

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Kanker Serviks

a. Definisi

Kanker serviks merupakan suatu keganasan yang melibatkan tumbuhnya jaringan abnormal pada leher rahim (serviks). Kanker serviks ini utamanya berasal dari kanalis servikalis (Liebrich *et al.*, 2009; Hoover *et al.*, 2011). Umumnya, serviks memiliki fungsi sebagai pintu utama antara rahim dengan dunia luar (vagina), merupakan tempat keluarnya darah ketika wanita menstruasi, serta menjadi bantalan ringan ketika hubungan seksual dan trauma persalinan terjadi. Atas fungsinya yang banyak tersebut menjadikan serviks menjadi sarang penyakit (Kumar *et al.*, 2007).

b. Epidemiologi

Berdasarkan Globocan (2018) pada tahun 2018 insidensi kanker serviks uteri di dunia sebesar 569.847 kasus dan angka mortalitasnya sebesar 311.365 kasus. Sementara untuk data di Indonesia sendiri insidensi kanker serviks uteri sejumlah 32.469 kasus dan prevalensi selama 5 tahun terakhir sebesar 84.201 kasus, sehingga menjadikan kanker serviks uteri merupakan kanker nomor dua dengan insidensi dan prevalensi tertinggi di Indonesia setelah kanker payudara (Arbyn *et al.*, 2020). Kanker adalah pertumbuhan sel atau jaringan yang tidak terkendali yang tidak mati saat seharusnya. Sebuah laporan WHO dari 2012 menyatakan bahwa sekitar 80% kematian akibat kanker terjadi di negara-negara berpenghasilan menengah dan negara-negara berkembang seperti Indonesia. Data Riskesdas tahun 2013 menunjukkan angka prevalensi kanker di Indonesia hingga 1.4% atau sebanyak 347.792 orang. Tidak hanya itu, prevalensi kanker terbesarnya merupakan kanker serviks sebesar 0.8% lalu diikuti dengan kanker payudara sebanyak 0.5% (Kemenkes RI, 2015).

Program pengendalian kanker dilakukan untuk semua jenis kanker, tetapi saat ini di Indonesia, hanya dua kanker yang diprioritaskan adalah kanker serviks dan kanker payudara. Kanker serviks adalah kanker yang terjadi di leher rahim. Menurut WHO, kanker serviks sering menyerang wanita di seluruh dunia. Berdasarkan data dari WHO (2012), perkiraan kejadian kanker serviks di Indonesia adalah 170 per 100.000 wanita (Kemenkes RI, 2015).

c. Etiologi

Kanker serviks terjadi akibat infeksi genital dengan HPV, yang dikenal sebagai karsinogen manusia. Meskipun infeksi HPV dapat ditularkan melalui rute nonseksual, sebagian besar merupakan hasil dari kontak seksual. Akibatnya, faktor risiko utama yang diidentifikasi dalam studi epidemiologi adalah sebagai berikut (Hoover *et al.*, 2011; Jemal *et al.*, 2011):

- 1) Seks di usia muda
- 2) Bergonta-ganti pasangan seksual
- 3) Pasangan pria yang tidak sehat
- 4) Mempunyai riwayat penyakit menular seksual

Infeksi HIV dikaitkan dengan peningkatan 5 kali lipat pada risiko kanker serviks, mungkin karena gangguan respon imun terhadap infeksi HPV. Paparan dietilstilbestrol dalam rahim juga dikaitkan dengan peningkatan risiko *CIN grade 2* atau lebih tinggi (de Sanjose *et al.*, 2010).

d. Patofisiologi

Kanker serviks umumnya terjadi pada suatu daerah pada batas antara lapisan epitel ektoserviks (porsio) dan endoserviks kanalis serviks yang disebut sebagai *squamo-columnar junction* (SCJ)/ sambungan skuamo kolumnar (SSK). Pada lapisan ini ditinjau secara histologi terdapat perubahan dari epitel skuamosa berlapis dari epitel ektoserviks dengan epitel kuboid atau kolumnar selapis bersilia dari epitel endoserviks. Faktor usia, paritas, dan aktivitas seksual mempengaruhi lokasi dan letak dari SSK. Pada wanita muda SSK berada diluar dari lubang ostium

uteri eksternum, tetapi pada wanita dewasa (>35 tahun) umumnya SSK berada di dalam kanalis servikalis (Bouvard *et al.*, 2009). Lokasi dari SSK yang diluar ostium uteri eksternum ini menyebabkan SSK menjadi rentan terhadap mutagen pemicu perubahan morfologi sel SSK tersebut. Sementara itu wanita dengan aktivitas seksual yang tinggi akan menyebabkan letak SSK berada pada ostium eksternum, hal ini disebabkan karena retraksi otot karena prostaglandin atau trauma (Porras *et al.*, 2009).

Secara fisiologis, epitel serviks akan selalu mengalami perubahan berdasarkan waktu pada kehidupan seorang wanita. Epitel skuamosa akan menggantikan epitel kolumnar, merupakan suatu proses metaplasia yang terjadi karena pengaruh dari pH vagina yang minimal. Ketika masa pubertas, aktivitas metaplasia ini menjadi sangat tinggi. Akibat proses metaplasia ini akan terbentuk 2 SCJ, yang pertama SCJ asli lalu terdapat SCJ baru yang menjadi tempat pertemuan antara epitel skuamosa baru dengan epitel kolumnar. Diantara kedua daerah SCJ tersebut merupakan daerah transformasi (Porras *et al.*, 2009).

Terjadi mutasi sel pada proses karsinogenesis. Salah satu agen penyebab kanker yang paling penting adalah virus DNA. Asam nukleat virus dapat menyatu ke dalam gen dan DNA sel host. Sel lalu akan mengalami suatu proses mutasi yang selanjutnya berkembang lebih lanjut menjadi sel displastik. Kelainan pada sel ini disebut sebagai displasia. Displasia mencakup pengertian berbagai gangguan maturasi epitel skuamosa yang secara sitologik dan histologik berbeda dari epitel normal, tetapi tidak memenuhi persyaratan sel karsinoma. Displasia dibagi menjadi displasia ringan, sedang, dan berat, kemudian berkembang menjadi karsinoma in-situ, dan kemudian terus berkembang hingga menjadi karsinoma invasif. Perbedaan derajat displasia didasarkan atas tebal epitel yang mengalami kelainan dan berat ringannya kelainan pada sel. Sedangkan karsinoma in-situ adalah gangguan maturasi epitel skuamosa yang menyerupai karsinoma invasif tetapi membrana basalis masih utuh (Kumar *et al.*, 2007; Porras *et al.*, 2009).

Infeksi *human papillomavirus* (HPV) harus ada untuk terjadinya kanker serviks. wanita yang aktif secara seksual cenderung memiliki persentasi tinggi

untuk terkena infeksi HPV. Pada umumnya, 90% infeksi HPV dapat hilang dengan sendirinya tanpa gejala sisa, meskipun laporan sitologi dalam 2 tahun setelah infeksi dapat menunjukkan lesi intraepitel skuamosa tingkat rendah. Hanya sekitar 5% dari keseluruhan total infeksi HPV yang dapat mengembangkan lesi CIN grade 2 atau 3 (prekursor kanker serviks) dalam 3 tahun setelah terjadi infeksi. Selanjutnya, dalam waktu 5 tahun dari CIN grade 2 atau 3 tersebut hanya 20% yang dapat terus berkembang menjadi kanker serviks invasif dan hanya 40% lesi CIN 3 berkembang menjadi kanker serviks invasif dalam 30 tahun. Kecilnya peran infeksi HPV dalam perkembangan suatu sel menjadi sel kanker menjadikan peneliti harus mempertimbangkan faktor-faktor lain dalam proses karsinogenesis. Faktor-faktor berikut telah dipostulatkan untuk mempengaruhi perkembangan lesi CIN 3 (Solomon *et al.*, 2007):

- 1) Jenis dan lamanya infeksi virus, dengan tipe HPV risiko tinggi dan infeksi persisten yang memprediksi risiko pengembangan yang lebih tinggi; tipe HPV risiko rendah tidak menyebabkan kanker serviks,
- 2) Kondisi inang yang membahayakan imunitas (mis. Status gizi buruk, imunokompromis, dan infeksi HIV),
- 3) Faktor lingkungan (mis., merokok dan defisiensi vitamin),
- 4) Kurangnya akses ke skrining sitologi rutin.

Faktor ginekologi juga memiliki peran yang signifikan dalam meningkatkan risiko infeksi HPV. Keadaan seperti berhubungan seksual pada usia dini serta memiliki jumlah pasangan yang tinggi dapat meningkatkan risiko infeksi HPV. Penggunaan kontrasepsi oral selama 5 tahun atau lebih juga telah dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker serviks, peningkatan risiko dapat mencerminkan risiko yang lebih tinggi untuk infeksi HPV di antara wanita yang aktif secara seksual (Kumar *et al.*, 2007; Solomon *et al.*, 2007).

