

PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PI3CA	<i>phosphatidykinositol biphosphate kinase, catalytic subunit alpha</i>
PI3K	<i>Phosphoinositide 3-kinase</i>
PIP2	<i>Phosphatidylinositol biphosphate</i>
PIP3	<i>Phosphatidylinositol Triphosphate</i>
PKB	<i>protein kinase B</i>
pRb	<i>Retinoblastoma protein</i>
PTEN	<i>Phosphatase and tensin homolog deletion on chromosome Ten</i>
PTP	<i>Permeability Transition Pore</i>
RBL	<i>Retinoblastoma like protein</i>
Re-188-	<i>Rhenium-188 labelled mAbCx-99</i>
mAbCx-99	
RECIST	<i>Response Evaluation Criteria in Solid Tumors</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RSUD	<i>Rumah Sakit Umum Daerah</i>
SOD	<i>superoxyde dismutase</i>
TdT	<i>Terminal deoxynucleotidyl transferase</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TUNEL	<i>Terminal deoxynucleotidyl transferase nick end labeling</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>

BAB 1**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang Masalah**

Sampai saat ini kanker serviks masih merupakan salah satu masalah kesehatan wanita di dunia sehubungan dengan angka kejadian dan angka kematian yang tinggi (Ferlay *et al.*, 2010). Kasus baru dan kematian kanker serviks yang dikatakan oleh *World Health Organization* sebagai penyakit menular seksual ini, sebagian besar justru terjadi di negara berkembang termasuk Indonesia. Keterlambatan diagnosis, status sosial ekonomi yang rendah, keterbatasan sarana, prasarana dan derajat pendidikan ikut serta dalam menentukan tingginya angka kejadian dan kematian kanker serviks di negara berkembang (Andrijono, 2009). Angka kejadian kanker serviks di Indonesia pada tahun 2008 sebesar 13.762 kasus dengan angka kematian sebanyak 7.493 (Ferlay *et al.*, 2010). Data di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Soetomo, sebagai layanan tersier dan rujukan Indonesia Timur mendapatkan 1.547 kasus baru kanker serviks selama 3 tahun (Tahun 2011-2013) yang berobat ke poli onkologi ginekologi (Divisi Onkologi Ginekologi, 2014).

Meskipun penyebab dan perjalanan penyakit kanker serviks sudah sangat jelas dan pencegahan primer sudah banyak dilakukan, namun sampai saat ini kebanyakan pasien (66,4%) datang dalam keadaan stadium lanjut, yaitu stadium IIB-IVB (Ferlay *et al.*, 2010). Pada stadium awal operasi masih merupakan pilihan pengobatan, sedangkan pada kondisi yang sudah lanjut seperti stadium IIB-IVA pengobatan yang terpilih adalah radioterapi (Andrijono, 2009). Upaya pencegahan primer terus

diupayakan dalam rangka penurunan angka kejadian kanker serviks. Beberapa terobosan seperti pengamatan langsung dengan mata telanjang pada serviks setelah diolesi asam cuka untuk mengetahui perubahan sel epitel serviks mulai banyak dikerjakan terutama untuk daerah dengan kemampuan terbatas, pengamatan dan pengobatan langsung untuk pra kanker serviks (*see and treat*) juga mulai banyak dikerjakan pada layanan primer. Perkembangan skrining dengan hapusan *Papanicolou* sampai pemeriksaan *Deoxyribonucleic acid (DNA) human papilloma virus (HPV)*, serta pemberian vaksin HPV merupakan upaya yang banyak dilakukan dalam rangka pencegahan primer kanker serviks. Akan tetapi banyaknya kasus yang baru terdiagnosis pada stadium lanjut yang memerlukan radioterapi juga merupakan tantangan tersendiri di Indonesia pada umumnya dan Surabaya pada khususnya.

