

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Serviks

2.1.1 Definisi

Kanker serviks adalah tumor ganas yang tumbuh di dalam leher rahim atau serviks (bagian terendah dari rahim yang menempel pada puncak vagina. 90 % dari kanker serviks berasal dari sel skuamosa yang melapisi serviks dan 10% sisanya berasal sel kelenjar penghasil lendir pada saluran servikal yang menuju ke dalam rahim. Kanker serviks biasanya menyerang wanita berusia 35-55 tahun. Penyakit ini berawal dari infeksi virus yang merangsang perubahan perilaku sel epitel serviks.¹⁵

2.1.2 Penyebab

HPV merupakan penyebab utama dari timbulnya kanker serviks, jika infeksi yang seharusnya menghilang spontan kemudian menetap maka akan terjadi hubungan genom dari virus yang akan masuk ke dalam genom sel manusia, menyebabkan pertumbuhan sel yang normal menjadi tidak terkontrol, ekspresi onkoprotein E6 atau E7 yang bertanggung jawab terhadap perubahan maturasi dan perubahan dari epitel serviks. Tahapan terjadinya kanker serviks dimulai dengan lesi prakanker yang disebut displasia, ditandai dengan adanya abnormalitas dari sel dimana ukuran sel berbeda-beda (anisositosis), bentuk sel yang berbeda (poikilositosis), hiperkromatik sel, tampak gambaran sel yang bermitosis dengan jumlah yang tidak biasa. Displasia dikatakan ringan apabila ditemukan sedikit sel-sel yang abnormal, jika abnormal mencapai setengah ketebalan sel

disebut displasia sedang dan displasia berat didapat abnormalitas sel mencapai seluruh ketebalan sel, tetapi tidak sampai menembus membran basalis. Displasia dari ringan sampai dengan berat dapat bersifat tetap, dan sering disebut dengan *Neoplasia Intraepitelial Serviks* (NIS). Dikatakan displasia ringan, NIS berada pada derajat 1 sampai 2. Displasia berat (NIS 3) dapat berkembang menjadi karsinoma in situ dan dapat kemudian berlanjut secara lambat menjadi karsinoma invasif antara 10 sampai 15 tahun.¹⁶

2.1.3 Diagnosis

1. Anamnesis

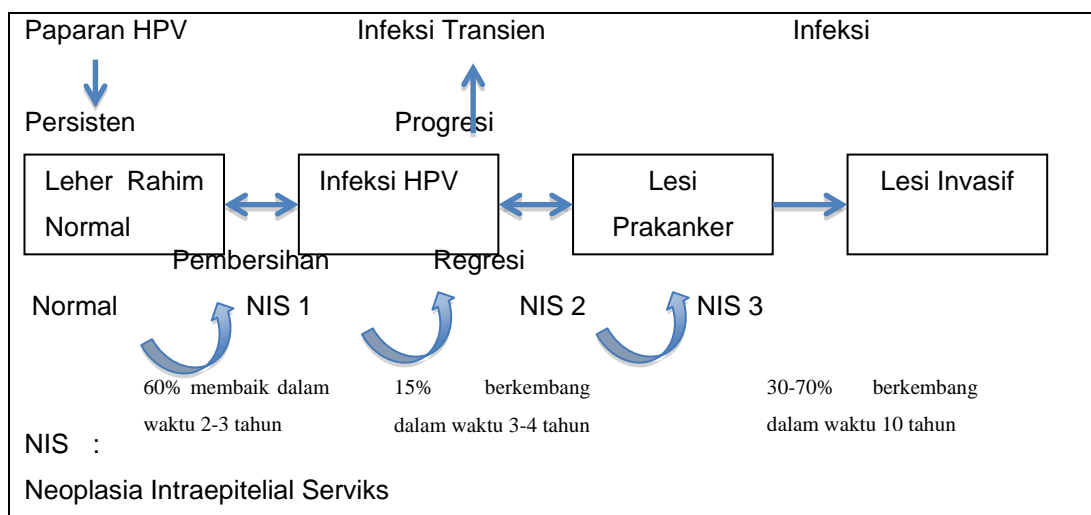
Gejala klinis dari kanker serviks sangat tidak khas pada stadium dini. Biasanya sering ditandai sebagai fluos dengan sedikit darah, perdarahan postkoital atau perdarahan pervaginam yang disangka sebagai perpanjangan waktu haid. Pada stadium lanjut baru terlihat tanda-tanda yang lebih khas untuk kanker serviks, baik berupa perdarahan yang hebat (terutama dalam bentuk eksofilik), fluor albus yang berbau dan rasa sakit yang sangat hebat.

2. Histopatologi

Diagnosis kanker serviks ditegakkan berdasarkan hasil dari pemeriksaan biopsi histopatologi dan stadium klinik dibuat berdasarkan hasil dari pemeriksaan klinis yang disesuaikan dengan klasifikasi dari *Federation International of Gynecology and Obstetric* (FIGO).¹⁷

2.1.4 Patogenesis.¹⁸

Human Papilloma Virus (HPV) merupakan penyebab utama dari sejumlah penyakit kanker, terutama kanker serviks. Jika infeksi yang seharusnya menghilang spontan, namun kemudian menetap maka akan terjadi hubungan genom dari virus yang akan masuk ke dalam genom sel manusia, menyebabkan pertumbuhan sel tidak terkontrol, ekspresi onkoprotein E6 atau E7 dari HPV yang bertanggung jawab terhadap perubahan maturasi dan perubahan dari epitel serviks.



Gambar 1. Skema paparan HPV menjadi lesi kanker.¹⁸

Pada karsinogenesis kanker serviks yang terinfeksi HPV, p53 yang paling banyak berperan sebagai supresor tumor.¹²

2.1.5 Stadium Kanker Servik

Kanker serviks timbul di *T-Zone* atau *Squamous-Collumnar Junction* (SCJ) yaitu daerah peralihan epitel skuamosa yang terdapat di ekto serviks (porsio) menjadi epitel kolumnar yang terdapat di endoserviks.