Kerentanan genetik terhadap kanker serviks yang disebabkan oleh infeksi HPV telah diidentifikasi melalui studi kembar dan kerabat tingkat pertama lainnya, serta studi asosiasi genome-lebar. Wanita yang memiliki kerabat biologis tingkat pertama yang terkena memiliki risiko relatif 2 kali lipat terkena tumor serviks

dibandingkan dengan wanita yang memiliki kerabat tingkat pertama nonbiologis dengan tumor serviks. Kerentanan genetik menyumbang kurang dari 1% dari kanker serviks (Solomon *et al.*, 2007).

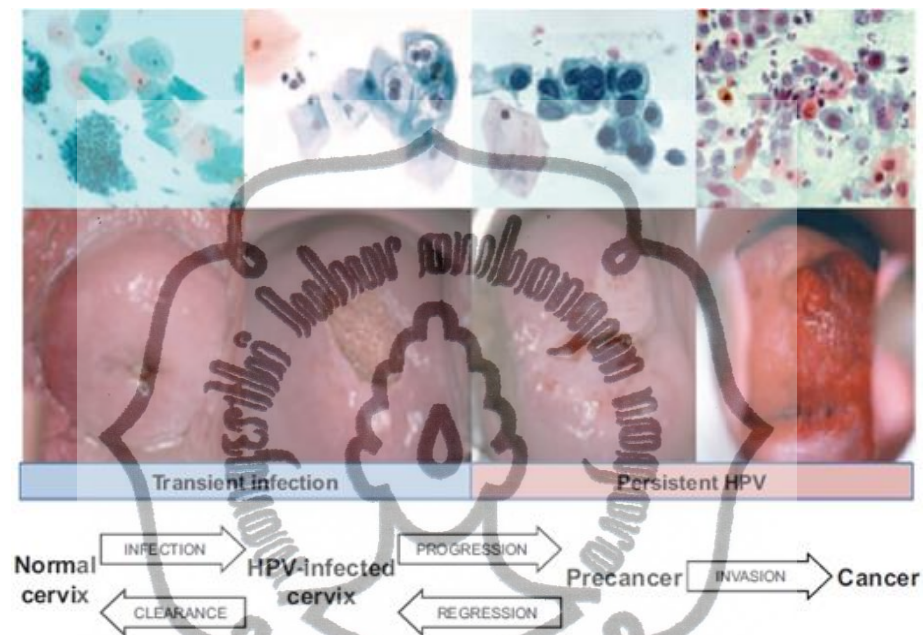
Perubahan genetik pada beberapa kelas gen telah dikaitkan dengan kanker serviks. *Tumor necrosis factor* (TNF) terlibat dalam memprakarsai komitmen sel terhadap apoptosis, dan gen TNFa-8, TNFa-572, TNFa-857, TNFa-863, dan TNF G-308A telah dikaitkan dengan kejadian kanker serviks yang lebih tinggi. Polimorfisme pada gen lain yang terlibat dalam apoptosis dan perbaikan gen, TP53, telah dikaitkan dengan peningkatan tingkat infeksi HPV yang berlanjut menjadi kanker serviks (Kumar *et al.*, 2007).

Pada lesi oleh HPV risiko rendah DNA virus tidak terintegrasi ke genom pejamu, dan tetap berada dalam bentuk episomal bebas. Sebaliknya, pada HPV tipe risiko tinggi seperti tipe 16 dan 18 memiliki gen yang setelah terintegrasi ke sel penjamu akan mengkode protein yang menghambat dan atau menginaktivkan gen penekan tumor seperti TP53 dan RB1 di sel epitel sasaran serta mengaktifkan gen terkait siklus sel seperti siklin E sehingga terjadi proliferasi sel yang tidak terkendali (Kumar *et al.*, 2007; Solomon *et al.*, 2007).

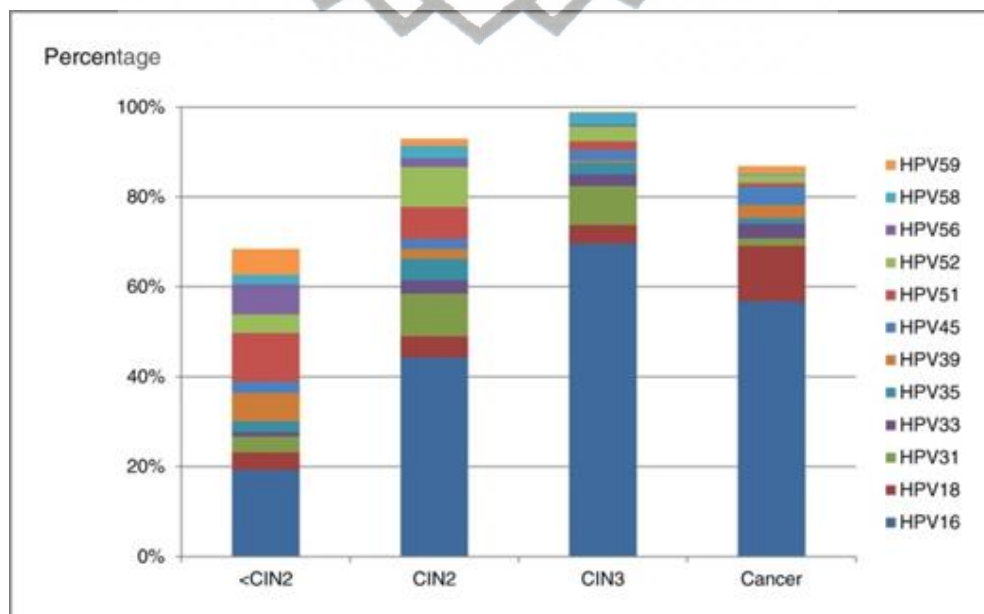
e. Karsinogenik pada Kanker serviks

Sebagian besar kasus kanker serviks dikaitkan dengan infeksi HPV. Namun, infeksi HPV saja tidak selalu cukup untuk menyebabkan kanker serviks. Infeksi HPV terjadi dengan rusaknya epitel sehingga HPV dapat menempel dan menginfeksi sel basal, biasanya di zona transformasi serviks. Infeksi HPV biasanya bersifat sementara, terutama pada wanita yang berusia kurang dari 30 tahun. Sebagian besar infeksi (91%) hilang dalam 3 tahun. Durasi rata-rata infeksi adalah 8 bulan untuk jenis HPV risiko tinggi. Semakin lama infeksi HPV risiko tinggi berlanjut, semakin besar risiko prekanker. Tahapan karsinogenesis kanker serviks meliputi (CDC, 2019):

- 1) Infeksi HPV
- 2) Persisten
- 3) Perkembangan lesi prekursor tingkat tinggi atau "prekanker"
- 4) Invasi



Gambar 2.1. Tahapan Karsinogenesis Kanker Serviks (CDC, 2019)



Gambar 2.2. Tipe-tipe HPV (CDC, 2019)

f. Stadium pada Kanker Serviks

Penentuan stadium yang digunakan pada Kanker serviks adalah berdasarkan FIGO (*Federation of Gynecology and Obstetrics*) tahun 2018 (FIGO, 2018)

Tabel 2.1 Stadium Kanker serviks

STADIUM FIGO	KRITERIA
I	Tumor hanya terbatas pada serviks
IA	Karsinoma invasif yang hanya bisa di diagnosis secara mikroskopis, dengan kedalaman invasi maksimum $\leq 5 \text{ mm}^2$
IA1	Invasi stroma kedalaman $\leq 3 \text{ mm}$
IA2	Invasi stroma kedalaman $\geq 3 \text{ mm}$ dan $\leq 5 \text{ mm}$
IB	Karsinoma invasif dengan kedalaman terdalam $>5 \text{ mm}$ (lebih besar dari stage IA), lesi terbatas pada serviks uteri
IB1	Karsinoma invasive $\geq 5 \text{ mm}$ kedalaman invasi stromal dan $\leq 2 \text{ cm}$ dimensi terbesarnya
IB2	Karsinoma invasif $\geq 2 \text{ cm}$ dan $\leq 4 \text{ cm}$ dimensi terbesarnya
IB3	Karsinoma invasif $\geq 4 \text{ cm}$ dimensi terbesarnya
II	Karsinoma invasi hingga melebihi uterus tetapi belum mencapai 1/3 vagina bagian bawah atau ke dinding pelvis
IIA	Tumor invasi ke dalam 1/3 vagina atas tanpa keterlibatan parametrium
IIA1	Ukuran tumor tidak lebih dari 4 cm dengan keterlibatan dari duapertiga vagina atas