Hampir 60% kasus kanker diseluruh dunia membutuhkan pengobatan radiasi, termasuk kanker serviks, baik sebagai terapi tunggal maupun sebagai terapi tambahan setelah tindakan operasi. Tidak semua pemberian radioterapi pada kanker serviks memberikan respon yang baik terutama pada kanker stadium lanjut, banyak ditemukan kasus yang tidak memberikan respon, semakin berkembang atau mengalami kekambuhan yang sering disebut dengan radioresisten. Pada stadium awal, pengobatan dengan radiasi menghasilkan penyembuhan yang cukup baik, akan tetapi hasil radioterapi pada stadium lanjut menunjukkan hasil yang kurang memuaskan, dengan *5- year survival rates* 30-55% untuk stadium IIIB dan 4-20 % untuk stadium IVA. Penelitian di Jepang menunjukkan angka ketahanan hidup yang lebih bagus dengan pemberian radioterapi kombinasi (eksternal dan *brachitherapy*), didapatkan angka *5- year survival rates* pada stadium I (93,3%), stadium II (77%) dan stadium III/IV (60,3%) (Ota *et al.*, 2007). Berbagai upaya dilakukan oleh para ahli untuk meningkatkan angka keberhasilan pengobatan radiasi dengan tetap memperhatikan

efek samping yang mungkin terjadi, antara lain dengan memperbaiki dosis radiasi, mengembangkan distribusi radiasi dengan *Intensity Modulated Radio Therapy*, *Image Guidance Radio Therapy*, meningkatkan kepekaan radiasi dengan pemberian kemoterapi sebagai *sensitizer* serta radioterapi dalam suasana hipertermia. Berbagai penelitian juga telah banyak dilakukan untuk mengetahui respon biologi radiasi terhadap sel kanker, pengaruh lingkungan disekitarnya seperti keadaan hipoksia, kerusakan dan kematian sel, perbaikan sel dan repopulasi serta peran sel punca kanker, akan tetapi masih cukup banyak kanker yang mengalami kegagalan dan kekambuhan setelah pengobatan radiasi.

Bagaimana hubungan antara terjadinya resistensi kanker serviks terhadap radioterapi dengan kematian sel dan faktor lain yang mempengaruhi sampai saat ini belum banyak terungkap. Hal ini penting diketahui agar bisa mendapatkan indikator yang bermanfaat untuk menentukan keberhasilan dan menentukan prioritas pemberian radioterapi penderita kanker serviks, dengan harapan diperoleh hasil pengobatan yang lebih baik dan lebih efisien.

Pada pengobatan radiasi, radiasi partikel (proton, neutron, elektron, dan ion) dapat mengionisasi secara langsung dan memberikan energi untuk memindahkan elektron dari orbit atom dan merubah suatu rantai *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) (Kevin *et al.*, 2009). Sekitar 70% efek ionisasi radiasi seperti foton bekerja secara tidak langsung, dimana energi ditransfer ke target melalui perantara seperti air sehingga membentuk radikal bebas yang dikenal dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang terdiri dari *superoxide anion*, *hydrogen peroxide*, *hydroxyl radical* dan *singlet oxygen* yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan kerusakan biologis pada berbagai makromolekul, sehingga terjadi kematian sel yang sering terjadi melalui proses apoptosis (Lehnert, 2014).

Apoptosis dan nekrosis memiliki mekanisme yang berbeda dan merupakan proses simultan yang dapat disebabkan beberapa stimulus seperti suhu yang tinggi, radiasi *ultraviolet* (UV), radiasi ionisasi, stres oksidatif dan kemoterapi. Ketika suatu sel mengalami stimulus dan kerusakan, dimana kerusakan tersebut melebihi dari kemampuan sel untuk memperbaiki maka akan terjadi suatu apoptosis (Berek & Hacker, 2005). Kerusakan DNA sel akibat radiasi dapat berupa kerusakan basa DNA, *Single Strand Breaks* (SSB) atau *Double Strand Breaks* (DSB) yang memerlukan proses apoptosis untuk penghancurannya (Reed, 2000).