Serviks yang normal, secara alami mengalami proses metaplasia (erosion) akibat saling desak-mendesanya kedua jenis epitel yang melapisi. Dengan masuknya mutagen, porsio yang mengalami metaplasia fisiologik dapat berubah menjadi patologik (displastik-diskariotik).¹⁹

Staging karsinoma serviks merunut pada sistem klasifikasi dari FIGO (*Federation of Gyenaecologic and Obstetrics*) tahun 2000 dilihat berdasarkan lokasi tumor primer, ukuran massa tumor, dan adanya penyebaran keganasan (tabel.1) oleh Sulaini (2006) dalam Sarwono (2006). Staging ini dibuat untuk mempermudah perencanaan terapi yang efektif dan optimal bagi pasien dan memperkirakan prognosis pasien.¹⁹

Stadium kanker servik ditentukan dengan pemeriksaan klinis. Pemeriksaan tersebut meliputi inspeksi, palpasi, kolposkopi, sistoskopi, ultrasonografi, CT-scan, kolonoskopi, dan lain sebagainya. Adapun stadium kanker serviks menurut *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) dan *International Federation of Gynecology and Obstetrics* (FIGO) tahun 2008 berdasarkan pada hasil evaluasi pemeriksaan klinis dapat dilihat pada tabel 1.²⁰

Tabel 1. Stadium Kanker Menurut FIGO Tahun 2009.²⁰

Tingkat	Kriteria
I	Karsinoma hanya terbatas pada serviks
Ia	Invasi karsinoma hanya dapat dikenali secara mikroskopis dengan kedalaman invasi < 5 mm dan lebarnya < 7 mm
Ia1	Invasi ke stroma dengan kedalaman < 3 mm dan lebar < 7 mm
Ia2	Invasi ke stroma dengan kedalaman > 3 mm tapi tidak > 5 mm dan lebar tidak > 7 mm
Ib	Lesi terbatas di serviks atau secara mikroskopis lebih dari IA Besar lesi secara klinis < 4 cm
Ib1	Besar lesi secara klinis > 4 cm
Ib2	Tumor invasif di luar uterus, tapi tidak sampai dinding panggul atau 1/3 bawah vagina
II	Tanpa invasi ke parametrium
IIa	Besar lesi secara klinis < 4 cm Besar lesi secara klinis > 4 cm Dengan invasi ke parametrium
IIa1	Tumor meluas ke dinding panggul dan atau melibatkan 1/3 bawah vagina dan atau menyebabkan hidronefrosis atau tidak berfungsinya ginjal.
IIa2	
IIb	
III	
IIIa	Tumor meliputi 1/3 bawah vagina dengan tanpa perluasan ke dinding panggul.
IIIb	Tumor meluas ke dinding panggul dan atau menyebabkan hidronefrosis atau tidak berfungsinya ginjal.
IV	Tumor meluas ke luar pelvis atau secara klinis melibatkan mukosa kandung kemih dan atau rektum.
IVa	Penyebaran pada organ yang berdekatan.
IVb	Metastasis jauh

2.1.6 Terapi

Menurut FIGO 2000, terapi kanker serviks terdiri dari beberapa modalitas terapi, yaitu pembedahan, radiasi, dan kombinasi dari modalitas terapi tersebut. Pilihan terapi tergantung dari stadium klinik dari kanker tersebut.²⁰

2.1.7 Follow Up Terapi

Strategi follow up pasti untuk pengobatan kanker serviks masih belum jelas. Secara klinis dan pemeriksaan ginekologi biasanya dilakukan setiap 3 bulan setelah selesai pengobatan yang terakhir untuk dua tahun pertama, setiap 6 bulan untuk tiga tahun berikutnya, dan setiap tahun untuk follow up berikutnya.²⁰

2.2 Radiasi²¹

Terapi radiasi bertujuan untuk merusak sel tumor pada serviks serta mematikan parametrial dan nodus limpa pada pelvik. Kanker serviks stadium II B, III, IV ditatalaksanakan dengan radiasi. Metode radioterapi disesuaikan dengan tujuannya yaitu tujuan pengobatan kuratif atau paliatif. Pengobatan kuratif ialah mematikan sel kanker serta sel yang telah menjalar ke sekitarnya dan atau bermetastasis ke kelenjar getah bening panggul, dengan tetap mempertahankan sebanyak mungkin kebutuhan jaringan sehat di sekitar seperti rektum, vesika urinaria, usus halus, ureter. Radioterapi dengan dosis kuratif hanya akan diberikan pada stadium II sampai III B. Bila sel kanker sudah keluar rongga panggul, maka radioterapi hanya bersifat paliatif yang diberikan

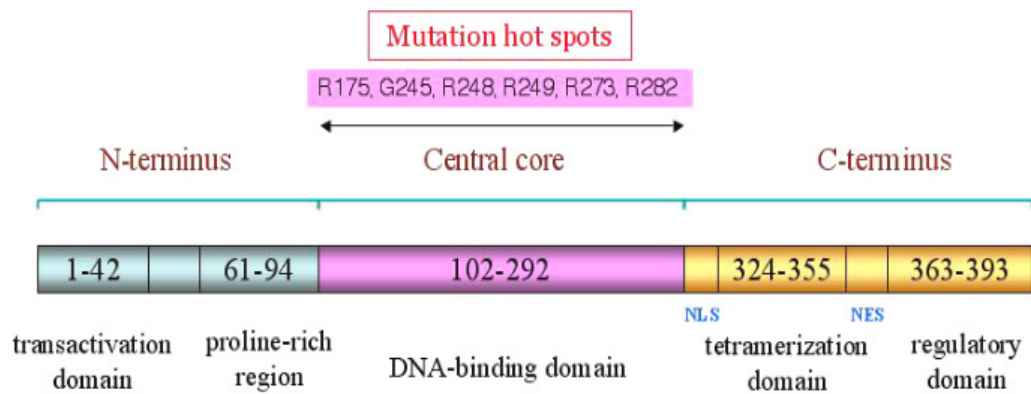
secara selektif pada stadium IV A. Radioterapi umumnya dilakukan apabila secara lokal-regional pembedahan tidak menjamin penyembuhan atau bilamana pembedahan radikal akan mengganggu struktur serta fungsi dari organ yang bersangkutan. Berhasil tidaknya radiasi yang akan diberikan tergantung dari banyak faktor antara lain sensitivitas tumor terhadap radiasi, stadium, jenis histologi, dan indeks apoptosis.²¹ Jaringan bila terkena radiasi penyinaran, akan menyerap energi radiasi dan akan menimbulkan ionisasi atom-atom. Ionisasi tersebut dapat menimbulkan perubahan kimia dan biokimia yang pada akhirnya akan menimbulkan kerusakan biologik. Kerusakan sel yang terjadi itu dapat berupa kerusakan kromosom, mutasi, perlambatan pembelahan sel dan kehilangan kemampuan untuk memproduksi.²² Ketika radiasi merusak gen dari sel kanker, maka sel tersebut tidak dapat tumbuh kembali. Ini berarti radiasi dapat digunakan untuk membunuh sel kanker dan mengecilkan ukuran tumor.²³ Secara umum, ukuran tumor yang kecil lebih mudah untuk dikendalikan dengan dosis radiasi tertentu dibandingkan dengan ukuran tumor yang lebih besar.²⁴ Penelitian yang dilakukan Duenas dkk menyatakan bahwa semakin tinggi stadium kanker serviks maka respon terapi komplis semakin berkurang. Untuk itu radioterapi merupakan bagian terpenting dalam pengobatan dari kebanyakan kanker ginekologi, khususnya kanker serviks.