	IIA2	Ukuran tumor lebih dari 4 cm dengan keterlibatan dari duapertiga vagina atas
	IIB	Tumor invasi ke parametrium bilateral atau unilateral tanpa mencapai ke dinding pelvis
III		Tumor menyebar ke dinding pelvis dan atau mencapai 1/3 distal vagina dan atau menyebabkan hidronefrosis atau gangguan ginjal dan atau menyebar hingga ke limfa nodus pelvis dan atau limfa nodus paraaorta
	IIIA	Tumor invasi mencapai 1/3 distal vagina, tetapi belum mencapai dinding pelvis
	IIIB	Tumor invasi ke dinding samping pelvis, dan atau hidronefrosis, dan atau gangguan ginjal
	IIIC	Keterlibatan limfa nodus pelvis dan atau limfa nodus paraaorta
	IIIC1	Metastasis hanya pada limfa nodus pelvis
	IIIC2	Metastasis hingga ke limfa nodus paraaorta
IV		Tumor invasi ke luar pelvis mayor dan atau invasi ke kandung kemih dan mukosa rektum
	IVA	Tumor invasi ke mukosa kandung kemih atau mukosa rektum
	IVB	Tumor metastasis jauh

2. Radioterapi

Terapi radiasi (juga disebut radioterapi) adalah terapi untuk kanker yang menggunakan radiasi dosis tinggi untuk membunuh sel kanker dan mengecilkan ukuran tumor. Pada dosis rendah, radiasi digunakan dalam rontgen untuk melihat bagian dalam tubuh seperti pada rontgen gigi atau rontgen tulang. Radiasi tidak hanya membunuh atau memperlambat pertumbuhan sel kanker, tetapi juga dapat mempengaruhi sel-sel sehat di sekitarnya. Kerusakan sel-sel sehat dapat menyebabkan efek samping (*National Institutes of Health*, 2020d).

a. Dasar radioterapi

Radiasi adalah agen fisik, yang digunakan untuk menghancurkan sel kanker. Energi yang disimpan ini dapat membunuh sel kanker atau menyebabkan perubahan genetik yang mengakibatkan kematian sel kanker. Radiasi sinar tampak, sinar-X dan sinar- γ , dikelompokkan dalam gelombang elektromagnetik atau dikenal dengan istilah spektrum elektromagnetik (Liauw *et al.*, 2013). Pada spektrum ini, gelombang radio dengan panjang gelombang $\geq 10^{-7}$ nm dan memiliki energi < 12 eV termasuk ke dalam radiasi non-ionik, seperti sinar inframerah, sinar tampak, sinar ultraviolet, sedangkan gelombang radio dengan energi > 12 eV, seperti sinar-X dan sinar- γ disebut radiasi pengion (Baskar *et al.*, 2012; Liauw *et al.*, 2013). Radiasi yang digunakan disebut radiasi pengion karena ia membentuk ion (partikel bermuatan listrik) dan menyimpan energi dalam sel jaringan yang dilewatinya. Sel kanker akan mengalami kematian sel kanker disebabkan oleh energi yang tersimpan tersebut (*National Institutes of Health*, 2020d). radiasi dengan energi yang tinggi adalah radiasi pengion, mampu melepaskan elektron dari orbit atom sehingga terbentuk muatan/terionisasi. Radiasi pengion ini contohnya adalah elektromagnetik dan radiasi partikel (Baskar *et al.*, 2012).

1) Radiasi elektromagnetik

Radiasi elektromagnetik merupakan radiasi ketika energi dibawa oleh osilasi medan listrik dan medan magnet yang merambat pada kecepatan cahaya, contohnya radiasi sinar-X dan sinar- γ dan merupakan jenis yang paling umum digunakan dalam radioterapi. Sinar-X diproduksi saat elektron berkecepatan tinggi bertabrakan dengan material yang memiliki nomor atom tinggi seperti tungsten-molibdenum pada anoda tabung sinar-X, sedangkan sinar gamma secara fisik identik dengan sinar-X, namun dipancarkan dari inti atom (*intranuclearly*) atau berasal dari *radioactive decay* seperti Cobalt-60, Radium dan Cesium. Inti atom yang tidak stabil melepaskan energi berlebihnya dalam bentuk elektron intranuklear (partikel beta) atau inti helium (sebuah partikel alfa). Jika masih memiliki kelebihan energi setelah itu, sinar gamma dipancarkan untuk mencapai *steady state* (Baskar *et al.*, 2012).

2) Radiasi partikel

Radiasi partikel adalah radiasi yang terdiri dari partikel atom atau subatomik (elektron dan proton) yang membawa energi dalam bentuk energi kinetik atau massa yang bergerak. Radiasi partikel terdiri dari *elektron*, *proton* dan *neutron beams*. *Electron beams* merupakan salah satu metode konvensional yang telah lebih dahulu digunakan. Biasanya digunakan dalam terapi radiasi sehari-hari dan sangat berguna pada terapi tumor yang dekat dengan permukaan tubuh karena tidak menembus ke dalam jaringan. Proton beams merupakan radiasi partikel yang lebih baru digunakan untuk mengobati kanker. Radiasi ini memiliki distribusi dosis yang lebih baik karena profil penyerapannya yang unik dalam jaringan yang dikenal sebagai puncak Bragg (*Bragg peak*) sehingga memungkinkan terjadi pengendapan energi destruktif dengan maksimal di lokasi tumor dan meminimalkan kerusakan pada jaringan sehat di sepanjang jalur kerjanya. Dalam aplikasi klinis, radiasi ini sangat berguna untuk terapi tumor pediatrik dan dewasa yang berada di dekat bagian vital seperti tumor tulang belakang dan tumor tengkorak, karena paparan radiasi terhadap jaringan normal sangat penting untuk diminimalkan (Zhuang *et al.*, 2014; Malicki, 2015). *Neutron beams* mampu mendeposit energi secara maksimal

pada target jaringan di ujung lintas terapinya. Secara keseluruhan radiasi partikel memiliki *Linear Energy Transfer* (LET) yang lebih tinggi daripada radiasi foton, namun karena biaya produksinya yang mahal penggunaan jenis radiasi ini masih terbatas (Malicki, 2015).

3) Mekanisme radioterapi

Target utama dari terapi radiasi adalah kerusakan molekul DNA pada jaringan target. Secara umum ada 2 jenis mekanisme kerusakan DNA akibat radiasi pengion, yaitu ionisasi langsung dan tidak langsung. Kerusakan karena ionisasi langsung biasanya disebabkan oleh radiasi partikel yang terjadi karena energi kinetik partikel dapat langsung merusak struktur atom jaringan biologi yang dilewatinya, sedangkan ionisasi tidak langsung umumnya disebabkan oleh radiasi elektromagnetik dengan cara membentuk elektron sekunder/ radikal bebas yang akan berinteraksi dengan DNA menyebabkan kerusakan (Zhuang *et al.*, 2014). Kerusakan ini dapat berupa *single strand breaks* (SSB) dan *double strand breaks* (DSB). Kerusakan pada salah satu untai DNA (SSB) masih dapat diperbaiki oleh sel, sedangkan kerusakan pada untai ganda seringkali menyebabkan kematian sel (Ho *et al.*, 2013).

Terapi radiasi dapat mencapai efek terapeutiknya dengan menginduksi kematian sel melalui beberapa cara, yaitu (Baskar *et al.*, 2014; Malicki, 2015):

a) Apoptosis

Apoptosis adalah suatu bentuk kematian sel terprogram yang ditandai dengan kondensasi/ fragmentasi kromatin, penyusutan sel, dan pengelupasan selaput membran sel. Dalam responnya terhadap radiasi, apoptosis terutama diamati pada sel sistem hematopoietik (Malicki, 2015).

b) Autofagi

Autofagi merupakan proses sel mencerna bagian dari sitoplasmanya sendiri untuk menghasilkan makromolekul dan energi. Hal ini ditandai dengan penyerapan protein dan/ atau organel dalam vesikel autofagi besar yang disebut *autophagosomes*, lalu peleburan dari vesikula dengan lisosom

menyebabkan pembentukan *autophagolysosomes* dan degradasi konten di dalamnya menyediakan bahan untuk sintesis dan regenerasi de novo. Terdapat hubungan antara autofagi dengan apoptosis karena autofagi ditemukan pada sel saat gagal mengalami apoptosis dan autofagi termasuk kematian sel terprogram tipe II (apoptosis adalah tipe I) (Baskar *et al.*, 2012).

c) Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel yang tidak terkontrol, terjadi karena kondisi lingkungan yang ekstrim seperti perubahan pH ekstrim, kehilangan energi atau ketidakseimbangan ion, dapat terjadi karena infeksi, inflamasi, ataupun iskemia. Nekrosis ditandai dengan deformasi membran, penggembungan selular, kerusakan organel, dan pelepasan enzim lisosomal yang menyerang sel. Nekrosis juga sering diamati pada sel tumor dan dapat terjadi karena kerusakan DNA akibat radiasi meskipun belum jelas bagaimana mekanisme terjadinya nekrosis pasca radiasi (Malicki, 2015).

d) *Senescence*

Senescence merupakan keadaan sel secara permanen kehilangan kemampuannya untuk membelah, akan tetapi sel masih memiliki kemampuan metabolisme dan tidak menunjukkan perubahan fungsional (Malicki, 2015).

e) Kematian Mitosis

Proses ini terjadi ketika sel mengalami proses mitosis yang tidak tepat akibat kerusakan DNA yang tidak diperbaiki, hal ini sering terjadi setelah proses irradiasi. Dalam hal ini kematian sel didefinisikan sebagai kehilangan kemampuan replikasi dan ketidakmampuan sel untuk memisahkan materi genetik dengan benar (Malicki, 2015).

b. Jenis radioterapi

Radioterapi dapat digunakan sebagai terapi kuratif, paliatif maupun profilaksis (preventif). Terapi kuratif biasanya berbentuk terapi tunggal untuk penyembuhan suatu kanker, contohnya digunakan dalam kasus limfoma Hodgkin tahap awal, kanker nasofaring, beberapa kanker kulit, dan kanker glotis awal. Terapi paliatif bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup dengan cara menghilangkan gejala-gejala kanker dengan menerapkan dosis radiasi paliatif. Penerapannya antara lain pada kasus maternal otak dan tulang serta sindroma vena cava superior. Terapi profilaksis (preventif) merupakan terapi yang bertujuan untuk mencegah kemungkinan metastasis atau kejadian berulang melalui penerapan radioterapi, contohnya adalah *whole-brain radiotherapy* untuk leukemia limfoblastik akut dan kanker paru-paru sel kecil (*National Institutes of Health, 2020d*).

Berdasarkan waktu penggunaannya, radioterapi terdiri dari radioterapi adjuvan yang diberikan setelah dilakukannya metode pengobatan tertentu, radioterapi neoadjuvan, dan radiokemoterapi. Radioterapi neoadjuvan dilakukan sebelum dilakukannya tindakan dengan metode lain, misalnya radioterapi preoperasi, sedangkan radiokemoterapi yaitu pemberian radioterapi yang dilakukan bersamaan dengan kemoterapi (*National Institutes of Health, 2020d*).

Penghantaran radiasi terhadap lokasi kanker dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu radioterapi eksternal dan *brachytherapy* (*endocurietherapy* atau disebut *sealed-source radiotherapy*). Radioterapi eksternal adalah radioterapi yang dipaparkan ke tubuh secara eksternal menggunakan mesin perawatan, sedangkan pada *brachytherapy*, sumber radiasi temporer atau permanen ditempatkan ke dalam rongga tubuh, metode ini digunakan dalam perawatan rutin kanker ginekologi dan prostat serta pada situasi yang membutuhkan perawatan berulang (*National Institutes of Health, 2020d*).

1) Brachytherapy

Brachytherapy adalah jenis terapi radiasi internal di mana biji (*seeds*), pita, atau kapsul yang mengandung sumber radiasi ditempatkan di tubuh pasien, di dalam atau di dekat tumor. *Brachytherapy* adalah perawatan lokal dan hanya menarget bagian tertentu dari tubuh pasien. Ini sering digunakan untuk mengobati kanker kepala dan leher, payudara, leher rahim, prostat, dan mata (*National Institutes of Health*, 2020a).

Kebanyakan *brachytherapy* ditempatkan melalui kateter, yang merupakan tabung kecil dan elastis. Terkadang, *brachytherapy* dilakukan melalui perangkat yang lebih besar yang disebut aplikator. Cara *brachytherapy* dilakukan tergantung pada jenis kanker pasien. Teknik untuk menempatkan *brachytherapy* meliputi (*National Institutes of Health*, 2020a):

- a) *Brachytherapy* interstitial, di mana sumber radiasi ditempatkan di dalam tumor. Teknik ini digunakan untuk kanker prostat.
- b) *Intracavity brachytherapy*, di mana sumber radiasi ditempatkan di dalam rongga tubuh atau rongga yang diciptakan oleh operasi. Misalnya, radiasi dapat ditempatkan di vagina untuk mengobati kanker serviks atau endometrium.
- c) *Brachytherapy episcleral*, di mana sumber radiasi melekat pada mata. Teknik ini digunakan untuk mengobati melanoma mata.

Setelah kateter atau aplikator dipasang, sumber radiasi ditempatkan di dalamnya. Sumber radiasi dapat disimpan di tempat selama beberapa menit, selama beberapa hari, atau selama sisa hidup pasien. Berapa lama tetap di tempat tergantung pada jenis sumber radiasi, jenis kanker pasien, di mana kanker berada di tubuh pasien, kesehatan pasien, dan perawatan kanker lain yang pasien lakukan. Ada tiga jenis *brachytherapy* (Dasari *et al.*, 2017):

- a) Implan *low-dose rate* (LDR): Pada jenis *brachytherapy* ini, sumber radiasi ditanam selama 1 hingga 7 hari. Pasien mungkin berada di rumah sakit selama

waktu ini. Setelah perawatan pasien selesai, dokter akan mengambil sumber radiasi dan kateter atau aplikator.

- b) Implan *high-dose rate* (HDR): Pada jenis *brachytherapy* ini, sumber radiasi dibiarkan hanya selama 10 hingga 20 menit pada satu waktu dan kemudian dikeluarkan. Pasien mungkin mendapatkan perawatan dua kali sehari selama 2 hingga 5 hari atau seminggu sekali selama 2 hingga 5 minggu. Jadwal tergantung pada jenis kanker pasien. Selama perawatan, kateter atau aplikator pasien mungkin tetap di tempatnya, atau mungkin dipasang sebelum setiap perawatan. Seperti halnya implan LDR, dokter akan melepas kateter atau aplikator setelah pasien menyelesaikan perawatan.
- c) Implan permanen: Setelah sumber radiasi dipasang, kateter dilepas. Implan tetap berada di tubuh pasien selama sisa hidupnya, tetapi radiasi semakin lemah setiap hari. Seiring berjalannya waktu, hampir semua radiasi akan hilang. Ketika radiasi pertama kali dipasang, pasien mungkin perlu membatasi waktu di sekitar orang lain dan mengambil langkah-langkah keamanan lainnya.

2) External Beam Therapy

External Beam Therapy atau terapi radiasi sinar eksternal berasal dari mesin yang bertujuan melakukan radiasi pada kanker pasien. Ini adalah perawatan lokal, yang berarti menarget bagian tubuh pasien secara spesifik. Sebagai contoh, jika pasien memiliki kanker di paru-paru, maka radiasi hanya akan dilakukan ke dada pasien, bukan ke seluruh tubuh (*National Institutes of Health*, 2020b).

Terapi radiasi sinar eksternal digunakan untuk mengobati berbagai jenis kanker. Atom radiasi yang digunakan dalam terapi radiasi eksternal berasal dari tiga jenis partikel: foton, proton, elektron (*National Institutes of Health*, 2020b).

- 1) Foton: Sebagian besar mesin terapi radiasi menggunakan sinar foton. Foton juga digunakan dalam sinar-x, tetapi sinar-x menggunakan dosis yang lebih rendah. Sinar foton dapat mencapai tumor yang berada jauh di dalam tubuh. Ketika mereka melakukan perjalanan melalui tubuh, sinar foton menyebarkan

sedikit radiasi di sepanjang jalan mereka. Partikel ini tidak berhenti begitu mencapai tumor, tetapi masuk ke jaringan normal melewatinya.

- 2) Proton: Proton adalah partikel dengan muatan positif. Partikel proton juga dapat mencapai tumor jauh di dalam tubuh. Namun, proton tidak menyebarkan radiasi di jalur mereka melalui tubuh dan mereka berhenti begitu mencapai tumor. Peneliti berpendapat bahwa sinar proton dapat mengurangi jumlah jaringan normal yang terpapar radiasi. Uji klinis sedang dilakukan untuk membandingkan terapi radiasi menggunakan proton dengan yang menggunakan sinar foton. Beberapa pusat kanker menggunakan sinar proton dalam terapi radiasi, tetapi biaya tinggi dan ukuran mesin membatasi penggunaannya.
- 3) Elektron: Elektron adalah partikel dengan muatan negatif. Berkas elektron tidak dapat berjalan jauh melalui jaringan tubuh. Karena itu, penggunaannya terbatas pada tumor di kulit atau di dekat permukaan tubuh.

Ada banyak jenis terapi radiasi sinar eksternal, yang semuanya memiliki tujuan untuk memberikan dosis radiasi tertinggi yang ditentukan kepada tumor sambil menyisakan jaringan normal di sekitarnya. Setiap jenis bergantung pada komputer untuk menganalisis gambar tumor untuk menghitung dosis dan jalur pengobatan yang paling tepat (Begg *et al.*, 2011).

- 1) Terapi radiasi konformal 3-D
- 2) Terapi radiasi modulasi intensitas (IMRT)
- 3) Terapi radiasi dengan panduan gambar (IGRT)
- 4) *Tomotherapy*®
- 5) *Stereotactic radiosurgery*
- 6) Terapi radiasi tubuh stereotaktik

Para peneliti sedang mencari berbagai cara untuk menyesuaikan dosis atau jadwal radiasi untuk mencapai dosis total radiasi lebih cepat atau untuk membatasi kerusakan sel-sel sehat. Berbagai cara pemberian dosis radiasi total meliputi:

- 1) Fraksinasi yang dipercepat, yaitu perawatan yang diberikan dalam dosis harian atau mingguan yang lebih besar untuk mengurangi jumlah minggu perawatan.
- 2) *Hyperfractionation*, yang merupakan dosis lebih kecil dari dosis radiasi harian yang biasa diberikan lebih dari sekali sehari.
- 3) Hipofraksi, yaitu dosis yang lebih besar diberikan sekali sehari atau kurang sering untuk mengurangi jumlah perawatan.

Para peneliti berharap jadwal yang berbeda ini untuk memberikan radiasi mungkin lebih efektif dan menyebabkan lebih sedikit efek samping daripada cara biasa melakukannya atau menjadi efektif tetapi lebih nyaman (Begg *et al.*, 2011).

c. Efek Samping Radioterapi

Efek radiasi pada jaringan normal dibagi menjadi efek akut dan kronis (terlambat). Efek akut terjadi selama terapi dan selama periode *posttherapy* (sekitar 2-3 minggu setelah selesainya kursus iradiasi). Efek kronis dapat bermanifestasi kapan saja setelahnya, dari minggu ke tahun setelah perawatan. Pasien biasanya paling terganggu oleh efek akut, tetapi dokter setidaknya sama-sama peduli tentang efek kronis. Efek akut bisa sangat tidak nyaman, tetapi umumnya sembuh. Efek kronis dapat menghancurkan, permanen, dan progresif (Schreiber, 2018).

1) Efek akut

Sebagian besar upaya yang dilakukan dalam perencanaan perawatan berkaitan dengan meminimalkan efek perawatan pada jaringan normal. Jaringan yang membelah dengan cepat (misalnya, membran mukus) merespons radiasi secara akut dan bertanggung jawab atas banyak morbiditas akut dari perawatan. Membran mukus rongga mulut dan orofaring merespons awal radiasi fraksinasi. Eritema sering muncul setelah 1 minggu perawatan dengan dosis konvensional. Kondisi ini berkembang selama beberapa minggu ke depan melalui berbagai tahap *mucositis*, mulai dari tambalan kecil hingga daerah yang bertemu atau bahkan mengalami ulserasi. Mati rasa adalah efek akut umum dari pengobatan. Mati rasa dimulai lebih awal dan berkembang

pesat selama 2 minggu kedua perawatan. Pasien biasanya melaporkan ketajaman berkurang, sensasi aneh, atau benar-benar tidak ada rasa. Xerostomia sering hadir dan memperburuk kondisi mati rasa ini. Kondisi ini sering disertai dengan nafsu makan yang buruk dan penurunan berat badan. Pemulihan rasa adalah proses yang lambat dan, seringkali, tidak sempurna (Schreiber, 2018).

Kelenjar saliva utama (yaitu, parotid dan submandibular gland) bertanggung jawab atas hampir 80% dari produksi saliva. Kelenjar parotis terutama terdiri dari asin serosa, sedangkan kelenjar submandibular menghasilkan sekresi mukosa dan serosa. Kelenjar ludah minor, yang didistribusikan ke seluruh mukosa mulut, menghasilkan sekresi lendir yang sebagian besar. Radiasi mempengaruhi volume dan produksi air liur, serta komposisinya. Penurunan pH saliva dan penurunan volume merupakan kontributor signifikan terhadap perubahan flora mukosa oral dan membuat pasien cenderung mengalami karies. Produksi saliva berkurang dengan cepat dengan pengobatan, menurun hampir 50% setelah seminggu perawatan. Pasien sering menggambarkan saliva kental, ulet, keras, yang dapat membuat bicara menjadi sulit selain memengaruhi proses menelan dan rasa (Schreiber, 2018).

Ketika kebutuhan untuk iradiasi kulit ada (misalnya, ketika tumor melibatkan kulit atau ketika kulit adalah target dalam pengobatan kanker sel basal), teknik ini disesuaikan sehingga reaksi kulit yang cepat muncul. Penggunaan radiograf *ortovoltage* yang kurang penetrasi, perawatan dengan elektron, atau penambahan bahan bolus setara jaringan yang ditempatkan di atas bidang radiasi dapat menghindari pengelompokan kulit. Bahkan dengan perawatan *megavoltage*, penyamakan kulit dan deskuamasi kering dapat terjadi. Penambahan obat kemoterapi tertentu dapat meningkatkan efek kulit dan lainnya. Radiasi dapat menginduksi produksi melanin, yang sering kali pertama kali diamati pada folikel kulit karena invaginasi kulit ini menerima dosis yang sedikit lebih tinggi ketika sinar masuk secara tangensial ke

permukaan. Sensitivitas kulit meningkat karena perawatan. Dalam situasi di mana kulit gundul (yaitu, deskuamasi lembab), area tersebut harus dijaga kebersihannya untuk mencegah superinfeksi. *Reepithelialization* bergerak secara terpusat dari tepi lapangan dan umumnya selesai dalam waktu 3 minggu sebelum penyelesaian pengobatan (Schreiber, 2018).

Kelenjar keringat dan kelenjar sebaceous dapat berhenti berfungsi, tetapi kerontokan rambut biasanya bersifat sementara. Pertumbuhan kembali terbukti dalam beberapa minggu setelah penghentian terapi (Dasari *et al.*, 2017).

2) Efek kronis (terlambat)

Dua teori utama digunakan untuk menjelaskan efek samping yang terlambat. Satu teori mengaitkan cedera kronis dengan kerusakan mikrovaskatur, dan teori lainnya mengaitkan cedera dengan penipisan sel induk. Dalam kedua kasus tersebut, efek yang terlambat dapat menjadi sumber morbiditas yang berkelanjutan setelah menjalani terapi radiasi. Seperti efek akut, efek kronis terkait dengan lokasi, dosis, volume, dan waktu. Terapi lain, seperti operasi dan kemoterapi, dapat meningkatkan kemungkinan dan tingkat keparahan morbiditas terkait radiasi (Schreiber, 2018).

Radiasi dosis tinggi ke leher dapat menyebabkan fibrosis, terutama dalam pengaturan pasca operasi, di mana leher dapat mengembangkan tekstur kayu dan memiliki gerakan terbatas. Demikian juga, otot pengunyahan dapat mengembangkan fibrosis, yang dapat menyebabkan trismus. Oleh karena itu, pasien harus diinstruksikan untuk memulai latihan peregangan otot rahang mereka sesegera mungkin setelah operasi. Obstruksi limfatik kulit menyebabkan limfedema, yang mungkin berhubungan dengan episode erisipelas intermiten. Penyembuhan luka yang tertunda dapat menjadi konsekuensi dari radiasi pra operasi dosis tinggi. Telangiektasis dapat muncul beberapa saat setelah terapi radiasi di daerah yang dirawat tanpa teknik hemat

kulit, seperti penggunaan elektron, iradiasi tangensial, dan penambahan bahan bolus yang disengaja (Dasari *et al.*, 2017).

Kehilangan fungsi saliva biasanya lengkap setelah dosis sederhana radiasi ke kelenjar parotis. Laju aliran basal berkorelasi dengan respons terhadap terapi radiasi. Dengan dosis 40-60 Gy, kurang dari 20% pasien memiliki aliran saliva yang dapat diukur. Dengan dosis lebih rendah dari 30 Gy, beberapa fungsi dapat kembali setelah 6-12 bulan. Namun, pada dosis melebihi 50 Gy, xerostomia biasanya tidak dapat diubah. Mulut kering mungkin merupakan masalah paling umum bagi pasien yang menerima dosis radiasi terapi. Banyak pendekatan telah dicoba dalam upaya untuk mengatasi masalah ini. Pilocarpine 5 mg 3 kali sehari telah terbukti merangsang fungsi saliva residual. Beberapa pasien menggunakan pengganti air liur buatan, tetapi sebagian besar pasien merasa tidak adekuat. Banyak pasien harus membawa botol air untuk memberikan bantuan (Dasari *et al.*, 2017).

Badan Pengawas Obat dan Makanan AS (FDA) baru-baru ini menyetujui penggunaan amifostin intravena (IV) sebagai agen radioprotektan. Diberikan dalam dosis harian, amifostin harus digunakan dalam pencegahan xerostomia akibat radiasi dalam pengaturan pasca operasi. Kekhawatiran tentang perlindungan tumor tampaknya tidak beralasan. Kerugian (misalnya, mual, hipotensi, kebutuhan untuk injeksi setiap hari, dan biaya yang besar) dapat membatasi penerimaannya yang luas. Pemberian subkutan, meskipun bukan penggunaan berlabel, tampaknya sama-sama efektif dan dikaitkan dengan toksisitas yang lebih sedikit (Schreiber, 2018).

Terapi radiasi yang dimodulasi intensitasnya (IMRT) adalah pendekatan yang tersedia untuk pencegahan xerostomia. Pada saat perencanaan perawatan, ahli onkologi radiasi menggunakan algoritma perencanaan terbalik yang memungkinkan penghindaran selektif dari jaringan normal yang kritis tanpa mengurangi dosis tumor. Kegunaan potensial lainnya untuk IMRT termasuk kemampuan untuk memberikan dosis biologis yang lebih tinggi ke jaringan target dan dosis biologis yang

lebih rendah untuk jaringan nontarget, sehingga meningkatkan rasio terapeutik (Dasari *et al.*, 2017).

Beberapa sistem perencanaan dan sistem pengiriman saat ini tersedia atau sedang dalam tahap pengujian. Laporan awal sangat menggembirakan. Sebagai konsekuensi dari nyeri mulut dan perubahan diet selama pengobatan dan xerostomia setelah perawatan, flora dan pH oral dapat diubah secara signifikan. Tanpa perawatan gigi yang teliti selama dan setelah terapi radiasi, pasien cenderung mengalami karies dan pembusukan yang dipercepat. Jaringan oral dan gingiva dapat mengalami atrofi setelah iradiasi, yang menghasilkan lapisan tipis pucat dengan bukti pembuluh *telangiectatic* (Dasari *et al.*, 2017).

Ulserasi dan pajanan tulang dapat terjadi. Jika cedera serius pada tulang yang mendasarinya terjadi, *osteoradionecrosis* dapat terjadi. Untungnya, komplikasi ini jarang terjadi. Ketika hal itu terjadi, pengelolaan kondisi mungkin sulit. Meskipun kesabaran penting, beberapa kasus jelas memerlukan intervensi, yang meliputi terapi antibiotik, terapi oksigen hiperbarik, dan reseksi. Iradiasi medula spinalis dapat menyebabkan mielitis transversal terbatas yang dikenal sebagai sindrom Lhermitte. Pasien mengeluhkan sensasi seperti sengatan listrik yang paling menonjol dengan fleksi leher. Jarang kondisi ini berkembang menjadi mielitis transversal sejati dengan sindrom Brown-Séquard yang terkait. Untuk menghindari komplikasi yang parah ini, dosis pada sumsum tulang belakang harus dibatasi (Schreiber, 2018).

Pengobatan sering mempengaruhi kelenjar tiroid baik secara langsung atau sekunder melalui poros hipotalamus-hipofisis. Hipotiroidisme kimia sering merupakan satu-satunya manifestasi dari endokrinopati dan siap diobati dengan persiapan tiroid tambahan. Endokrinopati lain jarang terjadi. Struktur lain yang harus dipertimbangkan selama perencanaan perawatan adalah sistem penglihatan, pendengaran, dan paru-paru. Melebihi toleransi kelenjar lakrimal dapat menyebabkan sindrom mata kering. Lensa sangat

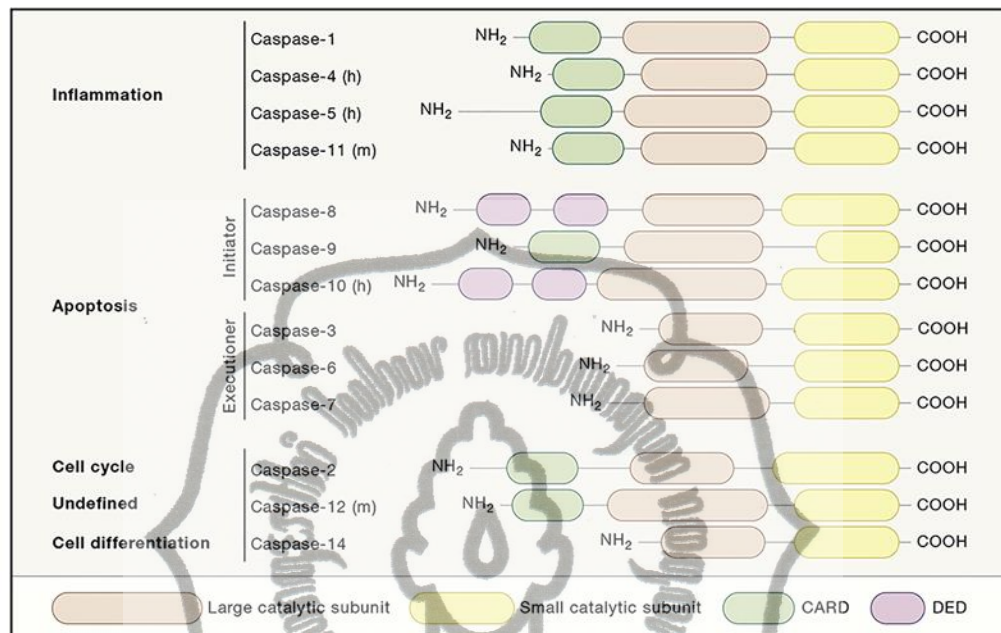
sensitif terhadap radiasi. Iradiasi langsung lensa dengan dosis terapi yang paling umum digunakan menghasilkan pembentukan katarak. Untuk menghindari kehilangan penglihatan, toleransi retina dan saraf optik juga harus dihormati selama perencanaan perawatan. Iradiasi sistem pendengaran dapat menyebabkan otitis serosa atau kemungkinan gangguan pendengaran sensorineural dengan radiasi dosis tinggi. Kanker yang dipicu radiasi, untungnya, jarang terjadi setelah dosis radiasi terapi. Risiko yang jauh lebih besar dari keganasan kedua ditimbulkan oleh mekanisme etiologi dan genetik yang sama yang bertanggung jawab atas tumor primer (Schreiber, 2018).

3. Caspase-7

Caspase-7 adalah enzim pada manusia yang dikode oleh gen CASP7, merupakan caspase eksekutor yang mempunyai peran penting dalam jalur apoptosis. Sedangkan CASP9 merupakan gen pada kromosom 10q25.3 yang mengkode protein keluarga sistein-aspartat asam protease (caspase; salah satunya caspase-7). Caspase merupakan keluarga dari protease sistein yang terlibat dalam kematian sel dan respons inflamasi. Mereka terdiri dari domain terminal-amino dengan ukuran yang variabel yang secara berurutan diikuti oleh subunit katalitik besar dan kecil masing-masing ~20kDa dan ~10kDa yang bersama-sama membentuk domain protease (Gambar 2.3) (Van Opdenbosch & Lamkanfi, 2019).

Klasifikasi caspase manusia didasarkan dari fungsi, ukuran prodomain, dan spesifisitas pembelahannya. Berdasarkan kriteria pertama tersebut, pengelompokan caspase dibagi menjadi dua kelompok, caspase kelompok I (inflamatorik) yaitu yang terlibat dalam maturasi sitokin, meliputi caspase-1, -4, dan -5, serta caspase kelompok II yaitu yang mengatur apoptosis. Caspase kelompok II dibagi menjadi dua kelas, caspase inisiator (apikal), meliputi caspase-2, -8, -9, dan -10 serta caspase efektor (eksekusi), meliputi caspase -3, -6, dan -7. Caspase efektor secara konstitutif diproduksi dalam sel sebagai dimer dan proses proteolitik oleh enzim inisiator diperlukan untuk memicu aktivitasnya. Jika menjadi aktif, caspase efektor menargetkan spektrum protein seluler yang luas yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel. Berbeda dengan caspase efektor, caspase inisiator ditranslasikan

sebagai zimogen monomer. Pembentuk kompleks multi-komponen memicu dimerisasi caspase inisiator untuk aktivasi mereka (Olsson & Zhivotovsky, 2011).

