

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan keganasan tersering yang ditemukan pada organ kepala dan leher. *Global Cancer Statistic* tahun 2018 memperkirakan bahwa terdapat sekitar 129.079 kasus baru dan 72.987 kematian terkait KNF, dengan masing-masing terhitung 0,7% dan 0,8% dari semua pasien kanker baru dan yang meninggal. Karsinoma nasofaring merupakan keganasan yang unik karena menunjukkan perbedaan berdasarkan geografis dan etnis, yaitu lebih sering ditemukan di wilayah dan etnis Asia. *Non keratinizing squamous cell carcinoma undifferentiated sub-type* merupakan jenis histopatologi KNF tersering di wilayah endemik. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) melaporkan pada tahun 2008, bahwa lebih dari 80% pasien KNF berada di Asia. KNF di Asia Tenggara menunjukkan prevalensi yang tinggi, yaitu mencapai 15-50 kasus per 100.000 penduduk. Mahdavifar melaporkan bahwa angka kejadian dan kematian yang tinggi akibat KNF di Asia Tenggara ditemukan di beberapa negara, antara lain di Indonesia (Mahdavifar *et al.*, 2016; Zhan and Fan, 2020).

Karsinoma nasofaring merupakan keganasan yang tumbuh dari sel pelapis mukosa nasofaring. Pertumbuhan tumor berawal dari *fossa rosenmuller* ataupun dari dinding belakang atas nasofaring. Lokasi tersebut sulit dijangkau dengan prosedur pembedahan radikal, sehingga pengobatan KNF di tahap awal menggunakan modalitas radioterapi sebagai standar pengobatan utama. Standar pengobatan KNF tahap lanjut berupa gabung kemoterapi dan radioterapi yang dikenal dengan kemoradiasi. Penderita KNF umumnya datang memeriksakan

diri setelah tumor menimbulkan gejala, yaitu setelah tumor meluas secara lokoregional, atau setelah tumor mengalami metastasis pada leher. Karsinoma nasofaring, sebagian besar bersifat sensitif terhadap radiasi maupun kemoterapi, sehingga menunjukkan respons terapi yang baik yaitu tidak didapatkan sel tumor pada jaringan biopsi nasofaring sesudah terapi. Literatur menyebutkan bahwa sekitar 20% penderita KNF bersifat resisten terhadap pengobatan standar, sehingga menunjukkan respons terapi yang buruk, yaitu ditandai dengan masih didapatkan sel-sel tumor KNF dari hasil biopsi setelah pengobatan (Petersson *et al.*, 2017; Perri *et al.*, 2019). Jalur molekuler yang berperan menimbulkan perbedaan respons terapi pada KNF hingga saat ini belum diketahui dengan jelas, sehingga perlu dilakukan penelitian di tingkat biologi molekuler untuk mempelajari mekanisme respons kemoradiasi pada KNF.

Karsinoma nasofaring dengan respons terapi yang buruk menimbulkan permasalahan pada organ lokal yang menyebabkan residu tumor maupun rekurensi. Permasalahan pada organ lokal tersebut menyebabkan *local control*, *progressive free survival* dan *3 years overall survival* yang rendah. Rekurensi lokoregional sebagai akibat respons terapi yang buruk dapat menjadi penyebab morbiditas dan menurunkan kelangsungan hidup jangka panjang. Rekurensi lokoregional keganasan sel skuamous di organ kepala dan leher termasuk KNF tercatat sekitar 15-50%. Rekurensi lokoregional ini sulit diobati karena berbagai alasan antara lain akibat efek pengobatan sebelumnya pada sel tumor, infiltrasi sel tumor dan pertumbuhan multifokal sehingga menyulitkan terapi. Respons kemoradiasi KNF yang buruk menimbulkan rekurensi lokoregional, metastasis

jauh, dan berkontribusi terhadap kematian (Chen *et al.*, 2015; Chang *et al.*, 2017; Zhan and Fan, 2020).

Penelitian biomolekuler di tingkat *proteomic* untuk mempelajari mekanisme respons kemoradiasi pada KNF merupakan hal yang perlu terus dikembangkan. Hasil dari penelitian biomolekuler tersebut selanjutnya diharapkan bermanfaat menjadi faktor prediktif dan sebagai dasar pengembangan penatalaksanaan penderita KNF, sehingga bermanfaat meningkatkan hasil luaran penderita KNF.

