

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Kanker Ovarium

a. Epidemiologi

Kanker ovarium merupakan jenis keganasan ginekologi yang paling mematikan (Kim *et al.*, 2012). Kanker ovarium merupakan kanker tersering nomer tujuh di dunia dengan 240.000 kasus baru setiap tahunnya (Coburn *et al.*, 2017; Webb dan Jordan, 2016). Penelitian Globocan pada tahun 2012 memperkirakan terdapat 239.000 kasus kanker ovarium baru di seluruh dunia, dengan jumlah kematian akibat kanker ovarium mencapai 152.000 kematian (World Ovarian Cancer Coalition, 2018). Dibandingkan dengan Timur Tengah dan kebanyakan negara-negara Asia, prevalensi kanker ovarium ditemukan lebih tinggi di Amerika Serikat dan Eropa, dengan kasus terbanyak ditemukan di negara-negara Eropa Timur dan Eropa Tengah (Jessmon *et al.*, 2017; Reid *et al.*, 2017). Kanker ovarium dapat terjadi pada wanita dari seluruh kelompok usia, tapi paling banyak ditemukan pada wanita dari kelompok usia 55 sampai 64 tahun (Doubeni *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, kanker ovarium merupakan salah satu jenis kanker terbanyak di Indonesia, bersama dengan kanker serviks dan kanker payudara. Kanker ovarium di Indonesia paling banyak ditemukan pada wanita dewasa, dengan status menikah, hidup di perkotaan, dan memiliki status pendidikan rendah (Dewi, 2017). Berdasarkan laporan Badan Registrasi Kanker tahun 2013, kanker ovarium merupakan jenis kanker pada wanita dengan jumlah penderita nomor 3 terbanyak di Indonesia, dengan 1.351 kasus baru (Yayasan Kanker Indonesia, 2013). Di Surakarta, kanker ovarium

commit to user

merupakan jenis kanker pada wanita dengan jumlah penderita nomor 3 terbanyak, dengan 115 kasus baru yang seluruhnya merupakan tumor primer (Mudigdo, 2013).

Di negara maju, lebih dari 90% kasus kanker ovarium berjenis kanker epitel, 5-6% berjenis tumor *sex cord stromal* (tumor sel granulosa, thecoma, dsb), dan 2-3% berjenis tumor sel germinal (teratoma, disgerminoma, dsb) (Reid *et al.*, 2017). Pada wanita berusia di bawah 40 tahun, jenis kanker ovarium yang paling banyak ditemukan adalah tumor sel germinal, sedangkan 90% kasus kanker ovarium pada wanita berusia di atas 40 tahun berjenis kanker epitel (Webb dan Jordan, 2016).

Genetika merupakan faktor risiko kanker ovarium (Doubeni *et al.*, 2016). Risiko seorang wanita menderita kanker ovarium menjadi tiga kali lipat apabila anggota keluarga intinya diketahui mengidap kanker ovarium, dan risiko ini menjadi lebih tinggi apabila anggota keluarga tersebut terdiagnosis sebelum usia 50 tahun (Webb dan Jordan, 2016). Mutasi gen *BRCA* (*Breast cancer gene*) merupakan salah satu faktor risiko genetik yang paling banyak ditemukan dan menjadi dasar patologis pada 10% kasus kanker ovarium, sehingga risiko kanker ovarium juga meningkat apabila didapatkan anggota keluarga yang mengidap kanker payudara (Doubeni *et al.*, 2016). Selain faktor risiko genetik, kejadian kanker ovarium juga dapat dipengaruhi oleh faktor risiko non genetik, antara lain usia menarche yang terlalu muda; menopause yang terlambat, nullipara, infertilitas, belum pernah menyusui, riwayat penyakit ginekologi lain seperti *polycystic ovarian syndrome* (PCOS), endometriosis, dan *pelvic inflammatory disease* (PID), obesitas, diet dan nutrisi yang tidak seimbang, antara lain asupan nitrat dan lemak jenuh yang terlalu tinggi serta asupan vitamin D yang kurang, kurangnya olahraga dan aktivitas fisik, merokok, konsumsi alkohol, dan riwayat paparan asbes (Reid *et al.*, 2017).

Risiko seorang wanita mengalami kanker ovarium adalah 1:75 dan risiko kematian seorang wanita akibat kanker ovarium adalah 1:100 (Reid *et al.*, 2017). Selama dua dekade terakhir, angka mortalitas akibat kanker ovarium di negara-negara berpenghasilan tinggi cenderung menurun, tetapi pola mortalitas tersebut bervariasi secara demografis (Malvezzi *et al.*, 2016). Diagnosis dini pada stadium awal tumor merupakan faktor prognostik yang sangat penting (Doubeni *et al.*, 2016). Kebanyakan kasus kanker ovarium terdiagnosis pada stadium lanjut dan hanya sekitar 15% kasus terdiagnosis pada stadium I (Reid *et al.*, 2017). Hanya sekitar 45% wanita pengidap kanker ovarium mampu bertahan hidup selama 5 tahun setelah terdiagnosis (Doubeni *et al.*, 2016). Angka *survival* selama 5 tahun pada kasus kanker ovarium secara keseluruhan berkisar antara 30-40% (Reid *et al.*, 2017).

b. Klasifikasi

Hampir seluruh jenis tumor ovarium baik jinak maupun ganas berasal dari tiga tipe sel: sel epitel, sel stroma, dan sel germinal (Reid *et al.*, 2017).

i. Kanker ovarium jenis epitel

Kurman *et al* (2010) mengkategorikan kanker ovarium jenis epitel menjadi dua kelompok, yaitu kanker ovarium jenis epitel tipe I dan tipe II. Kanker ovarium jenis epitel tipe I lebih jinak dan biasanya bermanifestasi pada stadium awal, sedangkan kanker ovarium jenis epitel tipe II lebih agresif dan hampir selalu muncul pada stadium lanjut (Kim *et al.*, 2012). Karakteristik kanker ovarium jenis epitel dapat dilihat di Tabel 2.1.

Pada stadium awal penyakit, *grading* tumor merupakan salah satu faktor prognostik untuk menentukan pilihan terapi. Secara umum, kanker ovarium jenis epitel dibagi menjadi tiga *grade*, yaitu *grade* 1

(berdiferensiasi baik), *grade 2* (berdiferensiasi sedang), dan *grade 3* (berdiferensiasi buruk) (Hoffman *et al.*, 2016).

ii. Tumor *sex cord stromal*

Tumor *sex cord stromal* (SCST) merupakan suatu kelompok keganasan yang berasal dari matriks ovarium, sehingga 90% kasus SCST merupakan tumor yang mampu memproduksi hormon (Hoffman *et al.*, 2016). World Health Organization (WHO) mengklasifikasikan SCST menjadi beberapa kategori (Tabel 2.2).

iii. Tumor sel germinal

Tumor sel germinal terdiri atas berbagai jenis tumor yang berasal dari sel-sel germinal primordial. Terdapat dua kategori utama tumor sel germinal, yaitu disgerminoma dan teratoma. Selain itu didapatkan jenis tumor *yolk sac*, karsinoma embrional, koriokarsinoma non gestasional, serta tumor sel germinal campuran (Hoffman *et al.*, 2016).

Tabel 2.1. Karakteristik kanker ovarium jenis epitel (Kim *et al.*, 2012, dengan modifikasi)

	Tipe I	Tipe II
Ciri klinis	Indolen	Agresif
Ciri histologis	<i>Low-grade serous</i> <i>Low-grade endometrioid</i> <i>Clear cell</i> <i>Mucinous</i>	<i>High-grade serous</i> <i>High-grade endometrioid</i> <i>Carcinosarcoma</i> <i>Undifferentiated</i>

Tabel 2.2. Klasifikasi tumor *sex cord stromal* oleh WHO (Hoffman *et al.*, 2016)

Tumor stroma	Tumor <i>sex cord</i>	Tumor campuran <i>sex cord-stroma</i>
Fibroma/fibrosarkoma	Tumor sel granulosa	Tumor sel Sertoli-Leydig
Thecoma	Tumor sel sertoli	Tumor <i>sex cord-stromal</i> ,
<i>Sclerosing stromal tumor</i>	Tumor <i>sex cord</i> dengan	tidak terspesifikasi
Tumor sel Leydig	tubulus annular	
Tumor sel steroid		

c. Patofisiologi

i. Perubahan genetik pada kanker ovarium

Kanker terjadi akibat akumulasi mutasi pada berbagai kategori gen, termasuk onkogen, gen supresor tumor, gen *repair* DNA, dan telomerase (Christie dan Oehler, 2006). Berbagai jalur sinyal intraseluler berperan dalam kejadian kanker ovarium dan berbagai jenis polimorfisme, termasuk amplifikasi, mutasi, hipermetilasi, dan delesi berbagai kategori gen telah ditemukan pada kasus kanker ovarium (Tabel 2.3) (Longuespee *et al.*, 2012).

Terdapat perbedaan jenis gen mutan pada masing-masing jenis kanker ovarium. Kanker ovarium tipe I biasanya disebabkan oleh mutasi somatik, seperti mutasi *Rat sarcoma* (RAS), *Phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 1* (PIK3CA), *Phosphatase and tensin homolog* (PTEN), *Erb-b2 receptor tyrosine kinase 2* (ERBB2), *Catenin beta 1* (CTNNB1), *B-rapidly accelerated fibro sarcoma* (BRAF), *AT-rich interaction domain 1A* (ARID1A), *Protein phosphatase regulatory subunit A, alpha* (PPP2R1A), dan *B-cell lymphoma 2* (BCL2); sedangkan kanker ovarium tipe II disebabkan oleh mutasi gen *Tumor protein p53* (TP53), *Breast cancer gene 1* (BRCA1) atau *Breast cancer gene 2* (BRCA2) (Wu *et al.*, 2013; De Marco *et al.*, 2013; Nezhat *et al.*, 2015). Mutasi p53 sangat jarang ditemukan pada kanker ovarium tipe I, tetapi dapat terjadi pada progresi kanker menjadi kanker ovarium tipe II (Smolle E. *et al.*, 2013).

Pada kebanyakan jenis kanker ovarium, sel kanker berproliferasi ke arah dalam ovarium dan pada saat dinding kista mengalami ruptur, sel kanker kemudian menyebar ke dalam rongga peritoneum. Sel kanker dapat tumbuh ke arah luar dalam bentuk papilar sehingga secara langsung terpapar dengan rongga peritoneum. Hal ini menyebabkan

kanker ovarium dapat bermetastasis ke berbagai organ intraperitoneal (Furuya, 2012).