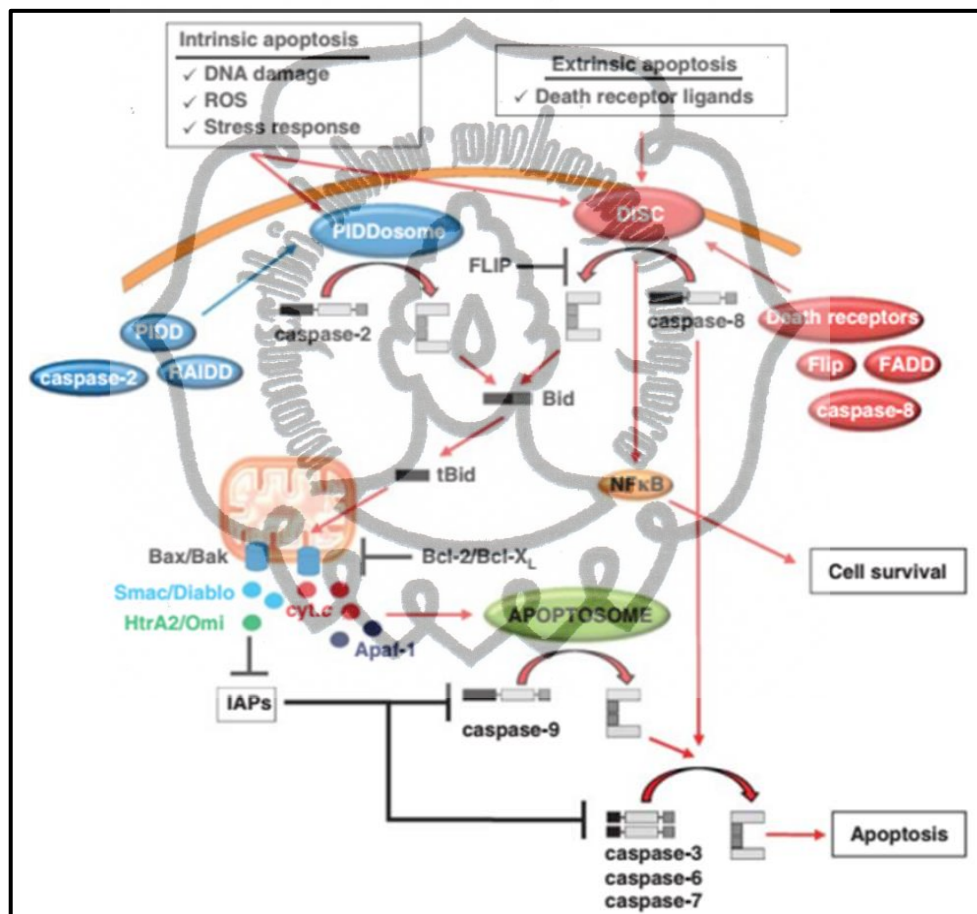


Gambar 2.3. Klasifikasi fungsional dan arsitektur domain murine dan Caspase manusia (Van Opdenbosch & Lamkanfi, 2019)

Daerah terminal amino dari caspase inisiator berisi domain perekrutan caspase (*caspase recruitment domains/CARD*; caspase 1, 2, 4, 5, 9, 11) atau domain efektor kematian (*death effector domains/DED*; caspase 8, 10) yang mempromosikan perekrutan dan aktivasi mereka dalam kompleks multiprotein. Proses autoaktivasi yang diinduksi oleh kedekatan dari zimogen caspase menjadi protease aktif didorong oleh perubahan konformasi yang diinduksi dimerisasi yang mengarahkan pada eksisi proteolitik dari daerah penghubung fleksibel yang memisahkan prodomain dan subunit katalitik besar dan kecil. Sebaliknya, caspase eksekutor tidak memiliki prodomain amino-terminal dan memerlukan pembelahan oleh caspase inisiator untuk aktivasi mereka (Van Opdenbosch & Lamkanfi, 2019).

Dua jalur apoptosis utama adalah jalur ekstrinsik (yang dimediasi reseptor) dan intrinsik (jalur mitokondria). *Death-inducing signaling complex* (DISC), apoptosome dan *p53-induced protein with a death domain* (PIDD)osome adalah platform perakitan protein yang dapat merekrut caspase-8/-10, -9, dan -2. Awalnya, ligan ekstraseluler menstimulasi oligomerisasi reseptor dan perancangan DISC,

sedangkan nantinya, protein dari keluarga Bcl-2 mengontrol pelepasan faktor yang terlibat dalam pembentukan apoptosome melalui pemeliharaan atau gangguan integritas mitokondria. Aktivitas proteolitik dari caspase-9 dan -3 yang matur dihambat oleh inhibitor protein apoptosis (IAPs). Pada gilirannya, IAP diinaktivasi dan caspase yang dipulihkan oleh beberapa protein, seperti SMAC/Diablo atau HtrA2/Omi, yang dilepaskan dari mitokondria (Olsson & Zhivotovsky, 2011).



Gambar 2.4. Gambaran umum kaskade caspase dan penghambatnya (Olsson & Zhivotovsky, 2011)

Jalur ekstrinsik apoptosis dipicu oleh sinyal ekstraseluler yang disampaikan dalam bentuk ligan yang mengikat reseptor kematian (*death receptor/DRs*). Reseptor kematian adalah anggota dari superfamili *tumor necrosis factor* (TNF) dan termasuk reseptor *TNF-receptor-1* (TNFR1), CD95 (Fas dan APO-1), *death receptor 1* (DR3), *TNF-related-apoptosis-inducing ligand receptor-1* (TRAIL-R1), dan TRAIL-R2. Ligan reseptor kematian termasuk TNF, CD95-ligan (CD95-L;

juga disebut Fas-L), TRAIL (juga disebut Apo2-L), dan TNF-like ligand 1A (TL1A). Pengikatan ligan DR ke DR menyebabkan monomer protein procaspase-8 untuk direkrut melalui DED ke DISC yang dibentuk di ekor sitoplasma DR yang terlibat yang juga mencakup protein adaptor yang terkait dengan FAS domain kematian (FADD) atau domain kematian terkait TNFR (TRADD). Rekrutmen monomer caspase-8 menghasilkan dimerisasi dan aktivasi. Hasil aktivasi caspase-8 yang dimediasi DR bergantung pada jenis sel. Dalam sel tipe I, caspase-8 memulai apoptosis secara langsung dengan membelah dan dengan demikian mengaktifkan caspases eksekutor. Dalam sel tipe II, caspase-8 harus terlebih dahulu mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik untuk menginduksi kematian sel yang efisien (McIlwain *et al.*, 2013).

Jalur apoptosis intrinsik juga dikenal sebagai apoptosis mitokondria karena bergantung pada faktor yang dilepaskan oleh mitokondria. Jalur ini diaktivasi oleh berbagai macam tekanan seluler, termasuk kekurangan faktor pertumbuhan, gangguan sitoskeletal, kerusakan DNA, akumulasi protein yang tidak terlipat, hipoksia, dan banyak lainnya. Stimulus tersebut menyebabkan perubahan pada membran dalam mitokondria yang menghasilkan terbukanya pori *mitochondrial permeability transition* (MPT), hilangnya potensi transmembran mitokondria, dan pelepasan protein pro-apoptosis yang biasanya diasingkan dari ruang intermembran ke dalam sitosol. Protein pro-apoptosis yang dilepaskan diantaranya adalah sitokrom c, Smac/DIABLO, dan serine protease HtrA2/Omi. Caspase inisiator yang bertanggung jawab atas jalur apoptosis intrinsik adalah caspase-9, yang diaktivasi oleh dimerisasi yang diinduksi ketika domain CARD caspase-9 berikatan dengan *adapter protein apoptosis protease-activating factor-1* (APAF1). Sitokrom c mengikat dan mengaktifkan APAF1 serta procaspase-9, membentuk apoptosome. Pengelompokan procaspase-9 dengan cara ini mengarah pada aktivasi caspase-9. Smac/DIABLO dan HtrA2/Omi dilaporkan meningkatkan apoptosis dengan menghambat aktivitas IAP (Elmore, 2007; McIlwain *et al.*, 2013).

Pada peran caspase-7 dalam apoptosis, melalui jalur ekstrinsik dan intrinsik, setelah caspase-8, -9, dan -10 diaktivasi, caspase inisiator tersebut akan memproses

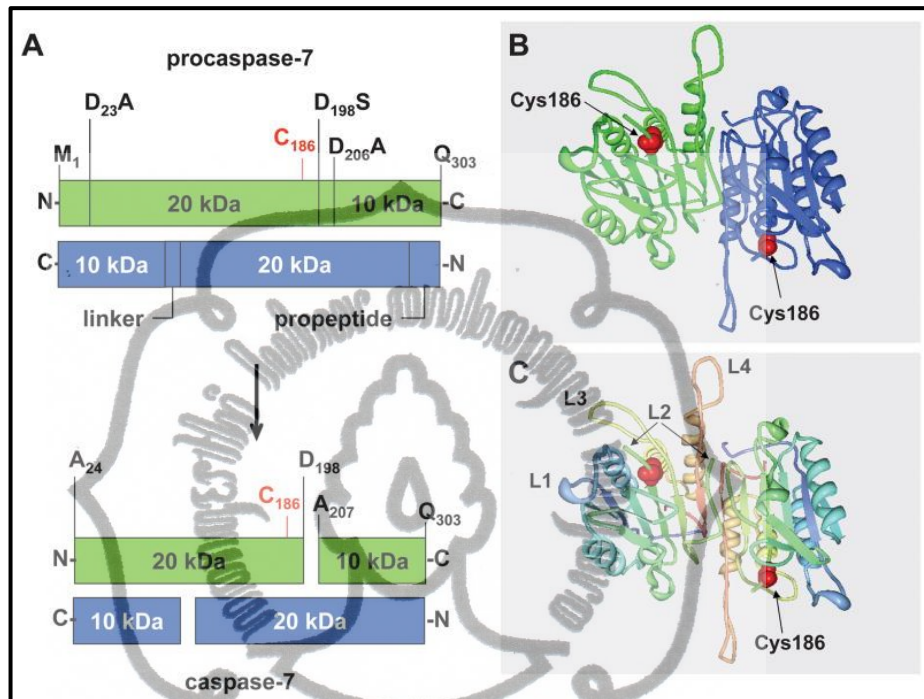
caspase eksekutor caspase-3 dan -7. Caspase-3 dan -7 yang matur membelah sekumpulan besar substrat, yang pada akhirnya menghasilkan ciri khas morfologi dan biokimia dari apoptosis seperti paparan fosfatidilserin, kondensasi nukleus, dan fragmentasi DNA genom (Lamkanfi & Kanneganti, 2010).

Selain aktivasi selama apoptosis, maturasi proteolitik dari caspase-7 juga telah diamati dalam kondisi inflamasi. Menariknya, pada makrofag yang distimulasi dengan lipopolisakarida (LPS) dan ATP atau terinfeksi patogen Gram-negatif *Salmonella typhimurium* dan *Legionella pneumophila*, aktivasi caspase-7 membutuhkan kompleks caspase-1 yang dinamai inflammasome daripada kompleks protein caspase-8 dan -9 terlibat dalam apoptosis. Studi biokimia menunjukkan bahwa caspase-7 adalah substrat langsung dari caspase-1 dengan maturasi terjadi setelah situs aktivasi kanonik Asp23 dan Asp198. Berbeda dengan caspase-7, aktivasi caspase-3 tidak terhambat pada makrofag yang kekurangan caspase-1, menunjukkan bahwa aktivasi caspase-3 dan -7 diatur secara berbeda selama inflamasi (Lamkanfi & Kanneganti, 2010).

a. Struktur Caspase-7

Procaspase-7 dihasilkan sebagai protein yang terdiri dari 303 asam amino yang berada di sitosol sebagai homodimer yang telah dirakit sebelumnya. Secara struktural, homodimernya terdiri dari *12-stranded β -sheet* yang terletak di pusat yang dikelilingi oleh 10 α -heliks. Yang disebut 'lipatan barel α/β terbuka' ini terdiri dari dua unit enzimatis anti-paralel yang tersusun identik, yang masing-masing menyimpan situs aktif tunggal. Setiap unit enzimatis terdiri dari subunit katalitik besar dan kecil masing-masing 20 kDa dan 11 kDa, yang dihubungkan oleh sekuens penghubung dalam zimogen caspase-7 (Gambar 2.5). Daerah penghubung menghalangi pemerintahan situs aktif. Oleh karena itu, penghapusannya oleh caspase inisiator merupakan prasyarat untuk aktivasi caspase-7. Penghapusan daerah penghubung dicapai dengan pemecahan ikatan peptida antara Asp198 dan Ser199 dan antara Asp206 dan Ala20. Hal ini memungkinkan reorganisasi spasial loop L2, L3 dan L4 untuk membentuk situs aktif dan kantong pengikat substrat. Tidak seperti daerah penghubung, propeptida terminal-N tidak mengganggu

aktivasi procaspase-7 secara *in vitro*. Namun demikian, prodomain secara negatif mempengaruhi aktivitas enzimatik caspase-7 dalam sel, meskipun mekanismenya masih belum jelas (Lamkanfi & Kanneganti, 2010).

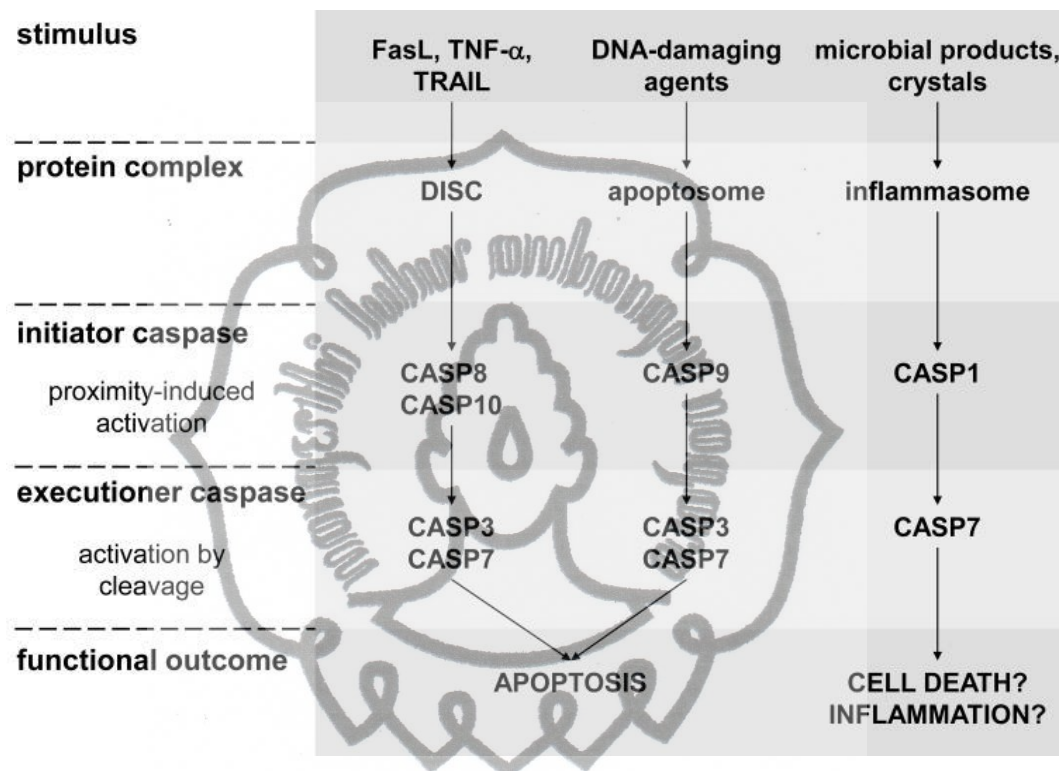


Gambar 2.5. Struktur procaspase-7 dan caspase-7 (Lamkanfi & Kanneganti, 2010)

b. Caspase-7 pada Apoptosis

Terdapat dua pensinyalan independen dari apoptosis yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur ekstrinsik seringkali dipicu oleh ikatan ekstraseluler dari *death receptor ligands* seperti *Fas ligand* (FasL) dan *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) pada reseptor transmembrannya masing-masing. Sinyal kematian tersebut lalu ditransmisikan menuju sitosol oleh reseptor tertentu yang lalu merekrut dan mengaktivasi caspase-8 dan caspase-10. Pada sisi lain, kerusakan DNA yang diinduksi oleh radiasi UV dan obat-obatan kemoterapi memicu rilis sitokrom c mitokondrial menuju sitosol yang lalu akan berhubungan dengan protein Apaf-1 untuk membentuk apoptosom. Kompleks apoptosom ini lalu akan memediasi aktivasi dari caspase-9. Ketika sudah teraktivasi, caspase-8, caspase-9, dan caspase-10 akan memproses caspase eksekusioner yaitu caspase-3 dan caspase-

7. Caspase-3 dan caspase-7 yang matur lalu membelah substrate sel yang akhirnya akan menghasilkan karakteristik morfologi dan biokimiawi dari tanda-tanda apoptosis seperti eksposur fosfatidilserin, kondensasi nuklear, dan fragmentasi genomik DNA (Lamkanfi & Kanneganti, 2010).



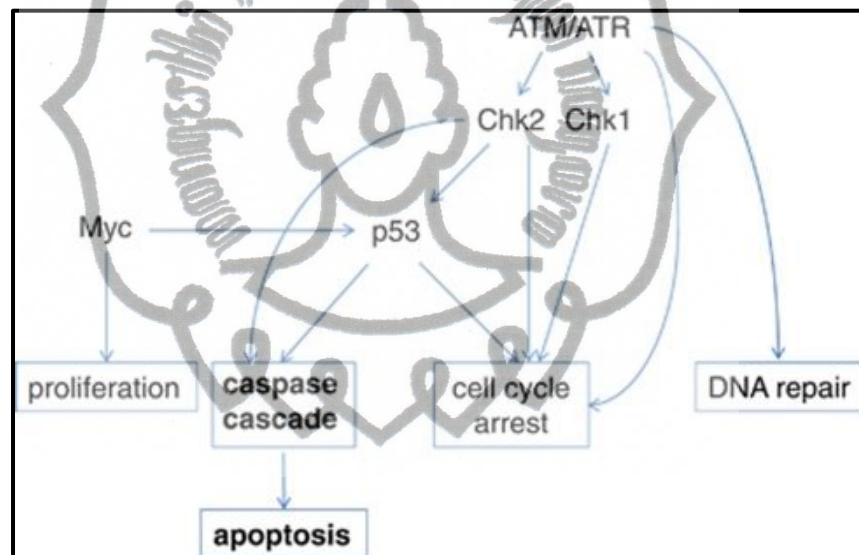
Gambar 2.6 Tinjauan mekanisme aktivasi caspase pada apoptosis

c. Caspase-7 dan Keganasan

1) Apoptosis sebagai Strategi Pertahanan terhadap Tumorigenesis

Andrew Wyllie, salah satu pakar penelitian kematian sel, berhipotesis bahwa gen pro-apoptosis mungkin bekerja sebagai tumor suppressor, sedangkan onkogen dapat memenuhi fungsi antiapoptosis. Meskipun prediksi ini ternyata benar, sebagian besar gen terkait tumorigenesis sejauh ini beroperasi di hulu aktivitas caspase yang mengatur perilaku sel selama terjadi stres. