongan proteolitik dalam sel¹⁹.



Gambar 6. Struktur Caspase-3. Subunit kecil (p12) berwarna merah muda, sedangkan subunit besar (p17) berwarna biru muda²⁷

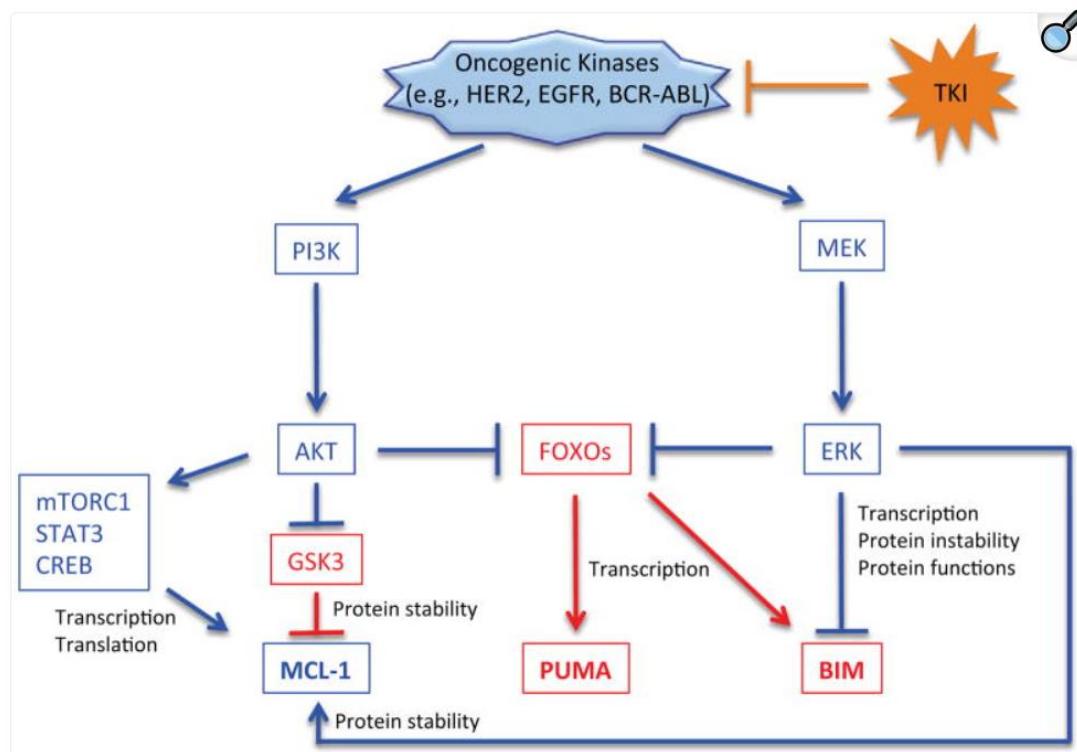
Protein caspase-3 memiliki sifat spesifik dalam memotong substrat pada residu aspartat.

Caspase-3 disintesis dalam bentuk tidak aktif (pro-caspase-3) dan diaktifkan melalui jalur intrinsik maupun ekstrinsik. Setelah aktif, caspase-3 berfungsi untuk mendegradasi berbagai substrat protein, seperti poly(ADP-ribose) polymerase (PARP), yang bertanggung jawab dalam perbaikan DNA dan homeostasis genom, serta memotong *inhibitor of Caspase-Activated DNase* (ICAD) sehingga CAD dapat memainkan perannya untuk menginduksi fragmentasi DNA. Caspase-3 juga akan mendegradasi protein struktural yang menyebabkan morfologi sel, seperti terjadi penurunan ukuran sel dan pembentukan badan apoptotik²⁸.

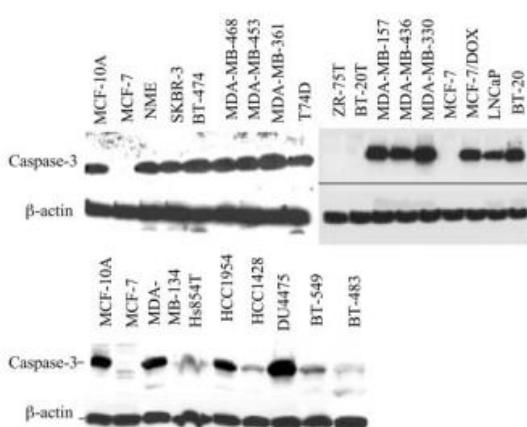
Caspase-3 memiliki peran yang signifikan dalam apoptosis pada kanker payudara dan berhubungan dengan prognosis penyakit ini. Pada penelitian Pu *et al* (2017) menunjukkan bahwa ekspresi caspase-3 yang tinggi berasosiasi dengan tingkat kelangsungan hidup kanker payudara yang lebih buruk. Dalam penelitian tersebut ditemukan bahwa ekspresi caspase-3 juga dikaitkan dengan subtype tertentu dari kanker payudara. Ekspresi caspase-3 yang tinggi ditemukan berhubungan dengan tumor HER-2 positif, yang menunjukkan kemungkinan interaksi antara caspase-3 dan jalur sinyal HER-2¹⁸.