2.3 Protein 53 (p53)

Protein 53 atau p53 merupakan suatu polipeptida yang diekspresikan atau dikode oleh gen p53 yang berperan dalam menjaga keutuhan sel atau integritas genom melalui proses transkripsi dan translasi. Gen p53 tersebut merupakan suatu gen penekan tumor atau supresor tumor.¹² Pada awalnya, p53 diperkirakan sebagai suatu onkogen oleh karena ditemukan dalam jumlah yang berlebihan atau overekspresi pada sel-sel yang mengalami keganasan. Penelitian terhadap p53 menunjukkan bahwa p53 dapat diisolasi dari sejumlah klon yang terbukti mampu mempertahankan sel kultur agar tetap hidup. Kemudian diketahui bahwa p53 yang terdapat dalam sel tersebut merupakan bentuk mutan dari p53.¹⁵ Penelitian berikutnya terungkap bahwa p53 mampu menghambat pertumbuhan sel yang disebabkan oleh onkogen dan dapat menghambat potensi tumorigenik sel pada binatang. Hal tersebut membuktikan bahwa p53 merupakan suatu gen supresor tumor.¹²

2.3.1 Struktur p53

p53 merupakan suatu nuklear fosfoprotein yang memiliki berat molekul sebesar 53 kilo Dalton (kDa). Protein ini dikode oleh 20 kilobasa (kb) gen yang mengandung 11 ekson dan 10 intron, terletak pada bagian lengan pendek dari kromosom 17. p53 mengandung sebanyak 393 asam amino dan terdiri dari beberapa struktur atau komponen penting yang dapat dilihat pada gambar 1.¹²



Gambar 2. Struktur p53.¹²

Bagian N-terminal mengandung daerah domain terminal amino, yaitu residu 1 sampai 42 dan daerah yang memiliki asam amino prolin yang tinggi atau *proline-rich region*, yaitu residu 61 sampai 94 dengan urutan sekuen PXXP yang berulang, di mana X adalah asam amino. Selain itu, terdapat sebuah daerah domain inti sentral atau *central core*, yaitu residu 102 sampai 292 dan daerah domain C-terminal, yaitu residu 324 sampai 393. Bagian C-terminal tersebut dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu daerah yang mengandung domain oligomerisasi atau tetramerisasi, pada residu 324 sampai 355 dan domain regulasi pada terminal karboksil, merupakan daerah dasar yang kuat pada residu 363 sampai 393.¹⁵ Daerah domain terminal asam amino digunakan untuk aktivitas transaktivasi dan interaksi dengan berbagai macam faktor transkripsi, meliputi asetil-transferase dan *Murine Double Minute 2* (MDM2). Daerah yang kaya akan prolin memainkan peranan penting dalam stabilitas dari p53 yang diregulasi oleh MDM2 tersebut, di mana p53 menjadi lebih rentan terhadap degradasi oleh MDM2 jika daerah yang kaya akan prolin tersebut dihilangkan.¹² Sehingga, MDM2 merupakan

suatu protein yang berperan khusus dalam menghancurkan protein p53. Bagian domain inti sentral dari protein p53, terutama dibentuk oleh ikatan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), di mana merupakan dominan yang dibutuhkan dalam sekuen ikatan DNA spesifik yang terdiri dari dua buah kopi rantai 5'-PuPuPuC(A/T)-(T/A)GPyPyPy-3'. Pada bagian C-terminal dari p53 juga berfungsi sebagai domain regulasi negatif yang memiliki fungsi untuk menginduksi proses kematian sel atau apoptosis dan mengatur kemampuan domain *binding DNA* inti sebagai bentuk yang laten. Apabila interaksi antar C-terminal dan domain *binding DNA* inti diputus atau dihilangkan oleh modifikasi pascatranslasi, seperti proses fosforilasi dan asetilasi, domain *DNA binding* akan menjadi teraktivasi, sehingga akan menginduksi terjadinya aktivitas transkripsi.¹⁵

Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa mayoritas mutasi terhadap p53 yang ditemukan dalam berbagai keganasan berupa *missense mutation* dan sebagian besar terletak pada domain *DNA binding* inti. Penelitian lainnya terhadap p53 yang dimasukkan ke dalam sel kanker yang sebelumnya telah kehilangan fungsi p53 secara endogen, ternyata dapat memperkecil proses pembentukan tumor atau tumorigenesis. Namun, sebaliknya adanya pemberian p53 mutan dapat memperbesar proses tumorigenesis.¹² Beberapa mekanisme inaktivasi fungsi p53 dalam berbagai keganasan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Mekanisme Inaktivasi Gen p53.¹²

Mekanisme inaktivasi gen p53	Efek inaktivasi
Mutasi perubahan asam amino pada domain DNA <i>binding</i>	Menghalangi p53 dari binding pada deret DNA spesifik dan mengaktifkan gen didekatnya
Delesi karboksil terminal domain	Menghalangi pembentukan tetramer p53
Penggandaan gen MDM2	MDM2 ekstra menstimuli degradasi p53
Delesi gen p14 ^{ARF}	Kegagalan menghambat MDM2 dan menahan degradasi p53 tetap terkendali
Mis-lokasi p53 pada sitoplasma, di luar inti	Kegagalan fungsi p53 , karena p53 berfungsi hanya dalam inti

2.3.2 Peran p53

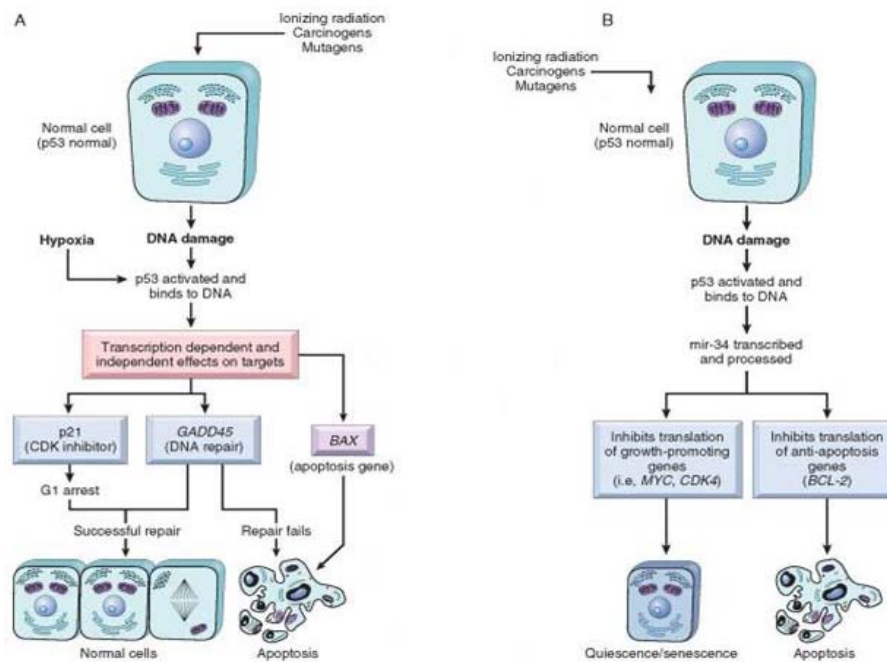
P53 merupakan suatu polipeptida yang diekspresikan atau dikode oleh gen p53 yang berperan dalam menjaga keutuhan sel atau integritas genom melalui jalur transkripsi tetramerik. p53 ini ditemukan dalam jumlah yang sangat rendah pada sel yang tidak terpapar oleh stressor. Namun, apabila terjadi suatu stressor, baik berupa hipoksia, kerusakan pada integritas seluler dan onkogen yang tidak sesuai, maka p53 tersebut akan diekspresikan dalam jumlah yang lebih tinggi untuk mengaktifkan berbagai jalur menuju ke arah modifikasi pascatranslasi protein dan stabilisasi.¹² Adanya akumulasi p53 tersebut selanjutnya akan mengaktifkan transkripsi berbagai gen yang terlibat dalam menimbulkan efek antiproliferasi atau