Sejumlah penelitian, dalam dekade terakhir menunjukkan bahwa tumor memiliki sifat heterogen yaitu terdapat properti inisiasi tumor yang dikenal sebagai sel punca kanker (SPK). Sel punca kanker memiliki sifat yang berbeda dibandingkan dengan sel tumor lainnya, yaitu mempunyai kemampuan memperbarui diri secara tidak terbatas dan berdiferensiasi ke berbagai populasi sel tumor sehingga berperan dalam progresifitas kanker melalui resistensi terhadap terapi. Sejumlah marker SPK telah dikenal, antara lain *Cluster of Differentiation 133* (CD133), namun perannya sebagai petanda biomolekuler KNF belum banyak diketahui (Schulz *et al.*, 2019; Zhan and Fan, 2020).

Cluster of Differentiation 133 merupakan *pentaspen transmembrane glikoprotein* rantai tunggal yang terlokalisasi pada membran plasma seluler. *Cluster of Differentiation 133* dikenal sebagai salah satu marker sel punca kanker yang ditemukan pada berbagai tumor *solid*. *Cluster of Differentiation 133* pada tumor *solid* umumnya diinduksi oleh hipoksia yaitu kurangnya ketersediaan oksigen. Hipoksia banyak terjadi pada pertumbuhan tumor akibat aktivitas proliferasi sel yang tinggi dan ditambah abnormalitas pembuluh darah pada

jaringan tumor. Induksi CD133 akibat hipoksia yaitu melalui peningkatan regulasi *Hypoxia Inducible Factor-1 alpha* (HIF-1 α), yaitu suatu faktor transkripsi pengikat DNA yang mampu mengaktifkan serangkaian gen. *Hypoxia Inducible Factor-1 alpha* ditemukan pada beberapa tumor antara lain glioma dan kanker paru (Ohnishi *et al.*, 2013; Soni and Padwad, 2017; Brugnoli *et al.*, 2018).

Cluster of Differentiation 133 memiliki kemampuan mengaktifkan *phosphatidylinositol 3 kinase* (PI3K). Aktivasi PI3K selanjutnya menimbulkan pengaktifan Akt yang mengarah ke peningkatan aktivitas faktor-faktor anti apoptosis pada jalur intrinsik. Sel tumor dengan CD133 juga mampu menghambat apoptosis melalui jalur ekstrinsik yaitu melalui peningkatan regulasi ekspresi *cellular FLICE (FADD-like IL-1 β - converting enzyme) - Inhibitory Protein* (cFLIP) yang menghambat caspase 8. Hasil dari proses tersebut akan meningkatkan kelangsungan hidup sel tumor sehingga menimbulkan respons buruk (Behrooz *et al.*, 2019).

Tujuan utama radioterapi adalah menghancurkan sel kanker dengan cara memberikan radiasi ionisasi pada sel kanker. Radioterapi menimbulkan kerusakan sel target melalui cara langsung maupun tidak langsung. Efek radioterapi secara langsung mengakibatkan kerusakan DNA sel tumor, namun juga menyebabkan kerusakan pembuluh darah di jaringan tumor sehingga menimbulkan hipoksia. Efek radioterapi secara tidak langsung yaitu dengan menghasilkan radikal bebas yang dapat secara aktif menyerang asam nukleat dan juga berbagai protein seluler serta lemak. Paparan radioterapi atau radiasi ionisasi pada berbagai sel akan menghasilkan produk radiolisis di dalam sel berupa molekul kimiawi reaktif yang mengandung oksigen, yang disebut *reactive oxygen*

species (ROS). Produk ROS juga berperan mempertahankan induksi HIF-1 α . Sel dalam merespons ancaman toksisitas ROS, mempunyai pertahanan lini pertama, yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD) yang merupakan enzim antioksidan yang sangat kuat dalam menghadapi radikal bebas, yaitu berperan mengeliminasi superoksida dengan cara mengkatalisis dismutase superoksida hingga menjadi hidrogen peroksida dan air (Moeller *et al.*, 2004; Baskar *et al.*, 2014; Dayal *et al.*, 2014; Desouky *et al.*, 2015; Younus, 2018).

Heat shock protein 70 (HSP70) berperan dalam melindungi sel. Sel yang mendapat jejas yang mengancam kematian antara lain jejas kemoterapi dan radiasi dapat mengalami perubahan. *Heat shock protein 70* berperan melindungi sel-sel pada kondisi tersebut dengan cara membetulkan pelipatan protein yang salah, membantu pelipatan protein dengan benar, merakit struktur protein kompleks dengan benar dan memelihara transport protein melalui membran sel, sehingga mencegah kematian sel. *Heat shock protein 70* juga menghambat aktivitas p53 sehingga menghambat Bax yang berperan penting dalam apoptosis dengan mengontrol pelepasan *cytochrome c* dari membran mitokondria. (Kumar *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Miller and Fort, 2018; Albakova *et al.*, 2020).