Sel dalam keadaan aerobik selalu terancam oleh ROS, namun dengan adanya sistem antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase*, *peroxiredoxins*, *gluthathione peroxidase*, dan *gluthathione related system* yang lain, maka efek yang ditimbulkan dapat dinetralisir (Lehnert, 2014). Ketika keseimbangan hilang, stres oksidatif mengakibatkan fungsi sel terganggu menyebabkan terjadinya berbagai kondisi patologis. Menurunnya antioksidan telah diketahui berhubungan dengan kejadian kanker. Beberapa penelitian menunjukkan salah satu antioksidan penting, yaitu *catalase* (CAT) mengalami penurunan pada kanker serviks disebabkan penggunaannya sebagai *scavenger* untuk melawan peningkatan peroksida lipid dan sel tumor pada kanker. Sebaliknya, Gunalan & Krishnamurthy mendapatkan peningkatan signifikan aktivitas enzim antioksidan ini setelah kanker servik mendapatkan radioterapi (Gunalan & Krishnamurthy, 2012). Radikal bebas yang terbentuk pada proses radioterapi yang diperlukan untuk perusakan DNA akan terhambat dengan peningkatan *catalase* yang justru akan menetralkan radikal bebas.

Heat Shock Protein (Hsp) merupakan suatu kelompok protein yang meningkat ekspresinya ketika ada respon dari berbagai stresor yang membantu sintesa dan pelipatan protein sehingga memegang peranan penting pada pertahanan sel.

Resistensi apoptosis berhubungan dengan ekspresi tinggi dari Hsp (Smith *et al.*, 2008). Beberapa studi menunjukkan ekspresi Hsp70 meningkat pada kanker serviks. Banyak klinisi memberi perhatian lebih pada Hsp70 karena fungsinya dalam proliferasi sel, pertumbuhan tumor, kemampuan invasif dan inhibisi apoptosis pada kanker (Park *et al.*, 1999).

Cytokeratin (CY) dapat mempresentasikan sel epitel secara spesifik dan berfungsi menjaga integritas serta stabilitas mekanik dari sel epitel. Molekul ini juga dapat dijadikan alat untuk mendiagnostik keadaan patologi tertentu terutama deteksi dan penyebaran kanker dan juga berhubungan dengan stadium kanker serviks. *Cytokeratin*19 juga diduga berhubungan dengan resistensi apoptosis dan progresifitas dari kanker serviks (Yuan *et al.*, 1998). Peningkatan cytotkeratin pada kanker serviks kemungkinan menjadi salah satu faktor yang menentukan keberhasilan radioterapi.

Phosphatidylinositol Triphosphate (PIP3) adalah produk fosforilasi dari *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) terhadap *phosphatidylinositol biphosphate* (PIP2) (Liu *et al.*, 2009). Aktivasi PI3K dapat dilakukan oleh berbagai signal ekstraseluler dan berhubungan dengan berbagai proses seluler seperti proliferasi, pertahanan sel, sintesis protein hingga pertumbuhan tumor (Jiang & Liu, 2008). Jalur yang paling sering diaktivasi adalah *protein kinase B* (PKB), yang mengakibatkan berjalannya jalur anabolik untuk pertumbuhan dan pertahanan sel. Beberapa penelitian melaporkan perubahan jalur PI3K-PKB banyak ditemukan pada kanker, hal ini dapat terjadi akibat amplifikasi gen yang mengkode PI3K dan gen PKB atau akibat mutasi dari komponen *phosphatase and tensin homolog deletion on chromosome Ten* (PTEN) yang menginhibisi aktivasi PKB (Osaki *et al.*, 2004). Beberapa penelitian lain menyebutkan bahwa gangguan regulasi PI3K ini

berhubungan dengan resistensi terapi kanker (Akinleye *et al.*, 2013).

Respon pengobatan kanker serviks dengan radiasi masih sangat bervariasi. Radioterapi pada kanker serviks dapat merusak DNA, sehingga sel mengalami apoptosis. Selain itu radiasi dapat mengionisasi air sehingga terbentuk ROS. Peningkatan ROS dan penurunan antioksidan menyebabkan terjadinya suatu stres oksidatif sehingga menyebabkan sel mengalami kematian baik nekrosis maupun apoptosis. Antioksidan seperti CAT yang meningkat pada radioterapi tentu kurang menguntungkan karena akan menetralkan ROS yang ada. Pada kanker serviks, ada kelompok sel yang mengekspresikan beberapa *heat shock protein*, antara lain Hsp70 yang selain berperan untuk melindungi gangguan fungsi protein, juga menghambat terjadinya kerusakan perangkat genetik (DNA) sehingga sel ganas tersebut tidak mengalami kerusakan ataupun apoptosis. Kanker serviks secara spesifik juga memiliki CY-19 yang berfungsi menjaga integritas serta stabilitas mekanik dari sel epitel dan berhubungan dengan resistensi apoptosis. Selain itu, pada kanker serviks juga terjadi peningkatan PIP3 dan perubahan jalur PI3K-PKB akibat dari amplifikasi gen yang mengkode PI3K dan gen PKB atau akibat mutasi dari komponen PTEN yang menghambat aktivasi PKB sehingga meningkatkan proliferasi, pertahanan sel hingga pertumbuhan tumor. Berdasarkan latar belakang pemikiran tersebut di atas maka timbulah suatu permasalahan yang dirumuskan sebagai berikut :

1.2 Rumusan masalah

1. Apakah jumlah sel yang mengalami apoptosis pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten terhadap radioterapi lebih rendah daripada yang sensitif terhadap radioterapi ?

2. Apakah ekspresi CAT pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten terhadap radioterapi lebih tinggi daripada yang sensitif terhadap radioterapi ?
3. Apakah ekspresi Hsp70 pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten terhadap radioterapi lebih tinggi daripada yang sensitif terhadap radioterapi ?
4. Apakah ekspresi CY19 pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten terhadap radioterapi lebih tinggi dari pada yang sensitif terhadap radioterapi ?
5. Apakah ekspresi PIP3 pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten terhadap radioterapi lebih tinggi daripada yang sensitif terhadap radioterapi ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mempelajari hubungan resistensi kanker serviks setelah radioterapi dengan apoptosis dan berbagai ekspresi protein yang berhubungan dengan apoptosis.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis jumlah sel yang mengalami apoptosis pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten dibandingkan yang sensitif terhadap radioterapi.
2. Menganalisis ekspresi CAT pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten dibandingkan yang sensitif terhadap radioterapi.
3. Menganalisis ekspresi Hsp70 pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten dibandingkan yang sensitif terhadap radioterapi.

4. Menganalisis ekspresi CY19 pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten dibandingkan yang sensitif terhadap radioterapi.
5. Menganalisis ekspresi PIP3 pada jaringan tumor penderita kanker serviks yang resisten dibandingkan yang sensitif terhadap radioterapi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Dengan hasil penelitian yang didapatkan penelitian ini, diharapkan dapat :

1. Sebagai informasi ilmiah tentang beberapa indikator yang bermanfaat untuk menentukan keberhasilan radioterapi pada kanker serviks
2. Sebagai dasar pengembangan ilmu lanjutan terhadap resistensi kanker serviks melalui pendekatan apoptosis, CAT, Hsp70, CY19 dan PIP3.
3. Menjelaskan perbedaan apoptosis, ekspresi CAT, Hsp70, CY19 dan PIP3 pada kanker serviks yang radioresisten dengan yang radiosensitif.
4. Mendapatkan indikator untuk mengetahui resistensi radioterapi pada kanker serviks.

1.4.2 Manfaat praktis

Dengan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, diharapkan dapat :

1. Sebagai dasar pengembangan penanggulangan kanker serviks yang resisten terhadap radioterapi.
2. Sebagai dasar pengembangan terhadap indikator yang bermanfaat untuk menentukan keberhasilan radioterapi pada kanker serviks
3. Sebagai *Triage* terhadap kasus kanker serviks yang bersifat radioresisten, sehingga dapat mengoptimalkan menentukan prioritas pemberian