penghentian siklus dan aktivasi apoptosis. Sehingga p53 dianggap sebagai suatu monitor sentral terhadap stressor yang dapat mengarahkan sel untuk memberikan respon yang sesuai, baik berupa penghentian siklus ataupun apoptosis.¹⁶ P53 secara normal di dalam sel yang tidak mengalami stress memiliki waktu paruh yang sangat pendek, kurang lebih dua puluh menit. Waktu paruh yang relatif pendek tersebut disebabkan oleh karena adanya ikatan p53 dengan *Murine Double Minute 2* (MDM2).¹⁴ MDM2 merupakan suatu protein yang berperan khusus dalam menghancurkan p53. p53 mengalami modifikasi pasca-transkripsi yang membebaskan protein tersebut dari MDM2 sehingga dapat meningkatkan lama waktu paruhnya. Selama proses pembebasan dari MDM2, protein tersebut mengalami aktivasi menjadi suatu faktor transkripsi.¹² Peran p53 dalam mempertahankan integritas genom dapat dilihat pada gambar 2. Apabila terdapat suatu stressor, baik berupa hipoksia, kerusakan pada integritas seluler atau *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) dan onkogen yang tidak sesuai maka akan terjadi aktivasi p53. Namun apabila perbaikan kerusakan DNA tersebut gagal, maka p53 yang normal akan mengarahkan sel pada kematian yang terprogram atau proses apoptosis.¹⁶

2.3.2.1 Peran p53 Dalam Perbaikan Kerusakan DNA

Siklus replikasi sel dibagi menjadi empat fase, yaitu: fase gap 1 (G1), sintesis (S), gap 2 (G2), dan mitosis (M). Replikasi DNA berlangsung pada fase S dan mengalami pemisahan secara mitosis menjadi *sister chromatid* berlangsung pada fase M. Fase S dan M adalah fase yang

paling sensitif terhadap berbagai macam faktor risiko terjadinya kerusakan DNA. Oleh karena itu, apabila terdapat suatu faktor risiko tertentu, seperti pajanan radiasi, sel tetap berada pada tahap *arrest*, yaitu fase G1 atau G2. Namun, apabila perbaikan DNA tersebut telah selesai, maka pembelahan sel akan berlanjut dan memasuki fase berikutnya.¹²



Gambar 3. Peran p53 dalam Mempertahankan Integritas Genom.¹⁶

P53 merupakan salah satu gen penekan kanker atau supresor tumor yang berperan penting dalam melindungi siklus sel. Apabila terjadi kerusakan pada sel, maka p53 di dalam inti akan teraktivasi sehingga dapat mensintesis p53. Aktivasi p53 tersebut akan meningkatkan proses transkripsi pada beberapa gen target seperti gen *inhibitor kinase dependent-cycklin*, yaitu CDKN1A (P21) dan GADD45. Selanjutnya aktivasi p21 menyebabkan siklus sel terhenti atau *arrest* pada akhir fase G1. Sementara siklus sel berhenti pada fase G1, aktivasi GADD45

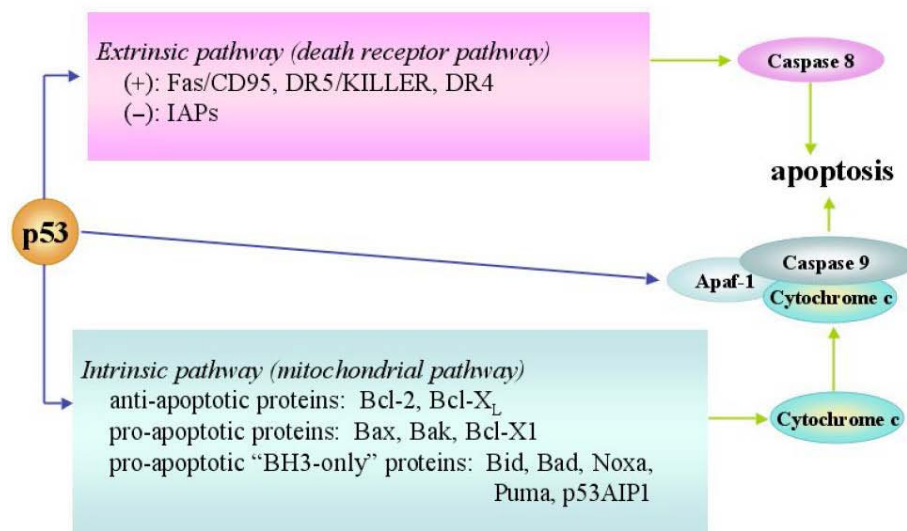
selanjutnya berperan dalam melakukan perbaikan DNA. Apabila perbaikan DNA tersebut berhasil maka p53 akan meningkatkan transkripsi MDM2, yang kemudian menekan pembentukan p53, sehingga akan menghilangkan hambatan terhadap siklus sel. Selanjutnya, sel tersebut dapat melanjutkan siklus pembelahannya.¹² Namun apabila perbaikan kerusakan DNA tersebut gagal maka p53 yang normal akan mengarahkan sel pada kematian yang terprogram atau proses apoptosis (gambar 3a). Selain itu, p53 juga dapat mengaktivasi gen represi melalui proses aktivasi terhadap mir-34 yang merupakan keluarga mikroRNAs (miRNAs). Selanjutnya, mir-34 akan menghambat proses translasi dari gen-gen pemicu pertumbuhan atau *growth promoting genes*, seperti MYC dan CDK4 sehingga mengakibatkan terhentinya proses pertumbuhan sel. Protein aktivasi mir-34 juga menghambat proses translasi dari gen anti-apoptosis sehingga dapat memicu terjadinya proses apoptosis (gambar 3b).¹⁶

2.3.2.2 Peran p53 Pada Proses Apoptosis

Apoptosis merupakan program bunuh diri intra seluler yang dilakukan dengan cara mengaktifkan protein kaspase, yang merupakan suatu sistein protease.¹⁶ Secara umum, terdapat dua jalur utama dalam proses apoptosis, yaitu: jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur intrinsik meliputi pemberian kode yang memicu proses *mitokondria-dependent* melalui pelepasan sitokrom c dan pengaktifan kaspase-9. Jalur ekstrinsik bekerja dengan cara mengaktifkan reseptor kematian atau *Death Reseptor* (DR),

seperti Fas (reseptor 1 *Tumor Necrotic Factor* (TNF)), DR4 dan DR5 (gambar 4).¹⁵ Adanya interaksi dengan ligan yang sesuai akan mengarah kepada proses transduksi sinyal yang diawali dengan peliputan molekul yang berhubungan dengan DR seperti *Fas-Associative Death Domain* (FADD), yang selanjutnya akan mengaktifkan kaspase-8. Kaspase ini kemudian mengkatalis sederet proses proteolitik yang menghasilkan perubahan biokimia dan morfologi khas yang berhubungan dengan apoptosis. Selain itu, apoptosis juga merupakan suatu proses yang aktif, di mana menginduksi gen seperti BAX dan ekspresi antigen Fas maupun represi atau penekanan simultan gen seperti BCL2.¹⁶

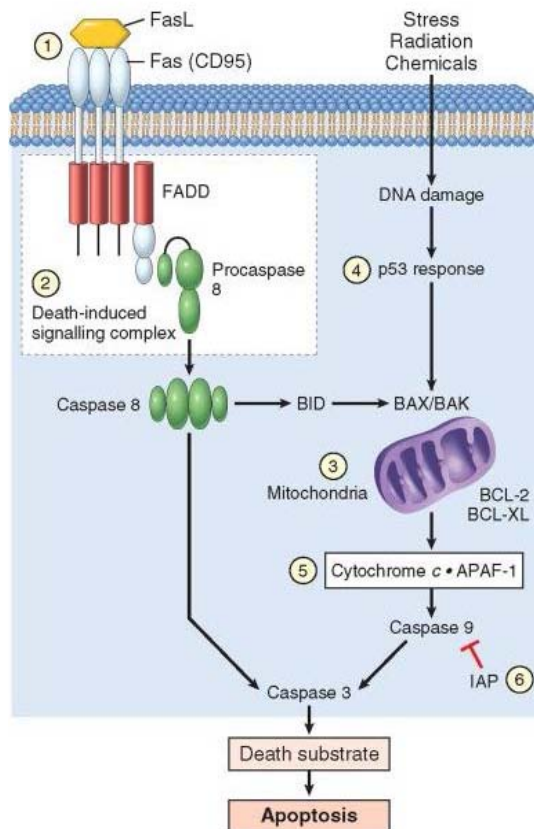
P53 memiliki peranan yang penting dalam pengaturan siklus sel dengan melakukan kontrol terhadap sejumlah gen, termasuk gen untuk apoptosis jika terdapat kerusakan seluler yang berat.¹⁶



Gambar 4. Mekanisme Intrinsik dan Ekstrinsik pada Apoptosis.¹⁵

Peran p53 dalam proses apoptosis ini, terutama melibatkan mitokondria sebagai peran utama melalui pembebasan sitokrom c. Efek proapoptosis oleh p53 diperantarai melalui peningkatan sintesis Bax.

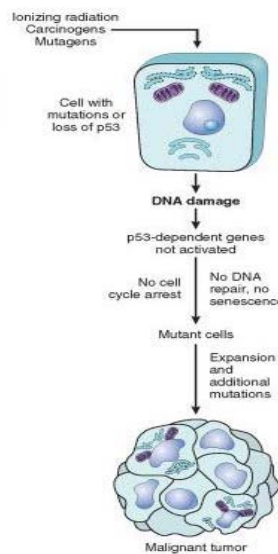
Selanjutnya protein Bax tersebut akan mendorong pelepasan sitokrom c pada mitokondria, yang akhirnya akan membentuk suatu kompleks dengan *Apoptosis Inducing Factor-1* (APAF-1), prokaspase-9 dan *Adenosine-Triphosphat* (ATP). Komplek tersebut mengakibatkan terjadinya aktivasi prokaspase-9 menjadi kaspase-9. Kemudian kaspase-9 akan memicu aktivasi dari kaspase-3. Kaspase-3 merupakan kaspase terakhir atau eksekutor yang memecah DNA dan substrat lainnya sehingga mengakibatkan terjadinya kematian sel (Gambar 5).¹⁶



Gambar 5. Peran p53 dalam Proses Apoptosis.¹⁶

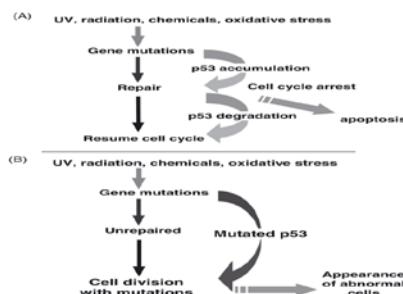
Beberapa tumor memiliki rata-rata variabilitas yang sangat luas dalam respon terhadap radiasi., walaupun dengan karakteristik klinis yang sama seperti stadium dan ukuran tumor. Hal ini mengarahkan kita untuk

tidak terjadi aktivasi p21, yang mengakibatkan siklus sel tidak berhenti pada akhir fase G1 dan tidak terjadi aktivasi GADD45, yang mengakibatkan perbaikan DNA tidak terjadi. Ditambah lagi, pada sel yang mengalami mutasi atau kehilangan gen p53, tidak adanya aktivasi pada gen apoptosis yaitu BAX mengakibatkan sel gagal mengalami apoptosis.^{12,16}



Gambar 7. Proses Karsinogenesis Akibat Kegagalan Peran p53.¹⁶

Pada akhirnya, semua hal tersebut berdampak pada terfiksasinya mutasi pada sel yang membelah, khususnya DNA sehingga sel akan masuk menuju proses menuju transformasi ganas (gambar 6)^{12,16}



Gambar 8. P53 yang mengalami mutasi menyebabkan abnormalitas

sel⁹

2.4 Derajat Apoptosis

Seperti yang telah dijelaskan di atas bahwa apoptosis merupakan suatu proses program kematian sel melalui jalur intrinsik. Kecendrungan sel kanker untuk merangsang terjadinya apoptosis mempunyai pengaruh yang penting untuk perkembangan tumor dan respon terhadap pengobatan. Beberapa laporan menyatakan bahwa derajat apoptosis yang tinggi pada keganasan sangat berhubungan dengan luaran yang buruk.²⁶

Jumlah sel apoptosis dapat diidentifikasi dan di hitung menggunakan mikroskop cahaya, hal ini sangat menarik dikarenakan jumlah apoptosis pada perkembangan sel tumor dapat diduga sebagai marker prognostik. Indeks apoptosis dengan menggunakan hematoxylin eosin diperiksa dengan pembesaran 40x dan di hitung per 5 lapangan pandang. Setiap lapangan pandang mengandung 1000 sel tumor dan dievaluasi keberadaan sel apoptosis.²⁷ Penelitian yang dilakukan Levine dkk menyatakan bahwa derajat jumlah apoptosis yang tinggi mengindikasikan luaran yang buruk pada pasien kanker serviks yang menjalani radioterapi.²⁸ Penelitian yang dilakukan oleh Joo Young Kim dkk menyatakan bahwa derajat apoptosis yang rendah dapat digunakan sebagai faktor prognostik yang signifikan untuk respon klinis yang baik.⁷

2.5 Kriteria Respon Evaluasi Pada Tumor Padat

Pasien pada tahap awal kanker serviks, pada tahap IB2 dan IIA, dengan ukuran lesi > 4 cm, memiliki prognosis yang lebih buruk, dan pilihan modalitas terapi masih tetap kontroversial.²⁹

Berdasarkan FIGO 2002, terdapat 3 alternatif modalitas terapi, kemoradiasi primer, histerektomi radikal primer dan kemoradiasi limfadenektomi panggul bilateral diikuti oleh kemoradiasi adjuvant, dan kemoterapi neoadjuvant diikuti oleh histerektomi radikal dan limfadenektomi panggul bilateral diikuti oleh radiasi adjuvant atau kemoradiasi.^{20,29,30}

Tidak semua pasien memberikan respon yang baik terhadap kemoterapi neoadjuvant, menyebabkan kebutuhan dari prediksi yang baik untuk memprediksi respon terapi sebelum memilih jenis terapi primer.²⁹

Evaluasi hasil kemoterapi harus dilakukan untuk memutuskan apakah kemoterapi dapat atau tidak dapat diteruskan. Jika dapat diteruskan apakah panduan obat yang digunakan sama atau perlu diganti dengan panduan obat yang lain. Aktivitas obat anti kanker dievaluasi dengan mengukur perubahan pada ukuran tumor terhadap respon pengobatan. Ukuran tumor secara tradisional telah diperkirakan dari pengukuran bidimensional (produk dari diameter terpanjang dan diameter tegak lurus terpanjang untuk setiap tumor).^{31,32}

Evaluasi yang komprehensif meliputi aspek-aspek.²⁹

1. Evaluasi respons objektif dan subjektif
2. Evaluasi toksisiti

3. Angka tahan hidup (*survival*) dan masa tengah tahan hidup

Evaluasi Respons Objektif³¹

a. Lama respon (*Duration of Response*),

Yang dimaksud ialah periode antara terjadi respon komplit sampai timbul penyakit progresif. Pada penderita yang hanya menunjukkan respon parsial, yang dicatat hanya perioderespon keseluruhan. Periode respon keseluruhan berlangsung dari hari pertama pengobatan sampai hari observasi pertama timbul penyakit progresif.

Evaluasi Respons Subjektif³¹

a. Keluhan/gejala : Dinilai apakah berkurang, menetap atau bertambah.

b. Tampilan (*Performance Status = PS*), Setelah pemberian kemoterapi pada umumnya terjadi penurunan nilai tampilan, tetapi nilai tersebut harus kembali ke nilai sebelum pemberian obat. Bila tampilan berkurang sampai skala Karnofsky 50 atau skala WHO 3, maka pemberian obat berikutnya harus ditunda. Dianjurkan menggunakan ukuran tampilan menurut skala Karnofsky atau WHO atau ECOG.

c. Berat badan, dinilai apakah berkurang, menetap, atau bertambah.

Pada awal 1980-an, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mengembangkan rekomendasi dalam upaya untuk membakukan kriteria penilaian respon, dan kriteria respon WHO diadopsi sebagai metode standar untuk mengevaluasi respon tumor.³²

Pemanfaatan kriteria WHO untuk menilai respon objektif pada dasarnya sudah memadai tetapi harus dilakukan dengan benar dan tercatat. Penilaian baru yang digunakan untuk melihat respon terapi adalah dengan menggunakan kriteria *Response Evaluate Criteria In Solid Tumors* (RECIST). Perlunya penilaian atau kriteria baru karena mulai timbul masalah dan didapatkan beberapa kekurangan penilaian lama ketika digunakan pada beberapa uji klinis.

Masalah itu antara lain:³¹

- Ukuran minimal dan jumlah lesi kadang sangat bervariasi.
- Definisi penyakit progresif (PD) berdasarkan bertambah ukuran satu lesi, sedangkan yang lain berdasarkan bertambahnya kumulatif ukuran dari sejumlah lesi.
- Berkembangnya tehnik CT dan MRI yang dapat menilai ukuran tumor dalam 3 dimensi.

Pada tahun 1998, kriteria baru respon evaluasi pada tumor padat (RECIST) diusulkan oleh kelompok kerja RECIST untuk meminimalkan risiko kesalahan pengukuran dan mencegah tingkat respons terlalu tinggi. Beberapa kelompok peneliti tertarik dalam menentukan apakah pendekatan hanya berdasarkan pada pengukuran dalam satu dimensi secara teoritis valid dan layak secara praktek.³²

Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) digunakan untuk mengukur efek kemoterapi pada pasien dan sekarang digunakan pada seluruh uji klinis. Dokumentasi dasar dari lesi “target” dan “nontarget” sebelum penatalaksanaan pada uji klinis masih mendasar.

Seluruh lesi yang terukur hingga maksimum 5 lesi per organ dan total 10 lesi, representasi seluruh organ yang terlibat, harus diidentifikasi sebagai lesi target dan dicatat dan diukur pada garis dasarnya. Lesi target harus dipilih berdasarkan ukurannya (lesi dengan diameter terpanjang) dan kesesuaiannya untuk pengukuran ulang yang akurat (baik secara klinis atau dengan teknik pencitraan).^{33,34}

Jumlah diameter terpanjang (*longest diameter-LD*) pada seluruh lesi target dihitung dan dilaporkan sebagai jumlah dasar LD. Jumlah dasar LD digunakan sebagai referensi untuk mengkarakteristikan respon tumor objektif. Seluruh lesi lain (atau tempat penyakit) diidentifikasi sebagai lesi non target. Dan juga dicatat sebagai garis dasar. Pengukuran lesi ini tidak diperlukan, tetapi keberadaan atau ketiadaan masing-masing harus dicatat selama tindak lanjut (follow-up).³³