Pemberian pengobatan kemoradiasi berpotensi menginduksi kematian sel tumor melalui apoptosis. Apoptosis pada pemberian kemoradiasi, merupakan jalur kematian sel akibat kerusakan perangkat genetik. Identifikasi sel yang mengalami apoptosis dapat dilakukan dengan metode pewarnaan enzimatis *terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling (TUNEL) assay*. Melalui metode *TUNEL assay*, sel yang mengalami apoptosis tampak berwarna coklat, sedangkan sel tumor yang *survive* tidak terwarnai. Dalam proses apoptosis,

apoptotic bodies selanjutnya segera dimakan oleh sel fagosit. Berdasarkan hal tersebut, karena keberadaan sel yang mengalami apoptosis hanya berlangsung singkat, maka evaluasi keberhasilan terapi kemoradiasi pada sampel *follow up* biopsi nasofaring dapat dilakukan pada sel tumor yang *survive* (Safa, 2012; Kumar *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2019).

Uraian di atas menjadi alasan bahwa perlu dilakukan penelitian untuk menjelaskan perbedaan dan mekanisme antara respon baik dan respon buruk terhadap kemoradiasi pada KNF. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengamati perbedaan ekspresi biomarker HIF-1 α , CD133, SOD, HSP70 dan sel *survive* pada KNF jenis *non keratinizing squamous cell carcinoma, undifferentiated sub-type* pada jaringan biopsi KNF respon baik maupun KNF respon buruk. Selanjutnya dilakukan analisis jalur untuk menjelaskan mekanisme respon kemoradiasi pada KNF.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada perbedaan ekspresi HIF-1 α sebelum kemoradiasi pada KNF respon baik dan respon buruk?
2. Apakah ada perbedaan ekspresi HIF-1 α sesudah kemoradiasi pada KNF respon baik dan respon buruk?
3. Apakah ada perbedaan perubahan ekspresi HIF-1 α sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respon baik dan respon buruk?
4. Apakah ada perbedaan ekspresi CD133 sebelum kemoradiasi pada KNF respon baik dan respon buruk?

5. Apakah ada perbedaan ekspresi CD133 sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
6. Apakah ada perbedaan perubahan ekspresi CD133 sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
7. Apakah ada perbedaan ekspresi SOD sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
8. Apakah ada perbedaan ekspresi SOD sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
9. Apakah ada perbedaan perubahan ekspresi SOD sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
10. Apakah ada perbedaan ekspresi HSP70 sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
11. Apakah ada perbedaan ekspresi HSP70 sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
12. Apakah ada perbedaan perubahan ekspresi HSP70 sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
13. Apakah ada perbedaan sel *survive* sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
14. Apakah ada perbedaan sel *survive* sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
15. Apakah ada perbedaan perubahan sel *survive* sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk?
16. Bagaimanakah mekanisme respons kemoradiasi pada KNF?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menjelaskan perbedaan dan mekanisme antara respons baik dan buruk terhadap kemoradiasi pada KNF dengan cara mempelajari perbedaan ekspresi biomarker HIF-1 α , CD133, SOD, HSP70 dan sel *survive*.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis perbedaan ekspresi HIF-1 α sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
2. Menganalisis perbedaan ekspresi HIF-1 α sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
3. Menganalisis perbedaan perubahan ekspresi HIF-1 α sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
4. Menganalisis perbedaan ekspresi CD133 sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
5. Menganalisis perbedaan ekspresi CD133 sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
6. Menganalisis perbedaan perubahan ekspresi CD133 sebelum dan sesudah kemoradiasi antara KNF respons baik dan respons buruk.
7. Menganalisis perbedaan ekspresi SOD sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
8. Menganalisis perbedaan ekspresi SOD sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
9. Menganalisis perbedaan perubahan ekspresi SOD sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.

10. Menganalisis perbedaan ekspresi HSP70 sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
11. Menganalisis perbedaan ekspresi HSP70 sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
12. Menganalisis perbedaan perubahan ekspresi HSP70 sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
13. Menganalisis perbedaan sel *survive* sebelum kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
14. Menganalisis perbedaan sel *survive* sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
15. Menganalisis perbedaan perubahan sel *survive* sebelum dan sesudah kemoradiasi pada KNF respons baik dan respons buruk.
16. Menganalisis mekanisme respons kemoradiasi pada KNF.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah tentang perbedaan dan mekanisme respons kemoradiasi pada KNF.

1.4.2 Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar faktor prediktif dan pengembangan terapi penderita pada KNF.