Peran Caspase-3 terhadap Apoptosis Kanker Payudara

Kanker payudara dapat menghindari apoptosis melalui berbagai mekanisme yang menonaktifkan jalur kematian sel terprogram. Salah satu cara utama adalah meningkatkan ekspresi protein anti-apoptotik, seperti Bcl-2, Bcl-X, dan MCL-1 yang menjaga permeabilitas membran mitokondria dan mencegah pelepasan faktor pro-apoptotik, seperti sitokrom c dan SMAC. Mutasi atau inaktivasi gen TP53, yang merupakan regulator utama apoptosis, sering ditemukan pada kanker payudara, yang mengakibatkan hilangnya ekspresi gen-gen pro-apoptotik, seperti BAX dan PUMA. Jalur PI3K/AKT akan diaktifkan oleh onkogen, seperti HER2, EGFR, BCR-ABL dalam kanker payudara dan dapat menghambat apoptosis dengan menstabilkan protein MCL-1, kemudian menekan aktivitas faktor transkripsi pro-apoptotik, seperti FOXO. Selain itu, modifikasi pasca-translasi, seperti fosforilasi oleh ERK dapat meningkatkan degradasi protein pro-apoptotik, seperti BIM sehingga menghambat kematian sel²¹.



Gambar 7. Jalur pensinyalan yang meregulasi MCL-1, PUMA, dan BIM pada kasus kanker payudara²¹



Gambar 8. Kadar Caspase-3 pada beberapa jenis cell line menggunakan teknik Western blot. Pada cell line MCF-7 tidak terdapat gen CASP3 sehingga tidak terdeteksi adanya protein Caspase-3²⁰

Mekanisme penurunan caspase-3 pada kanker payudara dikaitkan dengan resistensi sel kanker terhadap kemoterapi. Penelitian Devarajan *et al.* menunjukkan sel kanker defisiensi caspase-3 menjadi lebih resisten terhadap kemoterapi seperti doxorubicin. Pada penelitian tersebut juga disebutkan bahwa sampel kanker payudara yang digunakan mengalami penurunan ekspresi caspase-3 secara signifikan pada sekitar 75% sampel tumor payudara. Mutasi berupa delesi pada gen CASP3, seperti yang terdeteksi pada cell line

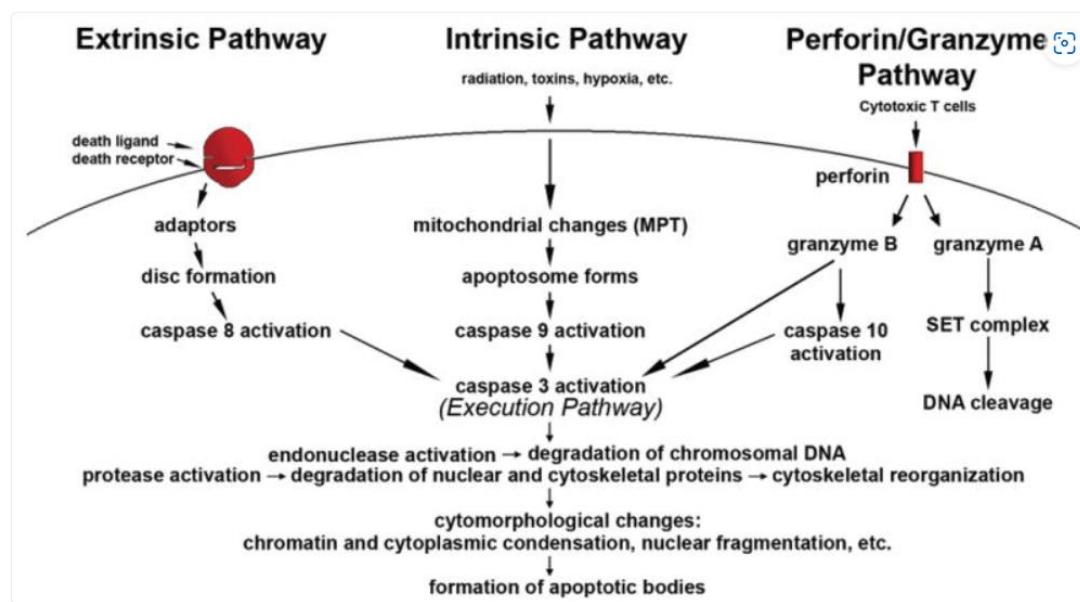
MCF-7 menyebabkan tidak terbentuknya protein caspase-3 (Gambar 8). Namun, ketika caspase-3 direkonstruksi dalam sel MCF-7, sensitivitas terhadap apoptosis meningkat secara signifikan. Penurunan ekspresi ini diduga merupakan mekanisme adaptif untuk kelangsungan hidup sel kanker dan resistensi terhadap kemoterapi²⁰.

Caspase-3 juga bisa dijadikan indikator untuk tingkat keganasan pada suatu kanker. Peningkatan jumlah ekspresi caspase-3 menunjukkan korelasi respon terhadap kemoterapi. Caspase-3 sebagai caspase eksekutor berperan dalam pembongkaran komponen seluler sel, fragmentasi inti, dan kondensasi kromatin²². Caspase-3 dapat mendorong penurunan tingkat kelangsungan hidup dari kanker payudara²³.

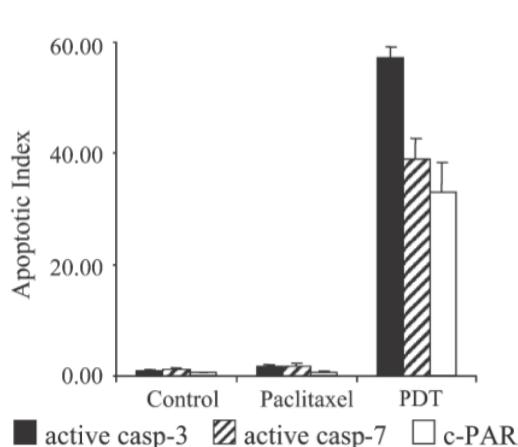
Mekanisme caspase-3 dalam menyebabkan apoptosis diawali dengan aktivasi jalur apoptosis intrinsik maupun ekstrinsik. Caspase-3 adalah caspase eksekutor yang awalnya berada dalam bentuk proenzim inaktif (zymogen). Aktivasi caspase-3 terjadi melalui dua tahap pemrosesan proteolitik. Pertama, caspase-9 sebagai caspase inisiator memotong caspase-3 pada lingker interdomain, yang menyebabkan perubahan konformasi situs aktifnya pada residu Cys163. Kemudian, pemotongan juga terjadi pada domain prodomain N-terminal yang menghilangkan bagian penghambat aktivitas

enzim. Setelah aktif, caspase-3 akan menjalankan fungsi eksekusinya dengan mendegradasi berbagai substrat protein dalam sel. Protein yang menjadi target utama caspase-3 mencakup *poly(ADP-ribose) polymerase* (PARP) yang terlibat dalam perbaikan DNA, gelsolin yang berperan dalam organisasi sitoskeleton²⁴. Caspase-3 yang teraktivasi akan memotong dan mengaktifkan endonuklease *Caspase-Activated DNase*

(CAD) dengan membebaskan CAD dari *Inhibitor of CAD* (ICAD). CAD kemudian bertanggungjawab atas fragmentasi DNA. Caspase-3 juga dapat menghidrolisis protein struktural, seperti cytokeratin dan fodrin, yang menyebabkan kerusakan sitoskeleton dan perubahan morfologi, seperti penusutan sel dan pembentukan badan apoptotik (Gambar 9)²⁵.

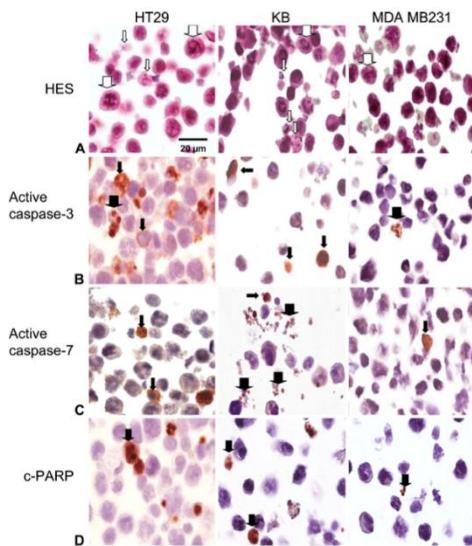


Gambar 9. Jalur apoptosis dan aksi dari caspase-3 menyebabkan kejadian apoptosis²⁵



Gambar 10. Index apoptosis pada cell line MDA-MB231. Caspase-3 aktif memiliki index apoptosis yang paling tinggi dibandingkan caspase-7 aktif dan c-PARP³¹

Pada penelitian Bressenot et al (2009) disebut evaluasi apoptosis dengan menggunakan imunohistokimia terhadap caspase-3 yang aktif, caspase-7 yang aktif, dan *cleaved poly(ADP-ribose)* (cPARP) pada beberapa model kanker. Pada model *cell line* MDA-MB231 yang merupakan *cell line* TNBC, index apoptosis dari caspase-3 yang diinduksi menggunakan *photodynamic therapy* (PDT) lebih tinggi dibandingkan index apoptosis dari caspase-7 yang aktif atau cPARP (Gambar 10)³¹.



Gambar 11. Gambaran histologi pada masing-masing penanda protein menggunakan pewarnaan Imunohistokimia(IHK). A. pewarnaan hematoxylineosin-safranin. B. pewarnaan IHK untuk menandai Caspase-3 aktif. C. pewarnaan IHK untuk menandai Caspase-7 aktif. D. pewarnaan IHK untuk menandai c-PARP³¹

Regulasi caspase-3 terhadap apoptosis pada kanker payudara berperan penting dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker. Penginduksian kematian sel kanker payudara (MCF-7) lewat aktivasi caspase-3 yang akan memfragmentasi DNA. Dalam beberapa jurnal menunjukkan bahwa caspase-3 memainkan peran kunci dalam memicu apoptosis sehingga menghentikan proliferasi sel kanker payudara²⁶. Kesimpulan:

Regulasi caspase-3 dalam mekanisme apoptosis pada kanker payudara memiliki peran yang sangat penting dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dan meningkatkan efektivitas terapi. Caspase-3 berfungsi sebagai caspase eksekutor yang bertanggung jawab dalam fragmentasi DNA, degradasi protein sitoskeleton yang mengarah pada kematian sel secara terprogram. Aktivasi caspase-3 dapat dipicu oleh jalur intrinsik melalui pelepasan sitokrom c dari mitokondria, serta dapat dipicu melalui jalur ekstrinsik dengan aktivasi reseptor kematian, seperti Fas dan TNF. Dengan memahami lebih dalam mekanisme regulasi caspase-3 dan interaksinya dalam jalur apoptosis, pengembangan terapi berbasis induksi apoptosis dapat lebih ditingkatkan untuk mencapai efektivitas yang tinggi dalam penanganan kanker payudara.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yuan L, Cai Y, Zhang L, Liu S, Li P, Li X. Promoting Apoptosis, a Promising Way to

Treat Breast Cancer With Natural Products: A Comprehensive Review. Vol. 12, Frontiers in Pharmacology. Frontiers Media S.A.; 2022.

2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today [Internet]. Lyon; 2024 [cited 2024 Sep 25]. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>
3. Gautama W. Breast Cancer in Indonesia in 2022: 30 Years of Marching in Place. Indonesian Journal of Cancer. 2022 Apr 1;16(1):1.
4. Sadeghi F, Asgari M, Matloubi M, Ranjbar M, Karkhaneh Yousefi N, Azari T, et al. Molecular contribution of BRCA1 and BRCA2 to genome instability in breast cancer patients: Review of radiosensitivity assays. Vol. 22, Biological Procedures Online. BioMed Central Ltd; 2020.
5. Wang H, Guo M, Wei H, Chen Y. Targeting p53 pathways: mechanisms, structures, and advances in therapy. Vol. 8, Signal Transduction and Targeted Therapy. Springer Nature; 2023.
6. Mallick S, Duttaroy AK, Dutta S. The PIK3CA gene and its pivotal role in tumor tropism of triple-negative breast cancer. Vol. 50, Translational Oncology. Neoplasia Press, Inc.; 2024.
7. Smolarz B, Zadrożna Nowak A, Romanowicz H. Breast Cancer—Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). Vol. 14, Cancers. MDPI; 2022.
8. Wong RSY. Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. Vol. 30, Journal of Experimental and Clinical Cancer Research. 2011.
9. Chaudhry GES, Md Akim A, Sung YY, Sifzizul TMT. Cancer and apoptosis: The apoptotic activity of plant and marine natural products and their potential as targeted cancer therapeutics. Vol. 13, Frontiers in Pharmacology. Frontiers Media S.A.; 2022.
10. Kim HR, Cho YS, Chung SW, Choi JU, Ko YG, Park SJ, et al. Caspase-3 mediated switch therapy of self-triggered and long-acting prodrugs for metastatic TNBC. Journal of Controlled Release. 2022 Jun 1;346:136–47.
11. O'Donovan N, Crown J, Stunell H, Hill ADK, McDermott E, O'Higgins N, et al. Caspase 3 in breast cancer. Clin Cancer Res [Internet]. 2003 Feb;9(2):738–42. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12576443
12. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. Signal Transduct Target Ther [Internet]. 2025 Feb

19;10(1):49. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-024-02108-4>

13. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. Vol. 5, *Genes and Diseases*. Chongqing University; 2018. p. 77–106.

14. Nascimento RG do, Otoni KM. Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? *Mastology*. 2020;30.

15. Koufopoulos NI, Boutas I, Pouliakis A, Samaras MG, Kotanidis C, Kontogeorgi A, et al. The “Forgotten” Subtypes of Breast Carcinoma: A Systematic Review of Selected Histological Variants Not Included or Not Recognized as Distinct Entities in the Current World Health Organization Classification of Breast Tumors. Vol. 25, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.

16. Tian X, Srinivasan PR, Tajiknia V, Sanchez Sevilla Uruchurtu AF, Seyhan AA, Carneiro BA, et al. Targeting apoptotic pathways for cancer therapy. Vol. 134, *Journal of Clinical Investigation*. American Society for Clinical Investigation; 2024.

17. Kim R, Kin T, Beck WT. Impact of Complex Apoptotic Signaling Pathways on Cancer Cell Sensitivity to Therapy. Vol. 16, *Cancers*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.

18. Pu X, Storr SJ, Zhang Y, Rakha EA, Green AR, Ellis IO, et al. Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*. 2017 Mar 1;22(3):357–68.

19. Tawa P, Hell K, Giroux A, Grimm E, Han Y, Nicholson DW, et al. Catalytic activity of caspase-3 is required for its degradation: Stabilization of the active complex by synthetic inhibitors. *Cell Death Differ*. 2004 Apr;11(4):439–47.

20. Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, Krishnamurthy RR, Aggarwal N, Brun AM, et al. Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: A possible mechanism for chemoresistance. *Oncogene*. 2002 Dec 12;21(57):8843–51.

21. Fernald K, Kurokawa M. Evading apoptosis in cancer. Vol. 23, *Trends in Cell Biology*. 2013. p. 620–33.

22. Shams Firas Adnan, Zainab N. Al-Abady. Investigation the Role of Lactate Dehydrogenase, Caspase and the Oxidative Stress Levels in Breast Cancer Patients. *Journal of Biomedicine and Biochemistry* [Internet]. 2024 Dec 30;3(4):15–22. Available from: <https://biomedbiochem.nabea.pub/biomedbiochem/article/view/79>

23. Tahmasvand R, Dehghani S, Kooshafar Z, Emami Najafi SA, Almasirad A, Salimi M. In vitro and in vivo activity of a novel oxamide-hydrazone hybrid derivative against triple-negative breast cancer. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2024 Jul 1;397(7):5119–29.

24. Ponder KG, Boise LH. The prodomain of caspase-3 regulates its own removal and caspase activation. *Cell Death Discov*. 2019 Dec 1;5(1).

25. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol* [Internet]. 2007 Jun 1;35(4):495–516. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1080/01926230701320337>

26. Datkhile KD, Durgawale PP, Jagdale NJ, More AL, Patil SR. Biosynthesized silver nanoparticles of *Cissus woodrowii* inhibit proliferation of cancer cells through induction of apoptosis pathway. *Cancer Nanotechnol*. 2024 Dec 1;15(1).

27. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspase: Pharmacological manipulation of cell death. Vol. 115, *Journal of Clinical Investigation*. 2005. p. 2665–72.

28. Nicholson D. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ* [Internet]. 1999 Nov 24;6(11):1028–42. Available from: <https://www.nature.com/articles/4400598>

29. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis [Internet]. Vol 45, *Cardiovascular Research*. 2000. Available from: www.elsevier.com/locate/cardiores

30. Lui S, Edgerton SM, Moore DH, Thor AD. Measures of cell turnover (proliferation and apoptosis) and their association with survival in breast cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2001 Jun;7(6):1716–23. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11410511

31. Bressenot A, Marchal S, Bezdetnaya L, Garrier J, Guillemin F, Plenat F. Assessment of Apoptosis by Immunohistochemistry to Active Caspase-3, Active Caspase-7, or Cleaved PARP in Monolayer Cells and Spheroid and Subcutaneous Xenografts of Human Carcinoma. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2009 Apr;57(4):289–300.