Tabel 3. Definisi respon terbaik menurut WHO atau kriteria RECIST³³

Respon terbaik	WHO perubahan pada jumlah produk	RECIST perubahan dari jumlah diameter terpanjang
<i>Complete Response</i> (CR)	Hilangnya semua target lesi tanpa lesi sisa; dikonfirmasi pada minggu ke 4	Hilangnya semua target lesi; dikonfirmasi pada minggu ke 4
<i>Partial Response</i> (PR)	Penurunan 50% atau lebih pada target lesi, tanpa peningkatan 25% pada salah satu target lesi, dikonfirmasi pada minggu ke 4	Paling tidak pengurangan 30% pada jumlah diameter terpanjang target lesi, diambil sebagai referensi dasar penelitian, dikonfirmasi pada minggu ke 4
Penyakit Stabil (SD)	Baik kriteria PR atau PD	Baik criteria PR atau PD

<p>Progresif Penyakit (PD)</p>	<p>terpenuhi</p> <p>Peningkatan 25% atau lebih ukuran lesi terukur atau munculnya lesi baru</p>	<p>terpenuhi, diambil sebagai acuan jumlah terkecil diameter terpanjang yang tercatat sejak pengobatan dimulai</p> <p>Setidaknya terjadi peningkatan 20% jumlah diameter terpanjang target lesi, diambil sebagai acuan jumlah terkecil diameter terpanjang yang tercatat sejak pengobatan dimulai atau timbulnya lesi baru</p>
--------------------------------	---	--

Definisi lesi (tumor) sebagai *baseline* pada RECIST dikelompokkan pada lesi yang *measurable*, *nonmeasurable* dan *truly nonmeasurable*.³³

- Lesi *measurable* jika diameter lesi secara akurat dapat diukur setidaknya pada satu dimensi ≥ 20 mm pada tehnik yang CT konvensional atau ≥ 10 mm pada spiral CT scan.
- Lesi *nonmeasurable* jika diameter lesi < 20 mm pada tehnik konvensional atau < 10 mm pada spiral CT scan.
- Lesi *truly nonmeasurable* antara lain metastasis di tulang, efusi pleura, efusi perikard, asites, dll.

Pembagian atau kriteria respon pada RECIST digunakan sebagai evaluasi pada:³³

- Evaluasi lesi-lesi target, definisi criteria RECIST mirip dengan kriteria WHO untuk lesi *measurable* yaitu terdiri atas CR jika semua lesi target hilang. PR jika total diameter lesi-lesi target

mengecil $\geq 30\%$, SD jika tidak masuk criteria PR/PD dan PD jika total diameter lesi-lesi target membesar $\geq 20\%$.

- Evaluasi lesi-lesi nontarget, definisi criteria RECIST untuk lesi-lesi nontarget adalah CR jika semua lesi-lesi nontarget hilang dan level tumor marker normal. *Incomplete response* (IR)/SD jika satu atau lebih lesi-lesi nontarget menetap dan atau level tumor marker masih diatas nilai normal. PD jika tampak lesi baru total diameter lesi-lesi target membesar $\geq 20\%$.
- Evaluasi respons keseluruhan (*best overall response*), merupakan gabungan evaluasi lesi-lesi target dan non target dan ada atau tidaknya lesi baru. Pembagian kriteria sama dengan kriteria WHO yaitu CR, PR, IR/SD atau PR (tabel 3).³³

2.6 Pemeriksaan Imunohistokimia p53

Pemeriksaan p53 dapat dilakukan dengan beberapa cara. Yaitu dengan studi *enzyme radioimmunoassay* dan imunohistokimia. Tetapi pemeriksaan imunohistokimia merupakan metode yang paling aplikatif sekarang ini.^{35,36}

Immunohistochemistry (IHC) atau yang disebut imunohistokimia adalah sebuah metode yang digunakan untuk menentukan ekspresi biomarker jaringan dimana menggunakan antibodi untuk mengetes antigen spesifik (penanda) pada sampel jaringan. Antibodi yang digunakan biasanya terhubung dengan sebuah enzim atau pewarna berfluoresens sehingga ketika antibodi berikatan dengan antigen spesifik

pada sampel jaringan, enzim atau zat warna akan aktif, dan antigen dapat dilihat dibawa mikroskop. Imunohistokimia biasanya digunakan untuk membantu mendiagnosa penyakit, seperti kanker dan beberapa penyakit tertentu, dan dapat juga membantu membedakan tipe kanker yang berbeda.³⁵

Terdapat beberapa sistem penilaian yang berbeda yang dapat digunakan. Beberapa berbasis pada evaluasi kualitas (intensitas) imunoreaksi, sedangkan yang lain, mengkombinasi antara pemeriksaan skor intensitas dengan kuantitas (fraksi) sel yang diwarnai sehingga menghasilkan sistem skoring semikuantitatif. Sistem-sistem tersebut sangat subjektif dikarenakan tergantung kepada pemeriksa. Metode analisa dengan komputer dapat dilakukan karena dapat mengurangi variasi pengukuran sehingga hasil lebih baik.³⁷

Terdapat beberapa metode penilaian IHC secara manual adalah dengan menggunakan sistem skoring, yaitu:

1. *H score*, merupakan sistem skoring dimana digunakan untuk menilai presentase sel tumor yang terwarnai. Terdapat beberapa tingkatan, yaitu tidak ada pewarnaan (0), lemah (+1), sedang (+2), atau kuat (+3). Metode ini menjumlahkan persentase sel tumor yang terwarnai. Perhitungannya adalah sebagai berikut: $(3 \times \text{persentase nukleus yang terwarnai kuat}) + (2 \times \text{persentase nukleus yang terwarnai sedang}) + \text{persentase nukleus yang terwarnai lemah}$. Nilai skoringnya dari 0 sampai 300. Jika hasilnya < 50

artinya negatif, 51 sampai 100 artinya positif lemah, 101 sampai 200 artinya positif sedang, dan > 200 artinya positif kuat.^{37,38,39}

2. *Intensity score* dan *Proportion Score*, merupakan sistem skoring dengan menilai intensitas sel yang terwarnai secara keseluruhan (*intensity score/IS*) dan persentase sel tumor yang terwarnai (*proportion score/PS*).⁴⁰

Tabel 4. Sistem Skoring *Intensity Score* dan *Proportion Score*⁴⁰

<i>Intensity Score</i>	<i>Proportion Score</i>
0 : tidak ada pewarnaan	0 : tidak ada pewarnaan
1 : pewarnaan lemah	1 : terwarnai <1%
2 : pewarnaan sedang	2 : terwarnai 1 sampai 10%
3 : pewarnaan kuat	3: terwarnai 11 sampai 33%
	4 : terwarnai 34 sampai 66%
	5 : terwarnai 67 sampai 100%

3. *Allred score*, merupakan sistem skoring berdasarkan 2 karakteristik, yaitu intensitas sel yang terwarnai secara keseluruhan (*intensity score/IS*) dan persentase sel tumor yang terwarnai (*proportion score/PS*). Pada sistem *Allred score* dilakukan penjumlahan IS dan

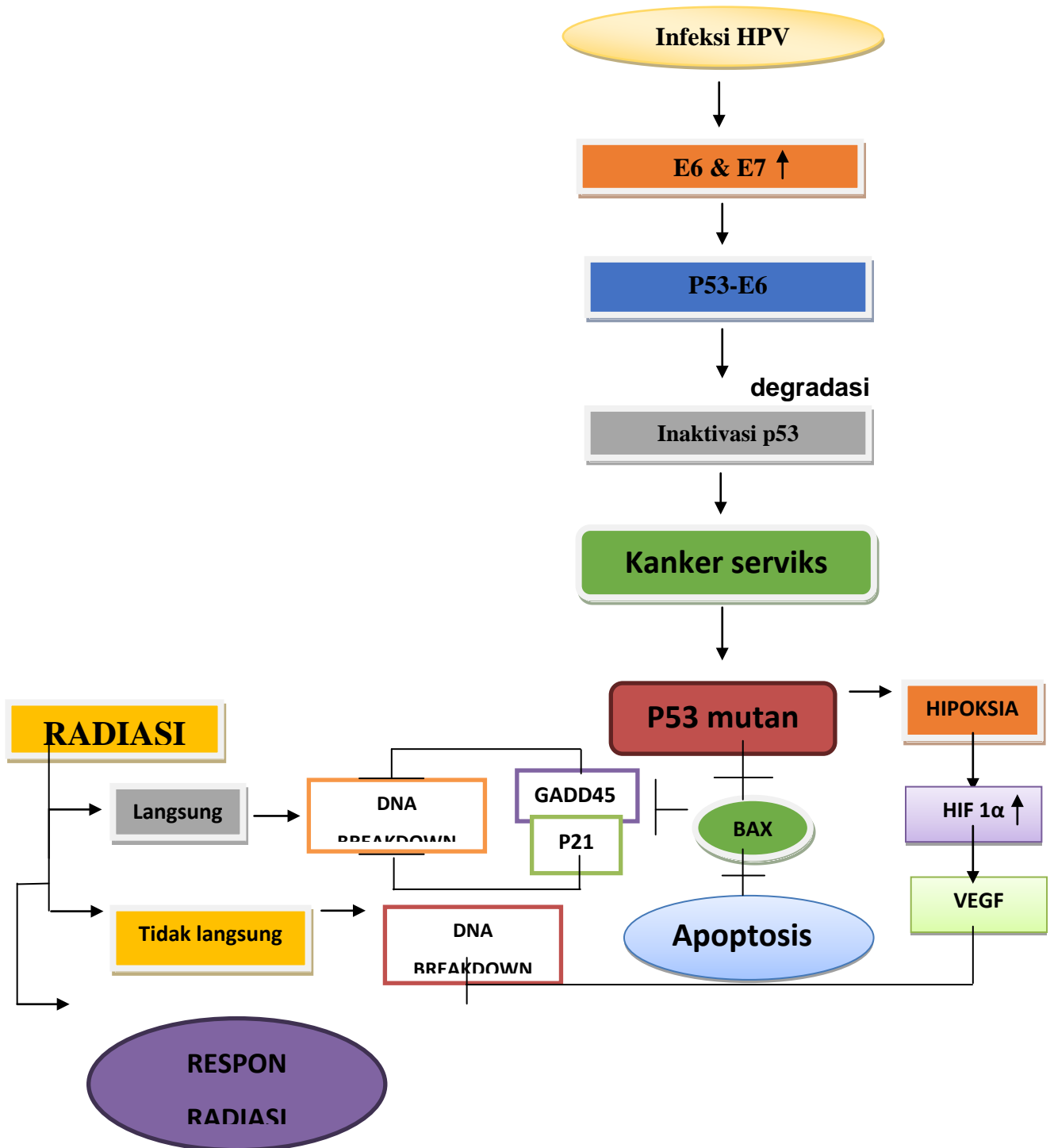
PS. Nilai skoringnya adalah 0 sampai 8. Jika hasilnya 0 sampai 2 artinya negatif dan 3 sampai 8 artinya positif.^{39,40}

4. *Immunoreactive Score (IRS)/Remmele Score*, merupakan sistem skoring dengan perkalian dari *intensity score (IS)* dan *proportion score (PS)*. Nilai skoringnya adalah 0 sampai 12. Jika hasilnya 0 sampai 1 artinya negatif, 2 sampai 3 artinya positif lemah, 4 sampai 8 artinya positif sedang, dan 9 sampai 12 artinya positif kuat.^{41,42,43}

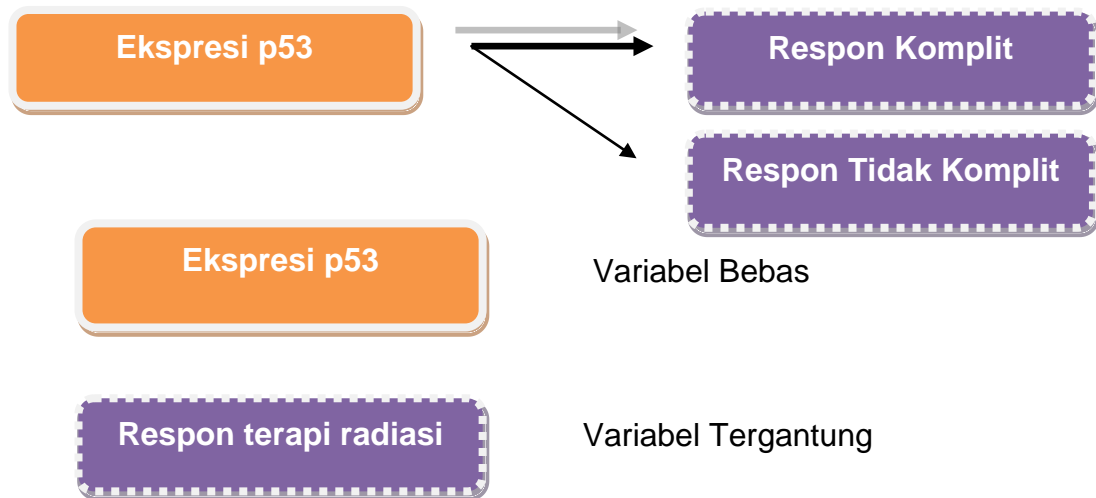
Tabel 5. Sistem IRS/Remmele Score⁴¹

<i>Proportion Score</i>	<i>Intensity Score</i>	<i>Score</i>
0 : tidak ada pewarnaan	0: tidak ada pewarnaan	PS x IS (0-12 poin)
1 : terwarnai <10%	1 : pewarnaan lemah	
2 : terwarnai 10-50%	2 : pewarnaan sedang	
3 : terwarnai 51-80%	3 : pewarnaan kuat	
4 : terwarnai > 80%		

2.7 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Konsep



2.9 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat perbedaan antara ekspresi p53 terhadap respon terapi radiasi pada kanker serviks .