Tabel 2.3. Polimorfisme genetik kanker ovarium (Longuespee *et al.*, 2012, dengan modifikasi)

Modulasi gen	Amplifikasi	Mutasi	Hipermetilasi	Delesi
Aktivasi	RAB25, PRKCL, EVI1 dan PIK3CA, FGF1, MYC, PIK3R1 dan AKT2, AURKA	KRAS, BRAF, CTNNB1, CDKN2A, APC, PIK3CA, KIT, SMAD4	IGF2, SAT2	
Delesi		BRCA1, BRCA2, PTEN, TP53	MUC2, PEG3, MLH1, ICAM1, PLAGL1, ARH1	BRCA1, BRCA2, PTEN, TP53, PLAGL1, ARH1

ii. Jalur PI3K/Akt/Mtor

Jalur PI3K/Akt/mTOR merupakan regulator utama fisiologi sel normal. Fungsi utama jalur ini adalah untuk mengatur metabolisme, pertumbuhan, proliferasi, dan motilitas sel, angiogenesis, kemoresistensi, serta instabilitas genomik (Musa dan Schneider, 2015; Mabuchi *et al.*, 2015). *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) dapat diaktivasi melalui berbagai mekanisme, antara lain amplifikasi subunit 110 PI3K (PIK3CA) yang ditemukan pada 30% kasus, mutasi subunit p85 (PIK3R), mutasi salah satu isoform Akt, atau hilangnya PTEN yang ditemukan pada 40% kasus (Leary *et al.*, 2013; Glaysher *et al.*, 2013). *Phosphatase and tensin homolog* (PTEN) merupakan protein/lipid fosfatase yang mendefosforilasi produk PI3K. PTEN dapat mensupresi pertumbuhan sel kanker ovarium dan mempertahankan sel pada siklus G1 (Cai *et al.*, 2014).

Setelah teraktivasi, PI3K mengubah PIP2 menjadi bentuk *second messenger* aktif PIP3, sehingga memicu rekrutmen Akt ke membran plasma (Dobbin dan Landen, 2013; Gasparri *et al.*, 2017). Akt dapat menstimulasi sintesis protein dan pertumbuhan sel dengan cara mengaktivasi mTOR, serta meningkatkan proliferasi sel dengan cara menginaktivasi inhibitor siklus sel (Dobbin dan Landen, 2013). Apabila teraktivasi, mTOR memfosforilasi S6K-1 dan 4EBP-1. Aktivasi S6K-1 menyebabkan transisi fase G1 menjadi fase S pada siklus sel, sedangkan fosforilasi 4EBP-1 menyebabkan progresi siklus sel dan angiogenesis melalui aktivasi VEGF (Mabuchi *et al.*, 2015).

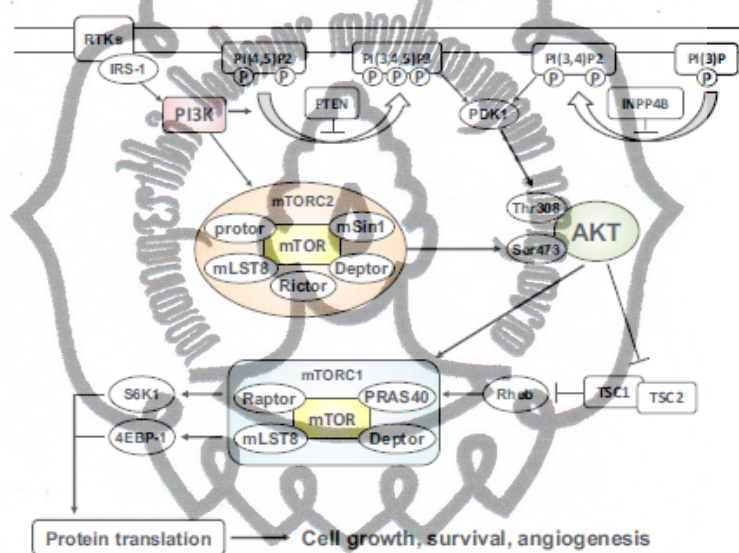
iii. Efek tumorigenesis jalur PI3K/Akt/mTOR

Analisis genomik yang ekstensif telah dilakukan untuk mengidentifikasi perubahan genetik yang paling banyak ditemukan pada kasus kanker ovarium (Gasparri *et al.*, 2017). Selain jalur sinyal p53, kaskade PI3K/Akt/mTOR mungkin merupakan jalur sinyal yang paling sering mengalami mutasi pada kanker ovarium (Leary *et al.*, 2013). Gangguan jalur ini ditemukan pada sekitar 70% kasus kanker ovarium (Gasparri *et al.*, 2017).

Aktivasi jalur PI3K/Akt/mTOR ditemukan memiliki efek tumorigenesis (Liu *et al.*, 2016). Berbagai jenis mutasi pada jalur PI3K/Akt/mTOR ditemukan pada kasus kanker ovarium dan dapat dilihat pada tabel 2.4. Aktivasi jalur PI3K/Akt/mTOR yang berlebihan menyebabkan terjadinya pertumbuhan dan proliferasi sel secara tidak terkendali. Selain itu, hiperaktivasi mTOR diduga menyebabkan translasi protein tertentu yang berperan dalam *survival* sel, angiogenesis, dan respons perbaikan DNA (Musa dan Schneider, 2015).

Selain mutasi intrinsik, jalur PI3K/Akt/mTOR juga dipengaruhi oleh berbagai masukan eksternal. Berkurangnya ekspresi AMPK dan

sMEK1, serta meningkatnya aktivitas aksis EGFR-Akt dan FASN menyebabkan hilangnya kendali atas proliferasi sel normal (Musa dan Schneider, 2015). Inhibisi jalur PI3K/Akt/mTOR pada model mencit ditemukan dapat memperlambat pertumbuhan tumor dan meningkatkan angka harapan hidup pasien, menunjukkan pentingnya jalur ini dalam proses onkogenesis dan onkoprogresi kanker ovarium (Gasparri *et al.*, 2017).



Gambar 2.1. Skema jalur PI3K/Akt/mTOR (Mabuchi *et al.*, 2015)

Tabel 2 4. Perubahan genetik jalur PI3K/Akt/mTOR pada kanker ovarium (Mabuchi *et al.*, 2015)

Gen	Perubahan genetik	Tipe kanker	Insidensi (%)
PTEN	Mutasi	Kanker ovarium	9,8
INPP4B	Hilangnya heterozigositas	Kanker ovarium	39,8
PIK3CA	Mutasi	Kanker ovarium	12
	Mutasi	Kanker ovarium tipe clear cell	46
PIK3R1	Mutasi	Kanker ovarium	3,8
Akt1	Mutasi	Kanker ovarium	2
Akt2	Amplifikasi	Kanker ovarium	13,3
mTOR	Mutasi	Kanker ovarium	1,9

d. Diagnosis

i. Anamnesis

Gejala yang dialami pasien biasanya berupa distensi abdomen, rasa penuh pada perut, hilangnya nafsu makan dan/atau mudah kenyang, nyeri pelvis atau abdomen, serta peningkatan urgensi dan/atau frekuensi berkemih (Fotopoulou *et al.*, 2017). Gejala nyeri atau distensi abdomen biasanya terjadi selama 3-4 bulan dan sering disalahartikan sebagai *irritable bowel syndrome* (Jayson *et al.*, 2014). Gejala lain yang mungkin muncul adalah perdarahan post menopause, penurunan berat badan yang tidak dapat dikelaskan, serta perubahan pola BAB (Fotopoulou *et al.*, 2017).

ii. Pemeriksaan fisik

Pasien yang mengalami gejala khas kanker ovarium harus menjalani pemeriksaan fisik lengkap, termasuk pemeriksaan rektovaginal untuk mengevaluasi massa abdomen, serta pemeriksaan untuk menyingkirkan kemungkinan adanya disfungsi endokrin, sindroma paraneoplastik dan metastasis (Doubeni *et al.*, 2016).

iii. Pemeriksaan penunjang

a) Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan hitung darah lengkap dan kimia darah sebaiknya dilakukan pada pasien suspek kanker ovarium (Doubeni *et al.*, 2016). *The UK National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE) merekomendasikan untuk melakukan pemeriksaan ekspresi CA-125 pada seluruh pasien perempuan, terutama berusia lebih dari 50 tahun, yang mengalami gejala mirip *irritable bowel syndrome* (Jayson *et al.*, 2014). Ekspresi serum biomarker CA-125 ditemukan meningkat pada 80% kasus kanker ovarium jenis epitel. Spesifisitas dan nilai prediksi positif CA-125 lebih tinggi pada wanita post menopause (Doubeni *et*

al.,2016). Spesifisitas pemeriksaan CA-125 pada wanita pre menopause tidak terlalu tinggi, karena dapat terjadi positif palsu akibat endometriosis, leiomyoma, dan kondisi ginekologis jinak lainnya (Bhoola dan Hoskins, 2006). Apabila gejala menetap tanpa disertai peningkatan ekspresi CA-125, maka diperlukan pemeriksaan ultrasonografi pelvis (Jayson *et al.*, 2014). Biomarker lain yang dapat diperiksa pada pasien kanker ovarium adalah HE4, yang terutama digunakan untuk menilai progresi penyakit. Untuk jenis kanker ovarium non-epitelial, dapat digunakan pemeriksaan inhibin A/B untuk tumor *sex cord stromal* serta pemeriksaan AFP dan β -HCG untuk tumor sel germinal (Doubeni *et al.*, 2016).

b) Pemeriksaan pencitraan

Ultrasonografi berperan penting dalam pemeriksaan awal massa adneksa serta dalam penapisan pasien berisiko tinggi (Javadi *et al.*, 2016). Pemeriksaan ultrasonografi dapat membantu mengklasifikasikan massa adneksa sebagai massa jinak atau maligna karena dapat dengan detil memvisualisasikan morfologi massa ovarium, tetapi penilaian ini sangat tergantung pada kecakapan operator (Hebbar dan Moideen, 2015; Rai *et al.*, 2015). Pemeriksaan ultrasonografi dapat menunjukkan arsitektur dan vaskularitas ovarium, membedakan massa kistik dan padat, serta mendeteksi adanya ascites (Doubeni *et al.*, 2016).

Pemeriksaan *computed tomography* (CT) atau *magnetic resonance imaging* (MRI) dapat digunakan pada kasus tertentu, seperti untuk membedakan kanker ovarium dengan kanker primer gastrointestinal (Burges dan Schmalfeldt, 2011). Karakterisasi gambaran CT atau MRI biasanya ditentukan oleh morfologi internal tumor, karakter jaringan, serta vaskularitas dan ciri

topografi tumor (Hebbar dan Moideen, 2015). Pemeriksaan CT direkomendasikan untuk menentukan *staging* kanker ovarium dan untuk memprediksi resektabilitas tumor (Javadi *et al.*, 2016). Pemeriksaan MRI dapat digunakan untuk penilaian tumor pelvis lanjutan (Doubeni *et al.*, 2016). Pemeriksaan MRI dapat menunjukkan diferensiasi jaringan dengan baik sehingga dapat digunakan untuk mengetahui jenis lesi yang tidak dapat ditentukan menggunakan ultrasonografi atau CT (Javadi *et al.*, 2016).

iv. *Risk of malignancy index* (RMI)

RMI digunakan untuk menentukan besarnya risiko suatu kista ovarium menjadi bersifat maligna (Jayson *et al.*, 2014). RMI ditentukan oleh perkalian hasil pemeriksaan ultrasonografi, status menopause, dan ekspresi CA-125 (Rai *et al.*, 2015; Javadi *et al.*, 2016). Sensitivitas dan spesifisitas RMI diperkirakan sebesar 70% dan 90% (Rai *et al.*, 2015). Masing-masing hasil ultrasonografi berikut bernilai 1 poin: kista multilokuler, komponen solid, metastasis, ascites, dan lesi ovarium bilateral. Nilai 0 diberikan apabila hasil ultrasonografi tidak menemukan komponen di atas, nilai 1 diberikan apabila didapatkan 1 komponen, dan nilai 3 diberikan apabila terdapat 2 atau lebih komponen. Pasien premenopause diberi nilai 1 dan pasien post menopause diberi nilai 3. Nilai RMI lebih dari 200 dianggap berisiko tinggi mengalami keganasan (Javadi *et al.*, 2016; Jayson *et al.*, 2014).

e. Stadium

Klasifikasi FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) terbaru dibuat dengan mempertimbangkan patogenesis dan prognosis berbagai subtype kanker ovarium (Zeppernick dan Meinhold-Heerlein,

2014). Klasifikasi kanker ovarium terbaru menurut FIGO dan TNM dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Klasifikasi FIGO dan sistem TNM untuk kanker ovarium (Jayson *et al.*, 2014; Zeppernick dan Meinhold-Heerlein, 2014; Javadi *et al.*, 2016; Suh *et al.*, 2018).

FIGO	TNM	Keterangan
I	T1	Tumor terbatas pada ovarium
IA	T1a	Tumor terbatas pada 1 ovarium (kapsul intak); tidak ada tumor pada permukaan ovarium; tidak ada sel ganas pada ascites/cairan peritoneum
IB	T1b	Tumor pada 2 ovarium (kapsul intak); tidak ada tumor pada permukaan ovarium; tidak ada sel ganas pada ascites/cairan peritoneum
IC		
IC1	T1c1	Tumor terbatas pada 1 atau 2 ovarium, disertai:
IC2	T1c2	<i>Surgical spill</i>
IC3	T1c3	Kapsul ruptur sebelum operasi atau tumor pada permukaan ovarium
		Sel ganas pada ascites/cairan peritoneum
II	T2	Tumor pada 1 atau 2 ovarium dengan perluasan ke pelvis atau kanker peritoneum primer
IIA	T2a	Perluasan dan/atau implan pada uterus dan/atau tuba fallopi
IIB	T2b	Perluasan pada jaringan pelvis intraperitoneal lain
III		Tumor pada 1 atau 2 ovarium, dengan perluasan ke peritoneum di luar pelvis terkonfirmasi histologis dan/atau metastasis ke limfonodi retroperitoneal
IIIA1	T1/T2-N1	Positif pada limfonodi retroperitoneal saja (terkonfirmasi histologis)
IIIA1(I)		Metastasis < 10 mm
IIIA1(II)		Metastasis > 10 mm
IIIA2	T3a2-N0/N1	Keterlibatan mikroskopis peritoneum ekstrapelvis dengan/tanpa metastasis limfonodi retroperitoneal
IIIB	T3b-N0/N1	Metastasis makroskopis ekstrapelvis < 2cm, dengan/tanpa metastasis limfonodi retroperitoneal
IIIC	T3c-N0/N1	Metastasis makroskopis ekstrapelvis > 2cm, dengan/tanpa metastasis limfonodi retroperitoneal
IV	M1	Metastasis jauh, termasuk metastasis peritoneum
IVA	M1a	Efusi pleura dengan sitologi positif
IVB	M1b	Metastasis parenkimal dan metastasis organ ekstraabdomen (termasuk limfonodi inguinalis dan limfonodi di luar rongga abdomen)

Tabel 2.6. Penentuan *grading* kanker ovarium oleh Shimizu *et al* (Ishioka *et al.*, 2003)

	Skor 1		Skor 2		Skor 3	
Pola arsitektur jaringan	Pola pertumbuhan glandular	Pola pertumbuhan papiler	Pola pertumbuhan papiler	Pola pertumbuhan padat	Pola pertumbuhan padat	Pola pertumbuhan padat
Pleomorfisme nukleus	Ukuran nukleus relatif seragam (variasi diameter \leq 2:1), rasio nukleus:sitoplasma rendah, tidak ada penggumpalan kromatin, tidak ada nukleolus prominen	Terdapat variasi ukuran dan bentuk nukleus (antara 2:1 dan 4:1), nukleolus berukuran kecil, terdapat, terdapat penggumpalan kromatin, tidak ada sel <i>bizarre</i>	Ukuran dan bentuk nukleus sangat bervariasi ($>$ 4:1), rasio nukleus:sitoplasma sangat tinggi, terdapat penggumpalan kromatin yang prominen, membran nukleus tebal, nukleolus eosinofilik besar, dan terdapat sel <i>bizarre</i>			
Aktivitas mitotik	0-9 sel mitotik/10 HPF (<i>high power field</i>)	10-24 sel mitotik/10 HPF		\geq 25 sel mitotik/10 HPF		

f. *Grading*

Terdapat berbagai jenis klasifikasi *grading* kanker ovarium. Ahli patologi paling sering menggunakan skema *grading* dari sistem FIGO, yaitu *grade* 1 (*low grade*), *grade* 2 (*intermediate grade*), dan *grade* 3 (*high grade*) yang menggambarkan tingkatan diferensiasi struktur seluler (Matsuno *et al.*, 2013). Penentuan *grading* dari sistem FIGO menggunakan perbandingan struktur kelenjar atau papiler dan pertumbuhan tumor padat (*grade* 1: $<$ 5% tumor padat; *grade* 2: 5-50% tumor padat; *grade* 3: $>$ 50% tumor padat) (Shimizu *et al.*, 1998).

Penentuan *grading* tumor ovarium dapat juga menggunakan sistem lain, yaitu menggunakan sistem *grading* universal yang dikembangkan oleh Shimizu *et al* dengan menggunakan skor (Tabel 2.6.). Skor akhir sebesar 3-5 menunjukkan kanker ovarium *grade* 1 (*low grade*, berdiferensiasi baik), skor akhir sebesar 6-7 menunjukkan kanker ovarium *grade* 2

(*intermediate grade*, berdiferensiasi sedang), dan skor total 8-9 menunjukkan kanker ovarium *grade 3 (high grade*, berdiferensiasi buruk) (Ishioka *et al.*, 2003).

g. Tatalaksana

Bagan tatalaksana kanker ovarium dapat dilihat pada Gambar 2.2.

i. Operatif

Operasi yang merupakan terapi utama kanker ovarium, digunakan untuk menentukan *staging* dan sitoreduksi (*debulking*) tumor. Operasi hanya memiliki efek kuratif pada tumor yang terbatas pada ovarium (Doubeni *et al.*, 2016). *Staging* tumor secara operatif memiliki fungsi prognostik yang besar dan dapat mempengaruhi pemilihan terapi selanjutnya (Rai *et al.*, 2015). Terapi operatif kanker ovarium sebaiknya mencakup histerektomi total, salpingo-oophorektomi bilateral, *debulking* tumor, dan omentektomi (Jayson *et al.*, 2014). Operasi *fertility-sparing* dilakukan dengan cara melakukan salpingo-oophorektomi unilateral dan mempertahankan uterus dan ovarium kontralateral (Doubeni *et al.*, 2016).

ii. Kemoterapi

Kemoterapi adjuvan direkomendasikan untuk kanker ovarium stadium lanjut dan biasanya tidak diindikasikan untuk tumor yang terbatas pada ovarium (Doubeni *et al.*, 2016). Kemoterapi adjuvan pada tahap awal penyakit dapat meningkatkan angka harapan hidup sampai 8%. Regimen kemoterapi yang mengandung platinum sudah menjadi standard terapi selama 40 tahun di seluruh dunia (Jayson *et al.*, 2014). Meskipun operasi merupakan terapi standard untuk pasien dengan performa yang baik, kemoterapi neoadjuvan dilanjutkan dengan operasi *interval debulking* dapat menjadi pilihan terapi pada

kasus kanker ovarium (Rai *et al.*, 2015). Pilihan kemoterapi primer untuk kanker ovarium dapat dilihat pada Gambar 2.3.

iii. *Targeted therapy*

Kebanyakan pasien kanker ovarium jenis epitel akan mengalami kekambuhan penyakit, meskipun sudah menjalani sitoreduksi optimal dan terapi adjuvan yang adekuat (Willmott dan Fruehauf, 2010). Dengan meningkatnya pemahaman mengenai jalur molekuler karsinogenesis dan pertumbuhan tumor kanker ovarium, *targeted therapy* mulai dikembangkan (Lim dan Ledger, 2016).

a) Monoterapi

1) Antiangiogenesis

Beberapa agen antiangiogenesis dikembangkan untuk menghambat jalur sinyal angiogenesis, termasuk agen yang dapat menghambat kerja faktor pertumbuhan ekstraseluler hingga inhibisi kinase intraseluler (Vetter dan Hays, 2018). Bevacizumab merupakan suatu antibodi monoklonal yang mentarget VEGF. Ekspresi VEGF yang tinggi diduga berhubungan dengan rendahnya angka harapan hidup pasien kanker ovarium (Kim *et al.*, 2012; Jayson *et al.*, 2014). Bevacizumab saat ini merupakan satu-satunya agen antiangiogenik yang disetujui sebagai terapi kanker ovarium jenis epitel. Beberapa agen antiangiogenik lain sedang dalam uji klinis, antara lain aflibercept, pazopanib, cediranib, nintedanib, sunitinib, vandetanib, dan sorafenib (Vetter dan Hays, 2018).

2) Inhibitor PARP

Inhibisi PARP menyebabkan akumulasi kerusakan DNA rantai tunggal yang kemudian normalnya diperbaiki oleh suatu jalur perbaikan DNA yang membutuhkan protein

BRCA1 dan BRCA2. Pada pasien kanker ovarium, gen BRCA1 dan BRCA2 mengalami mutasi sehingga lesi DNA tidak dapat diperbaiki, sehingga terjadi pemberhentian siklus sel dan kematian sel (Kim *et al.*, 2012; Jayson *et al.*, 2014). Terdapat tiga agen inhibitor PARP yang sudah disetujui oleh *Food and Drug Administrator* (FDA), yaitu olaparib, rucaparib, dan niraparib (Vetter dan Hays, 2018).

3) Inhibitor jalur PI3K/Akt/mTOR

Terdapat tiga kelas inhibitor PI3K, yaitu inhibitor PI3K pan-kelas I yang menyebabkan inhibisi aktivitas seluruh isoform PI3K kelas 1, inhibitor PI3K isoform-selektif yang mentarget isoform p110 pada tipe kanker tertentu, dan dual inhibitor PI3K/mTOR. Inhibitor Akt dapat dibagi menjadi tiga kelas yaitu, analog fosfatidilinositol berbasis lipid, inhibitor ATP-kompetitif, dan inhibitor alosterik. Inhibitor Akt memiliki toksisitas yang serupa dengan inhibitor PI3K yang menyebabkan hiperglikemia, ruam, stomatitis, dan gejala gastrointestinal (Mabuchi *et al.*, 2015). Rapamisin (sirolimus) merupakan agen inhibitor mTOR yang bekerja dengan cara berikatan dengan protein intraseluler FKBP12. Kompleks rapamisin-FKBP12 berinteraksi dengan domain FRB pada mTOR, menyebabkan transformasi alosterik yang berakibat inhibisi aktivitas mTOR kinase. Jenis inhibitor mTOR yang paling banyak dipelajari pada kasus kanker ovarium adalah temsirolimus, everolimus, ridaforolimus (Gasparri *et al.*, 2017). Selain rapamisin, dapat juga digunakan inhibitor ATP-kompetitif serta metformin untuk menghambat aktivitas MTOR (Mabuchi *et al.*, 2015).

4) Inhibitor jalur MAPK

commit to user

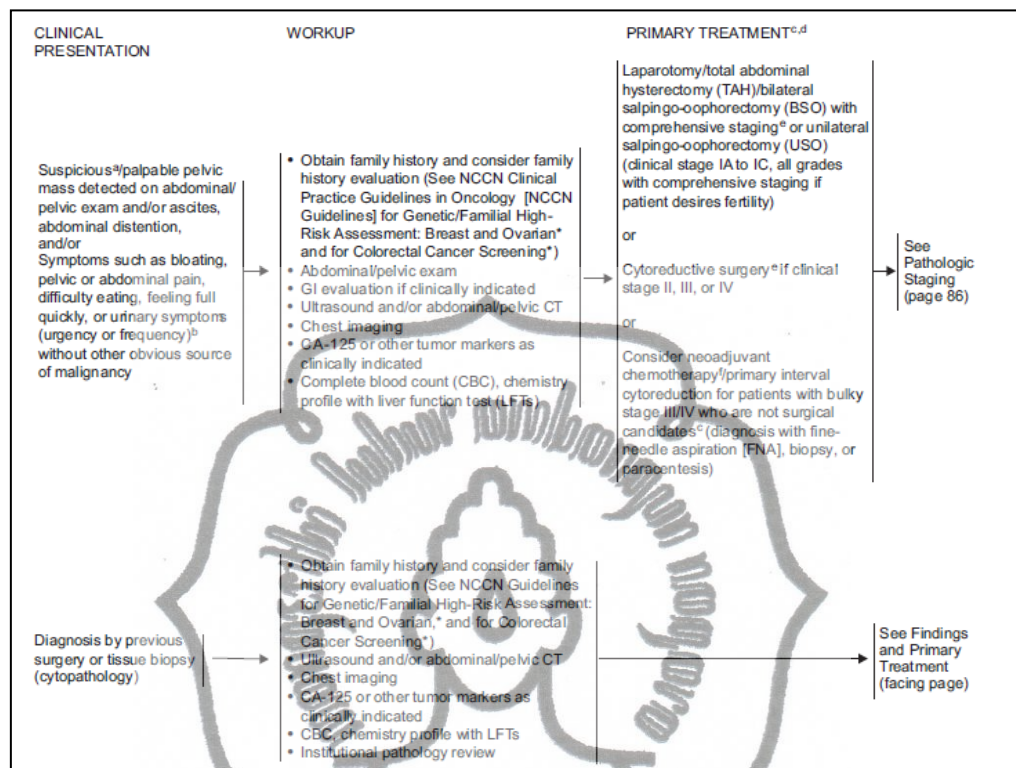
Jalur MAPK terlibat dalam berbagai fungsi seluler, antara lain progresi siklus sel, diferensiasi, metabolisme, *survival* sel, dan migrasi sel. Contoh agen inhibitor jalur MAPK adalah selumetinib dan binimetinib (Vetter dan Hays, 2018).

5) Inhibitor HER2

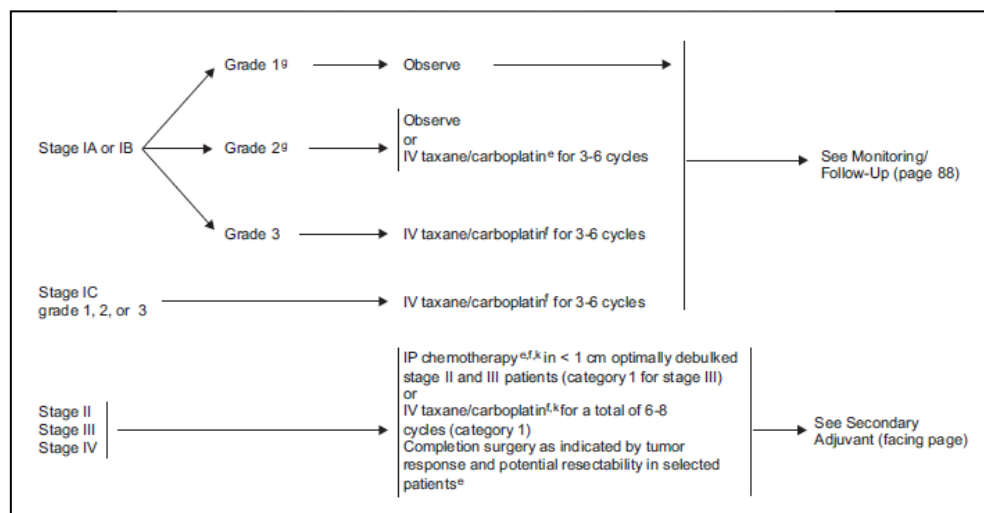
Trastuzumab merupakan suatu antibodi monoklonal yang mengenali domain ekstraseluler reseptor HER2 dan pertuzumab merupakan suatu antibodi monoklonal yang menghambat dimerisasi reseptor HER2 dengan cara mengikat epitop dimerisasi domain ekstraseluler. Kedua agen tersebut sedang berada dalam tahap uji klinis (Vetter dan Hays, 2018).

b) Terapi kombinasi

Untuk menurunkan angka kegagalan terapi akibat resistensi obat, beberapa peneliti mengusulkan adanya terapi kombinasi. Terdapat sejumlah kombinasi *targeted therapy* dengan kemoterapi sitotoksik tradisional, agen *targeted therapy* lain, maupun imunoterapi, antara lain kombinasi olaparib/cediranib, kombinasi terapi bevacizumab, dan kombinasi terapi inhibitor jalur MAPK dan PI3K (Vetter dan Hays, 2018).



Gambar 2.2. Bagan tatalaksana kanker ovarium (National Comprehensive Cancer Network [NCCN], 2011)



Gambar 2.3. Kemoterapi primer untuk kanker ovarium (NCCN, 2011)

2. Mediator Karsinogenesis pada Kanker Ovarium

a. *Neural growth factor* (NGF)

Neural growth factor (NGF) merupakan salah satu anggota keluarga neurotropin yang pertama kali ditemukan (Aloe *et al.*, 2012; Retamales-Ortega *et al.*, 2017). *Neural growth factor* pertama kali ditemukan oleh Rita Levi-Montalcini pada tahun 1940an di dalam sistem saraf setelah melakukan transplantasi jaringan sarkoma tikus ke dalam embrio ayam berusia 3 hari (Aloe *et al.*, 2016). Rita Levi-Montalcini menemukan bahwa jaringan tumor tersebut menghasilkan suatu produk terlarut yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan ganglia simpatis dan sensorik di sekitar lokasi tumor (Aloe *et al.*, 2012). Meskipun pertama kali ditemukan di dalam sistem saraf, NGF juga berperan dalam beberapa sistem lain seperti sistem endokrin, imun, dan reproduksi (Retamales-Ortega *et al.*, 2017). Fungsi NGF dalam masing-masing sistem tubuh dapat dilihat dalam Tabel 2.7.

Bentuk aktif NGF diturunkan dari pembelahan proteolitik ProNGF (bentuk prekursor) yang memiliki kemampuan pro-apoptosis dan neurotropik (Aloe *et al.*, 2012). *Neural growth factor* menjalankan aktivitasnya dengan cara berikatan dengan dua jenis reseptor, yaitu reseptor TrkA dan reseptor p75 (Li *et al.*, 2016). Reseptor TrkA merupakan suatu reseptor tirosin kinase afinitas tinggi yang memiliki spesifisitas ikatan dengan NGF, sedangkan reseptor p75 berikatan dengan seluruh jenis neurotropin dengan afinitas yang sama (Li *et al.*, 2016; Molloy *et al.*, 2011).

Ovarium normal, terutama pada sel granulosa dan sel theca, ditemukan mengekspresikan NGF (Vera *et al.*, 2014). *Neural growth factor* berperan dalam proses diferensiasi folikel primordial menjadi folikel primer, pertumbuhan folikel primer menjadi folikel sekunder, proses ovulasi, serta meningkatkan ekspresi reseptor *Follicle Stimulating*

Hormone (FSH-R) dan estradiol pada sel granulosa (Retamales-Ortega *et al.*, 2017). *Neural growth factor* juga memiliki peran dalam regulasi angiogenesis ovarium melalui mediator VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Dalam masa reproduktif, ovarium mengalami angiogenesis siklik untuk mendukung fungsi reproduksi normal (Vera *et al.*, 2014; Retamales-Ortega *et al.*, 2017). Gangguan angiogenesis ovarium dapat menyebabkan anovulasi, infertilitas, abortus, dan kanker ovarium (Vera *et al.*, 2014).

Pada kanker ovarium jenis epitel, angiogenesis tidak teregulasi dengan baik (Retamales-Ortega *et al.*, 2017). Angiogenesis yang dimediasi oleh NGF terjadi melalui efek langsung terhadap sel tumor serta efek tidak langsung terhadap sel-sel endotel (Garrido *et al.*, 2018). Kanker ovarium ditandai oleh ukuran tumor yang besar sehingga angiogenesis merupakan proses penting dalam kelangsungan hidup sel-sel kanker (Vera *et al.*, 2014). *Neural growth factor* ditemukan berperan dalam berbagai proses tumorigenesis selain angiogenesis, termasuk deregulasi pertumbuhan sel (Retamales-Ortega *et al.*, 2017). Interaksi antara NGF dan TrkA diduga berperan dalam pertumbuhan beberapa jenis kanker non-neuronal, termasuk kanker ovarium (Vera *et al.*, 2014). *Neural growth factor* dalam patogenesis kanker ditemukan berhubungan dengan stimulasi mitogenesis, peningkatan metastasis dan invasi sel-sel kanker, serta inhibisi apoptosis (Molloy *et al.*, 2011). Aktivitas NGF ditemukan meningkatkan aktivitas molekul proliferasi serta menurunkan *marker* apoptosis (Vera *et al.*, 2014). Meskipun NGF memiliki peran penting dalam patogenesis kanker ovarium, molekul tersebut tidak dapat dijadikan target terapi karena memiliki peran penting pada sistem tubuh lain, terutama dalam perkembangan dan kelangsungan hidup sistem saraf, sehingga diperlukan identifikasi alternatif terapi yang khusus mentargetkan NGF pada sel kanker saja (Garrido *et al.*, 2018). Sampai saat ini, belum didapatkan anti-NGF yang memiliki aktivitas anti-kanker. Tanezumab merupakan suatu antibodi IgG monoklonal rekombinan yang diciptakan untuk mentarget NGF

dan mencegah interaksi NGF dengan TrkA maupun reseptor p75 dan digunakan sebagai terapi nyeri akut dan kronis (Chang *et al.*, 2016; Patel *et al.*, 2018).

Tabel 2.7. Fungsi NGF pada berbagai sistem tubuh (Aloe *et al.*, 2012; Retamales-Ortega *et al.*, 2017).

Sistem	Fungsi
Sistem saraf tepi	<i>Growth factor</i> yang poten dan selektif untuk neuron simpatis dan neuron sensorik Mengatur sintesis neurotransmitter dan neuropeptida
Sistem saraf pusat	Kelangsungan hidup dan fungsi neuron kolinergik Mengatur fenotip nuclei noradrenergik di hipotalamus dan batang otak
Epitelial	Efek tropik terhadap keratinosit Mengatur pertumbuhan rambut Mengatur penyembuhan luka
Sistem imun	Diferensiasi dan kelangsungan hidup sel-sel imun Mengatur pelepasan mediator
Sistem reproduksi	Mengatur diferensiasi folikel primordial menjadi folikel primer Mengatur pertumbuhan folikel primer menjadi folikel sekunder Ovulasi Meningkatkan ekspresi FSH-R dan estradiol di sel-sel granulosa

b. *Tropomyosin receptor kinase A* (TrkA)

Tropomyosin receptor kinase A (TrkA) merupakan salah satu anggota reseptor *tropomyosin receptor kinase* (Trk) yang dikodekan oleh gen NTRK1. Gen NTRK1 terletak pada kromosom 1q21-q22 (Amatu *et al.*, 2016). Reseptor TrkA berfungsi sebagai reseptor selektif untuk NGF (Molloy *et al.*, 2011). *Tropomyosin receptor kinase A* terbentuk oleh satu domain ekstraseluler untuk ikatan dengan ligannya, satu daerah transmembran, dan satu domain intraseluler (Amatu *et al.*, 2016). Ikatan TrkA dengan NGF menginduksi terjadinya homodimerisasi dan trans-autofosforilasi pada domain intraseluler reseptor, yang kemudian memicu aktivasi tiga jalur biologis intraseluler, yaitu jalur Ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK), jalur phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt,

serta jalur *phospholipase C* ($\text{PLC}\gamma$) (Molloy *et al.*, 2011; Manni *et al.*, 2013).

Sama seperti NGF, ekspresi TrkA juga ditemukan pada ovarium normal, terutama pada sel granulosa folikel antral dan preantral, serta sel theca folikel antral. Ekspresi reseptor TrkA pada ovarium ditemukan sebelum terjadinya ovulasi, sama halnya dengan ekspresi VEGF, sehingga diduga kedua faktor tersebut sama-sama berperan dalam proses fungsional ovarium normal serta dalam proses angiogenesis yang terjadi pada fase folikuler dan fase luteal ovarium (Vera *et al.*, 2014).

Reseptor Trk sering mengalami overekspresi atau gangguan aktivitas pada kasus kanker. Pada kanker ovarium ditemukan overekspresi TrkA dan p-TrkA, bentuk aktifnya. Ekspresi p-TrkA sangat jarang ditemukan pada jaringan normal, sehingga mungkin dapat digunakan sebagai penanda prognostic kanker ovarium (Retamales-Ortega *et al.*, 2017). Peningkatan ekspresi p-TrkA ditemukan pada kanker ovarium stadium lanjut dan diduga memiliki kapasitas proangiogenik (Tapia *et al.*, 2011). Ekspresi reseptor TrkA terdeteksi pada 82% kasus tumor solid epitel ovarium (Vera *et al.*, 2014). Jalur NGF-TrkA berperan dalam proliferasi, migrasi, dan invasi sel-sel kanker ovarium jenis epitel. Jalur sinyal ini juga ditemukan berhubungan dengan berbagai kaskade yang menstimulasi progresivitas kanker, termasuk sekresi dan produksi VEGF, respon inflamasi COX2/PGE2, serta perubahan lokalisasi calreticulin subseluler (Vera *et al.*, 2018).

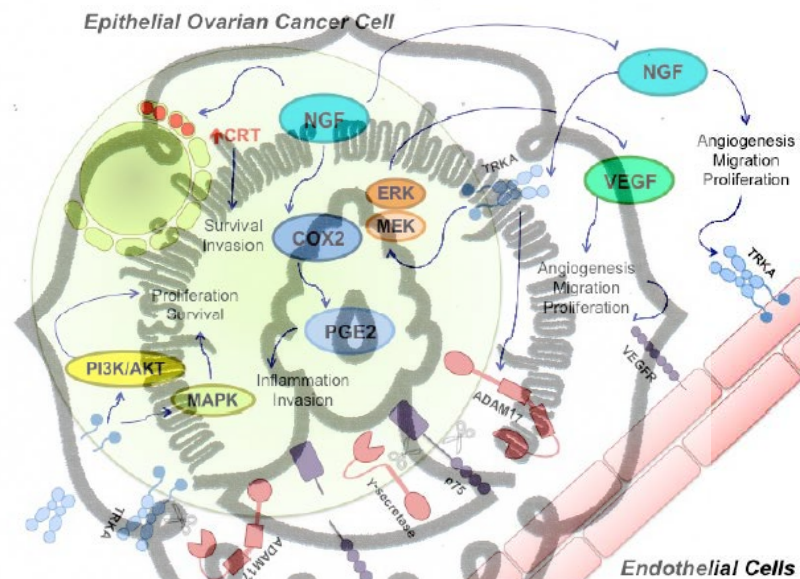
Terdapat beberapa jenis molekul dengan aktivitas anti-TrkA yang saat ini sedang dalam tahap awal uji klinis, antara lain LOXO-101, entrectinib, dan Cabozantinib, tetapi belum ada agen anti-TrkA yang dapat digunakan sebagai terapi kanker ovarium (Lange & Lo, 2018; Meldolesi, 2018).

c. *Phosphatidylinositide 3 kinase (PI3K)*

Mediator PI3K merupakan suatu kelompok lipid kinase intraseluler yang terbagi menjadi tiga kelas (Yu dan Cui, 2016). Ketiga kelas PI3K berbeda dalam karakteristik struktural, spesifisitas substrat, dan sifat produk akhirnya. PI3K kelas I merupakan heterodimer yang kemudian dibagi menjadi 2 subkelas, yaitu IA dan IB. Secara struktural, PI3K kelas IA tersusun atas subunit katalitik p110 dan subunit regulator p85 (Akinleye *et al.*, 2013). Struktur PI3K kelas II merupakan isoform katalitik monomerik yang berperan dalam pengaturan lalu lintas membran sel, sedangkan PI3K kelas III berperan dalam autofagi (Dobbin dan Landen, 2013). Bentuk PI3K kelas IA merupakan subkelas PI3K yang paling banyak dipelajari dan paling sering berhubungan dengan kasus kanker (Akinleye *et al.*, 2013). Saat PI3K berikatan dengan ligan, terjadi aktivasi alosterik subunit p110 (Gasparri *et al.*, 2017). Aktivasi subunit p110 memfosforilasi PIP2 menjadi PIP3, bentuk *second messenger* aktifnya, yang kemudian menyebabkan rekrutmen dan aktivasi PDK1 dan Akt (Dobbin dan Landen, 2013; Leary *et al.*, 2013). Tumor supresor PTEN dan INPP4B merupakan regulator negatif terpenting dalam jalur sinyal PI3K, karena keduanya memiliki peran menghambat aktivasi Akt oleh PI3K (Mabuchi *et al.*, 2015).

Jalur sinyal PI3K merupakan salah satu jalur intraseluler paling penting, karena mengatur pertumbuhan, motilitas, *survival*, metabolisme, dan angiogenesis sel. Mutasi PI3K dan/atau rendahnya ekspresi PTEN dapat menyebabkan transformasi neoplastik pada sel-sel normal (Yang *et al.*, 2019). Data dari *The Cancer Genome Atlas* menunjukkan hiperaktivasi jalur PI3K pada sekitar 60% pasien kanker ovarium (Ghoneum & Said, 2019). Hiperaktivasi jalur PI3K dapat menyebabkan pertumbuhan tumor dan resistensi terhadap terapi antikanker (Yang *et al.*, 2019). Inhibisi PI3K pada kasus kanker ovarium ditemukan dapat

mengganggu proliferasi dan memicu kematian sel-sel kanker, serta meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap obat-obatan kemoterapi (Deng *et al.*, 2019).



Gambar 2.4. Skema jalur NGF/TrkA/PI3K pada kanker ovarium (Retamales-Ortega *et al.*, 2017)

d. Protein kinase B (Akt)

Protein kinase B merupakan suatu kelompok serin threonin kinase. Terdapat tiga isoform Akt, yaitu Akt1, Akt2, dan Akt3. Protein kinase B menerima sinyal dari PI3K dan mTORC2 (Ghoneum & Said, 2019). Untuk mengaktivasi Akt, diperlukan fosforilasi asam amino residu T309 dan S473 oleh PDK1 dan mTORC2. Setelah teraktivasi, Akt memfosforilasi berbagai protein target yang kemudian menyebabkan

peningkatan proliferasi, diferensiasi, apoptosis, angiogenesis, dan metabolisme sel (Yu dan Cui, 2016).

Salah satu efektor yang diaktivasi oleh Akt adalah mTOR yang teraktivasi melalui inhibisi kompleks TSC1/2. Aktivasi mTOR menyebabkan modulasi proliferasi sel (Dobbin dan Landen, 2013). Ekspresi Akt berguna untuk mengontrol berbagai proses metabolisme sel dengan berbagai cara, antara lain dengan meningkatkan transkripsi gen proliferasi dan gen antiapoptosis dengan cara menurunkan ekspresi p53, NFkB dan CREB, memfosforilasi protein yang berperan dalam regulasi siklus sel dan apoptosis seperti GSK3 dan inhibitor CDK p21 dan p27, menurunkan ekspresi caspase-9 sehingga meningkatkan progresi siklus sel, serta mengaktivasi 4EBP1 dan p70S6K melalui aktivasi mTOR sehingga terjadi angiogenesis dan progresi siklus sel (Leary *et al.*, 2013).

Mutasi pada gen pengkode Akt ditemukan pada beberapa kasus kanker (Ediriweera *et al.*, 2019). Pada kanker ovarium, hiperaktivasi Akt menyebabkan deregulasi pertumbuhan sel dan resistensi terhadap stimulus apoptosis, sehingga terjadi pertumbuhan dan invasi sel tumor yang tidak terkontrol (Ghoneum & Said, 2019). Inhibisi Akt1 ditemukan dapat menurunkan proliferasi, migrasi, dan invasi sel kanker ovarium (Ediriweera *et al.*, 2019).

e. *Mammalian target of rapamycin* (mTOR)

Mammalian target of rapamycin (mTOR) merupakan suatu protein serine/threonine kinase yang awalnya diidentifikasi sebagai target seluler rapamisin. Mediator mTOR merupakan salah satu komponen dalam jalur PI3K yang berfungsi memantau ketersediaan nutrisi, sinyal mitogenik, serta ekspresi oksigen dan energi di dalam sel (Zarogoulidis *et al.*, 2014).

Mediator mTOR dapat membentuk dua kompleks protein yang berbeda, yaitu mTOR kompleks 1 (mTORC1) dan 2 (mTORC2) (Saxton

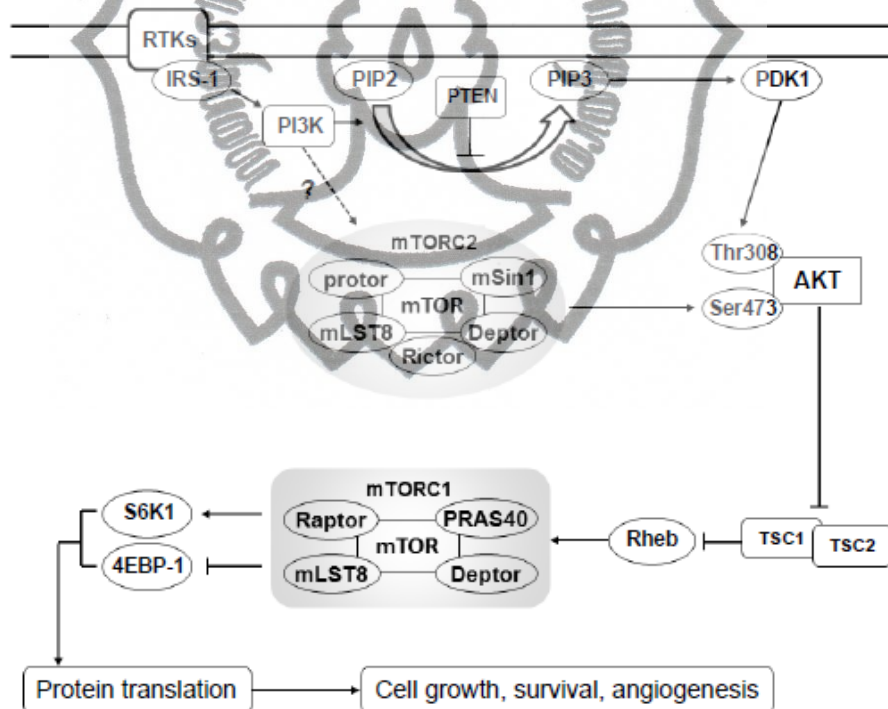
& Sabatini, 2017). Kedua kompleks protein ini berperan dalam regulasi sintesis protein yang diperlukan untuk pertumbuhan dan proliferasi sel (Zarogoulidis *et al.*, 2014). Pada siklus sel fase M, bentuk aktif dari mTOR ditemukan dalam jumlah besar pada sel granulosa ovarium, menunjukkan bahwa mTOR berperan dalam regulasi seluler (Ghoneum & Said, 2019).

Kompleks mTORC1 terbentuk atas tiga komponen utama: mTOR, Raptor (*regulatory protein associated with mTOR*) dan mLST8 (*mammalian lethal with Sec13 protein 8*), sedangkan mTORC2 terbentuk atas mTOR, mLST8, dan Rictor (*rapamycin insensitive companion of mTOR*) (Saxton & Sabatini, 2017). Fungsi dan aktivitas mTORC2 masih belum sepenuhnya dipahami, tetapi diduga diaktivasi melalui jalur PI3K dan mTORC1 (Conciatori *et al.*, 2018).

Jalur sinyal mTOR (Gambar 2.5) diaktivasi oleh sinyal ekstraseluler, seperti faktor pertumbuhan, nutrisi, dan ekspresi oksigen melalui jalur PI3K/Akt (Conciatori *et al.*, 2018). Protein kinase B dapat mengaktivasi mTOR dengan dua cara, yaitu secara langsung dengan memfosforilasi mTOR atau secara tidak langsung dengan menghambat TSC1/2 (Ghoneum & Said, 2019). Sinyal ekstraseluler mengaktivasi mTORC1 kemudian menyebabkan fosforilasi dan aktivasi efektor mTORC1, yaitu S6K1 dan 4EBP-1. (Conciatori *et al.*, 2018). Aktivasi 4EBP1 pada kanker berperan sebagai suatu sakelar yang diinduksi kondisi hipoksia dan menyebabkan translasi berbagai faktor seperti VEGF dan Bcl2, sehingga memfasilitasi angiogenesis dan pertumbuhan sel tumor yang memiliki kemampuan anti-apoptosis (Ghoneum & Said, 2019).

Aktivasi mTORC1 ditemukan meningkat pada sekitar 55% kasus kanker ovarium jenis epitel dan berperan dalam pertumbuhan sel kanker, angiogenesis, dan resistensi terhadap stimulus apoptosis (Cancer Genome Atlas Research, 2011). Aktivitas mTORC1 diduga berhubungan dengan

fenotipe kanker ovarium jenis epitel yang lebih agresif dan memiliki prognosis yang buruk (Castellvi *et al.*, 2006). Inhibisi MTOR ditemukan dapat menurunkan proliferasi dan migrasi sel-sel kanker ovarium (Ediriweera *et al.*, 2019). Berbagai agen anti-mTOR telah dikembangkan untuk terapi kanker prostat, kanker payudara, kanker ginjal, kanker paru, dan kanker lambung, seperti rapamisin, temsirolimus, everolimus, dan ridaforolimus, tetapi belum ada agen anti-MTOR yang dapat digunakan pada kasus kanker ovarium (Tian *et al.*, 2019).



Gambar 2.5. Jalur mTOR (Mabuchi *et al.*, 2014)

f. *Ribosomal protein S6 kinase-1* (S6K1)

Ribosomal protein S6 kinase-1 (S6K1) merupakan suatu mediator penting dalam proses translasi dan pertumbuhan sel (Kim *et al.*, 2008).

commit to user

Mediator S6K1 diaktifkan melalui berbagai proses fosforilasi di berbagai lokasi, salah satunya disebabkan oleh aktivasi mTORC1 (Hannan *et al.*, 2003; Conciatori *et al.*, 2018). S6K1 berperan sebagai regulator umpan balik negatif dalam jalur PI3K/mTOR, sehingga inhibisi S6K1 menyebabkan induksi sinyal PI3K dan aktivasi mTOR (Al-Ali *et al.*, 2017).

Mediator S6K1 memiliki dua isoform, yaitu p70^{S6K1} dan p85^{S6K1}. Kedua isoform tersebut dapat diproduksi oleh proses transkripsi yang sama, tetapi melalui inisiasi translasi yang berbeda. S6K1 diduga berhubungan dengan progresivitas kanker (Kim *et al.*, 2008). Jalur S6K1 memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan metabolisme sel, sehingga berpotensi berhubungan dengan pertumbuhan, proliferasi, dan migrasi sel-sel kanker (Jafari *et al.*, 2016). Jalur S6K1 ditemukan mengalami disregulasi pada berbagai tumor padat sehingga diduga berpotensi digunakan sebagai suatu biomarker prognosis pada pasien kanker (Zhang *et al.*, 2019). Hiperaktivasi S6K1 ditemukan menyebabkan peningkatan motilitas sel kanker pada kanker ovarium, kanker payudara, dan kanker prostat (Kosach *et al.*, 2018).

g. *Eukaryotic initiation factor 4E binding protein (4EBP)*

Eukaryotic initiation factor 4E binding protein (4EBP) merupakan suatu regulator penting dalam proses translasi seluler. (Teleman *et al.*, 2005). Mediator ini merupakan anggota dari kelompok protein repressor translasi dan merupakan suatu substrat target jalur mTOR (Qin *et al.*, 2016). Aktivasi dan fosforilasi 4EBP diperantarai oleh mTORC1 yang berperan dalam pertumbuhan sel, metastasis, dan angiogenesis berbagai jenis kanker (Teleman *et al.*, 2005; Naito *et al.*, 2019). Fosforilasi mTOR menurunkan afinitas 4EBP terhadap eIF4E, suatu faktor translasi yang

berikatan dengan struktur 5' *cap* mRNA, sehingga terjadi proses translasi *cap-dependent* (Teleman *et al.*, 2005; Ko *et al.*, 2009).

Hiperaktivasi 4EBP pada kanker diduga disebabkan oleh amplifikasi gen 4EBP1 (Qin *et al.*, 2016). Aktivasi 4EBP pada kondisi dimana sel mengalami hipoksia dan hanya menerima sedikit nutrisi, seperti yang ditemukan pada kanker stadium lanjut, berperan memfasilitasi angiogenesis dan pertumbuhan sel tumor yang memiliki kemampuan anti-apoptosis (Qin *et al.*, 2016; Ghoneum & Said, 2019). Pasien kanker ovarium yang menunjukkan hiperaktivasi 4EBP menunjukkan tipe kanker yang lebih agresif dan prognosis yang lebih buruk (Qu *et al.*, 2016; Alabdullah *et al.*, 2019).

h. Caspase 9

Apoptosis dicetuskan oleh suatu kaskade aktivasi caspase. Caspase 9 dan caspase 3 merupakan caspase inisiator dan efektor yang paling banyak diteliti (Hu *et al.*, 2014). Caspase 9 memegang peranan penting dalam jalur mitokondrial yang merupakan bagian dari berbagai stimuli, termasuk kemoterapi, agen stressor dan radiasi (Li *et al.*, 2017). Caspase 9 diaktivasi oleh apoptosom Apaf-1 (Hu *et al.*, 2014).

Aktivasi caspase 9 dimulai dengan pembelahan autokatalitik zimogen caspase 9 yang difasilitasi oleh apoptosom Apaf-1. Kemudian caspase 9 matur tetap berikatan dengan apoptosom Apaf-1 sebagai suatu holoenzim, menyebabkan aktivasi caspase 9 (Li *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2014). Kegagalan aktivasi caspase 9 menyebabkan gangguan fisiologis, sehingga dapat terjadi degenerasi dan gangguan pertumbuhan, bahkan kanker (Li *et al.*, 2017). Mutasi atau hilangnya heterozigositas caspase 9 jarang ditemukan pada kasus kanker pada manusia, tetapi hilangnya aktivitas caspase 9 ditemukan memfasilitasi transformasi onkogenik dan progresi tumor (Olsson & Zhivotovsky, 2011).

i. Caspase 3

Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang merupakan sistem pengaturan untuk keseimbangan homeostasis pertumbuhan, perkembangan, dan diferensiasi sel pada organisme multiseluler (Behzadi dan Ranjbar, 2015). Caspase merupakan suatu kelompok gen yang memiliki peran penting dalam mempertahankan homeostasis dengan cara mengatur kematian sel dan inflamasi (McIlwain *et al.*, 2013).

Caspase 3 merupakan protein yang relatif kecil dan terdiri atas 2 subunit, yaitu subunit 12 kDa dan subunit 17 kDa (Stoyanovsky & Billiar, 2007). Caspase 3 merupakan protease yang sering teraktivasi pada apoptosis sel mamalia sehingga sering dianggap sebagai eksekusioner utama proses apoptosis. Caspase 3 bekerja dengan cara membelah atau mengkatalisasi pembelahan berbagai substrat protein seluler (Dos Santos *et al.*, 2017). Caspase 3 dapat dibelah dan diaktivasi secara langsung oleh caspase 9, tetapi aktivasi caspase 3 diduga dipicu oleh berbagai jalur (Brentnall *et al.*, 2013). Untuk mencegah aktivasi secara berlebihan, caspase eksekusioner diproduksi dalam bentuk dimer procaspase inaktif yang harus dibelah oleh caspase inisiator. Setelah teraktivasi, caspase eksekusioner dapat membelah dan mengaktivasi caspase eksekusioner lainnya, sehingga mempercepat umpan balik jalur aktivasi caspase (McIlwain *et al.*, 2013).

Kanker merupakan suatu kelainan yang disebabkan oleh ketidakseimbangan proliferasi sel dan apoptosis, dimana sel kanker biasanya lebih tahan terhadap apoptosis daripada sel-sel normal (Letai, 2017). Ditemukan ekspresi caspase 3 yang rendah pada jaringan tumor dan jaringan normal di sekitar tumor pada sekitar 75% kasus kanker payudara primer (Olsson & Zhivotovsky, 2011). Pada kasus kanker ovarium jenis epitel stadium lanjut ditemukan ekspresi caspase 3 yang

lebih rendah daripada stadium awal, menunjukkan bahwa proses apoptosis masih berjalan dengan baik pada stadium awal kanker ovarium jenis epitel (Kusuma *et al.*, 2016). Caspase-3 juga ditemukan berperan dalam proses migrasi sel, baik secara fisiologis maupun metastasis (Xu *et al.*, 2018).

j. *Rat sarcoma* (RAS)

Jalur Ras merupakan salah satu jalur sinyal yang sering ditemukan teraktivasi pada berbagai kasus kanker pada manusia (McCormick F, 2006). Keluarga onkogen RAS terdiri atas tiga anggota utama, KRAS, HRAS, dan NRAS (Dobrzycka B *et al.*, 2009). Apabila protein Ras berikatan dengan GTP akan terjadi aktivasi dan protein Ras dapat berikatan dengan efekturnya, sedangkan bila protein Ras berikatan dengan GDP maka protein Ras menjadi inaktif (Gurung & Bhattacharjee, 2015).

Dalam bentuk aktifnya, Ras memiliki sejumlah besar protein efektor potensial, antara lain Raf, berbagai sub tipe PI3K, dan protein RaIGDS (McCormick F, 2006). Selain fungsi normalnya, yaitu proliferasi dan diferensiasi seluler, mutasi onkogen RAS ditemukan pada berbagai jenis kanker pada manusia (Gurung & Bhattacharjee, 2015). Mutasi onkogen Ras menyebabkan aktivasi transduksi sinyal MAPK, sehingga menyebabkan proliferasi dan diferensiasi sel yang tidak teratur (Dobrzycka B *et al.*, 2009). Sekitar 30% kasus kanker pada manusia berhubungan dengan mutasi RAS (Kodaz *et al.*, 2017).

Mutasi titik pada gen KRAS menyebabkan inaktivasi fungsi GTPase, sehingga aktivasi protein K-Ras menjadi tidak teratur. Mutasi KRAS ditemukan pada berbagai jenis tumor padat dan biasanya terjadi pada tahap awal perkembangan tumor *low grade* (Nordin *et al.*, 2013). Insidensi mutasi KRAS pada kasus kanker ovarium bervariasi bergantung dari sub tipe histologisnya (Kodaz *et al.*, 2017).

Mutasi aktivasi pada HRAS ditemukan pada sekitar 6% kasus kanker ovarium, tetapi aktivasi efektor jalur protein H-Ras, seperti B-Raf, sering ditemukan tanpa disertai mutasi pada gen HRAS. Adanya aktivasi efektor jalur protein H-Ras ditemukan mempengaruhi fungsi sel, termasuk hilangnya sensitivitas terhadap apoptosis, sehingga menyebabkan fenotipe kanker yang lebih agresif (Young *et al.*, 2005).



k. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF)

Angiogenesis merupakan faktor penting dalam pertumbuhan dan penyebaran tumor padat (Bandiera *et al.*, 2012). *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), suatu mediator kunci angiogenesis, berperan dalam meningkatkan proliferasi, *survival*, dan migrasi sel-sel endotel, sehingga memiliki peran esensial dalam pembentukan pembuluh darah (Mukherjee *et al.*, 2017).

Mediator VEGF merupakan suatu faktor seluler yang dapat menginduksi pembentukan pembuluh darah, meningkatkan permeabilitas kapiler, menstimulasi mitosis endotel, dan berperan penting dalam pembentukan sistem pembuluh darah baru dan perkembangan neoplasma maligna. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekspresi VEGF yang berlebihan berhubungan dengan prognosis yang lebih buruk (Li *et al.*, 2004). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa angiogenesis yang diperantarai oleh VEGF merupakan bagian penting pada awal karsinogenesis ovarium. Salah satu cara jalur sinyal PI3K memiliki kemampuan tumorigenesis adalah dengan meregulasi sekresi VEGF dan pembentukan angiogenesis (Moghaddam *et al.*, 2012).

Angiogenesis penting untuk pertumbuhan, invasi, dan metastasis tumor padat setelah fase avaskuler, karena tumor primer tidak dapat tumbuh tanpa adanya angiogenesis (Mukherjee *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018). Angiogenesis memungkinkan asupan nutrisi yang dibutuhkan oleh tumor dan menjaga hubungan tumor dengan pembuluh darah pasien (Guo & Lu, 2018). Duncan *et al* (2008) menunjukkan bahwa pasien kanker dengan ekspresi VEGF yang tinggi memiliki angka kemungkinan hidup yang lebih rendah daripada pasien dengan ekspresi VEGF sedang atau rendah. Selain berperan dalam angiogenesis, VEGF juga ditemukan berhubungan dengan proliferasi dan migrasi sel tumor (Wang *et al.*, 2018). Pada kasus kanker ovarium, VEGF menyebabkan timbulnya ascites

maligna akibat kemampuannya untuk meningkatkan permeabilitas pembuluh darah (Guo & Lu, 2018).

Angiogenesis merupakan salah satu target penelitian mengenai *targeted therapy*, karena perannya yang besar dalam progresivitas tumor. Sudah terdapat beberapa jenis agen antiangiogenik yang disetujui oleh FDA (Food and Drug Administration), antara lain bevacizumab, sorafenib, lenvatinib, sunitinib, sorafenib, dan ramucirumab (Raicu *et al.*, 2016). Sampai saat ini, bevacizumab merupakan satu-satunya agen antiangiogenik yang disetujui oleh FDA sebagai terapi kanker ovarium jenis epitel (Vetter dan Hays, 2018).

3. Kondisi yang Mempengaruhi Ekspresi Mediator Karsinogenesis Kanker Ovarium

a. Diabetes melitus

Pasien diabetes melitus dapat mengalami berbagai komplikasi, antara lain polineuropati diabetikum yang ditandai oleh hiperalgesia dan peningkatan NGF pada tahap awal kelainan, serta gejala neuropati ireversibel dan penurunan ekspresi NGF pada tahap lanjut. Ekspresi NGF merupakan komponen penting dalam mempertahankan fungsi neuron sensorik ganglion radiks dorsalis, suatu struktur yang dapat mengalami kerusakan akibat diabetes melitus (Nori *et al.*, 2013).

Selain mengalami komplikasi pada sistem saraf, pasien diabetes melitus juga dapat mengalami komplikasi pada sistem pembuluh darah. Komplikasi mikrovaskuler, hipoksia sel, dan peningkatan ekspresi lemak darah dapat mempengaruhi sintesis dan sekresi VEGF. Ekspresi VEGF ditemukan lebih tinggi pada populasi dengan diabetes melitus daripada populasi tanpa diabetes melitus (Guo *et al.*, 2014).

b. Penyakit kardiovaskuler

Iskemia miokardium memicu respons angiogenik spontan dengan tujuan memperbaiki aliran darah ke miokardium, salah satunya dengan mengaktivasi jalur sinyal NGF. Pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan peningkatan ekspresi NGF pada area periinfark, mengindikasikan bahwa iskemia mempengaruhi ekspresi NGF (Meloni *et al.*, 2010). Dalam penelitian lain ditemukan adanya peningkatan ekspresi p-Akt pada mencit yang mengalami iskemia atau gangguan reperfusi (Chen *et al.*, 2016).

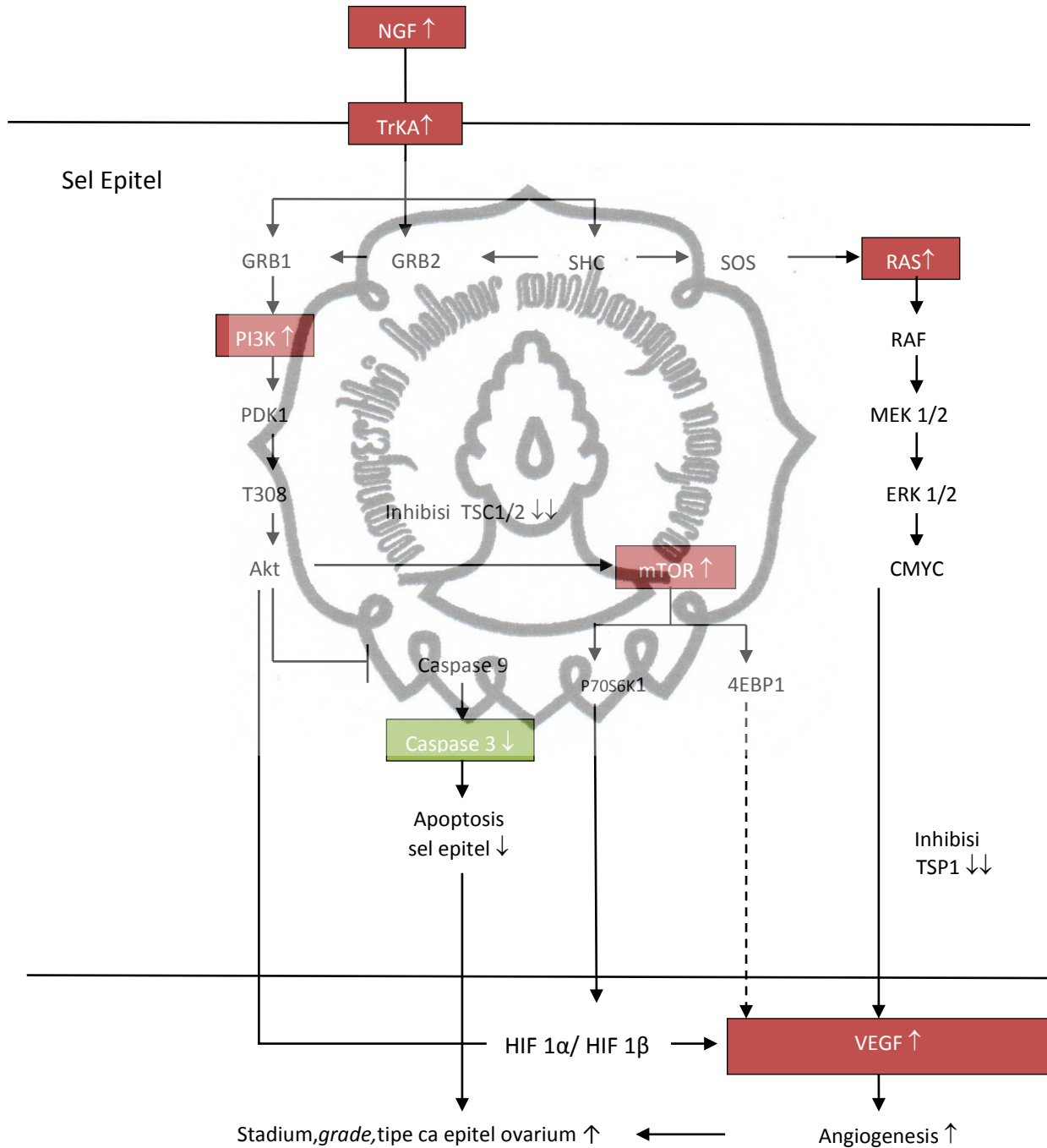
c. Penyakit liver

Reaksi fibrosis merupakan suatu bagian dari gangguan liver kronis dan sel stelat hepar merupakan mediator utama reaksi fibrosis. Dalam proses penyembuhan reaksi fibrosis, sel stelat hepar mengalami apoptosis yang disebabkan oleh interaksi NGF dan reseptor p75NTR (Oakley *et al.*, 2003). Ekspresi NGF ditemukan meningkat pada pasien fibrosis hepatitis, sedangkan ekspresi p75NTR ditemukan meningkat pada pasien sirosis hepatitis (Amoras Eda *et al.*, 2015).

d. Penyakit ginjal

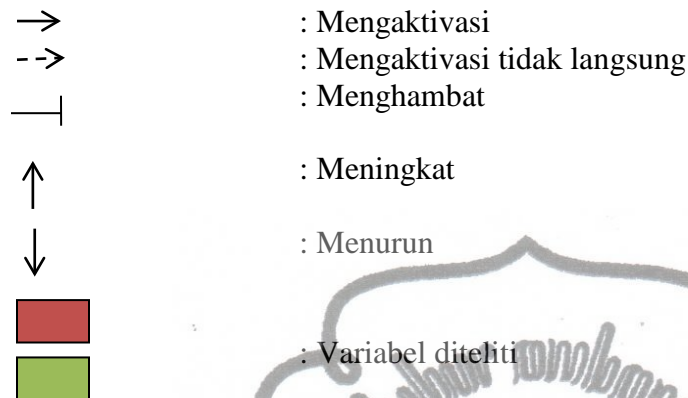
Ekspresi ekspresi NGF ditemukan meningkat pada pasien dengan berbagai penyakit ginjal, seperti glomerulonefritis dan penyakit ginjal kronis stadium akhir. Selain itu, berbagai penyakit ginjal juga mempengaruhi ekspresi TrkA yang merupakan reseptor NGF. Hemodialisa ditemukan dapat mengembalikan konsentrasi NGF serum (Antonucci *et al.*, 2009).

B. Kerangka Teori



Gambar 2.6. Kerangka Teori

Keterangan bagan kerangka teori:



Penjelasan kerangka teori:

Nerve growth factor mengaktivasi beberapa kaskade pada sel neuron. Salah satu dari kaskade tersebut adalah jalur PI3K (phosphoinositide -3- kinase) atau jalur AKT (serine/threonin-protein kinase), kedua protein tersebut berfungsi penting dalam memediasi kemampuan bertahan hidup sel neuron pada berbagai keadaan. Mediator NGF berikatan dengan reseptor tirosine kinase TrkA, dengan adanya ikatan ini maka akan menginduksi pergerakan dari kompleks molekul adaptor Shc/Gbr2. Selanjutnya kompleks ini akan mengaktifkan subunit PI3K-*regulatory* melalui Grb2 – associated protein Gab1, atau aktivitas tersebut melalui jalur yang berbeda. Aktivitas tersebut bisa dilakukan juga melalui jalur SOS (guanine nucleotide exchange factor)/ H-RAS (p21 protein). Kedua jalur ini akan mengaktivasi PI3K catalytic subunit. Kemudian PI3K akan bergerak menuju daerah disekitar membran plasma, setelah itu catalytic subunit dari PI3K akan menghasilkan phosphonositide 3,4,5-truphosphate (PtdIns(3,4,5)p3), selanjutnya protein tersebut akan memicu terjadinya translokasi dari AKT dan memulai aktivasi dari kerja kaskade tersebut.

Protein kinase B akan menghambat kerja apoptosis dengan menghasilkan umpan balik negatif pada sitoplasma dan nukleus. Pada kejadian ini AKT akan memfosforilasi protein Bcl-2 proapoptosis yang disebut BAD, dan apoptosis-related

cystein protease caspase 9, dan akan menghambat kemampuan propapoptosis enzim tersebut.

Mediator PI3K dan AKT secara garis besar terdapat di sitoplasma sel, tapi mereka juga sering didapati berada di dalam nukleus, atau bertranslokasi ke dalam nukleus dikarenakan ada stimulasi dari luar dan enzim tertentu.

Aktivitas antiapoptosis NGF juga dapat diperantarai melalui PtdIns(3,4,5)p3 dan AKT yang terdapat pada nukleus oleh penguat PI3K yang terdapat pada nukleus yaitu PIKE (PI3K enhancer). Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23) juga merupakan perantara efek antiapoptosis dari NGF dengan menghambat aktivitas fragmentasi DNA dari caspase-activated Dnase (DFF40). Mediator karsinogenesis PI3K yang terdapat pada nukleus dapat mengaktifkan AKT yang terdapat pada nukleus dengan melalui PtdIns(3,4,5)p3. Aktivasi dari AKT ini mekanismenya masih belum diketahui secara jelas, tapi menghasilkan kerja yang sama, yang kemudian akan menghambat caspase-activated Dnase (DNFF40) yang merupakan pemicu aktivitas fragmentasi DNA.

Salah satu efektor lain yang diaktivasi oleh Akt adalah mTOR yang teraktivasi melalui inhibisi kompleks TSC1/2. Aktivasi mTOR menyebabkan modulasi proliferasi sel (Dobbin dan Landen, 2013). Mediator mTOR dapat membentuk dua kompleks protein yang berbeda, yaitu mTOR kompleks 1 (mTORC1) dan 2 (mTORC2) (Saxton & Sabatini, 2017). Kedua kompleks protein ini berperan dalam regulasi sintesis protein yang diperlukan untuk pertumbuhan dan proliferasi sel (Zarogoulidis dkk, 2014). Kompleks mTORC1 terbentuk atas tiga komponen utama: mTOR, Raptor (regulatory protein associated with mTOR) dan mLST8 (mammalian lethal with Sec13 protein 8), sedangkan mTORC2 terbentuk atas mTOR, mLST8, dan Rictor (rapamycin insensitive companion of mTOR) (Saxton & Sabatini, 2017). Jalur sinyal mTOR diaktivasi oleh sinyal ekstraseluler, seperti faktor pertumbuhan, nutrisi, dan kadar oksigen melalui jalur PI3K/Akt. Sinyal ekstraseluler mengaktifkan mTORC1 yang kemudian menyebabkan fosforilasi dan aktivasi efektor mTORC1, yaitu S6K1 dan 4EBP-1. Aktivasi efektor mTORC1

menyebabkan inisiasi proses translasi. Fungsi dan aktivitas mTORC2 masih belum sepenuhnya dipahami, tetapi diduga diaktivasi melalui jalur PI3K dan mTORC1.

Gen S6K1 berperan sebagai regulator umpan balik negatif dalam jalur PI3K/mTOR, sehingga inhibisi S6K1 menyebabkan induksi sinyal PI3K dan aktivasi mTOR (Al-Ali dkk, 2017). Gen S6K1 memiliki dua isoform, yaitu p70S6K1 dan p85S6K1. Kedua isoform tersebut dapat diproduksi oleh proses transkripsi yang sama, tetapi melalui inisiasi translasi yang berbeda. S6K1 diduga berhubungan dengan progresivitas kanker (Kim dkk, 2008).

Eukaryotic initiation factor 4E binding protein merupakan suatu regulator penting dalam proses translasi seluler. Aktivitas 4EBP diatur oleh mTOR (Teleman dkk, 2005). Pada kanker stadium lanjut, 4EBP secara tidak langsung menyebabkan peningkatan ekspresi VEGF untuk meningkatkan angiogenesis dan kemampuan tumor untuk bertahan hidup (Qin dkk, 2016).

Selain mTORC1, NGF juga mempengaruhi proses angiogenesis melalui kaskade RAS. Mediator NGF yang berikatan dengan reseptor TrkA akan menginduksi Grb2 mengaktifkan SOS. Kemudian SOS akan memfosforilasi RAS yang menjadi aktif. RAS dalam keadaan aktif akan mengaktifkan RAF. Kemudian memngaktifkan protein kinase MEK1/2 yang mengaktifasi ERK1/2. Protein kinase ERK 1/2 akan mempengaruhi cMyc yang merupakan regulator gen pro-onkogen. cMyc akan menghambat kerja enzim pada nukleus sehingga fragmentasi DNA menjadi terhambat. Kemudian replikasi dari TSP1 menurun, sehingga tidak ada umpan balik negatif pada VEGF. Angiogenesis menjadi tidak terkontrol karena tidak ada umpan balik negatif pada VEGF.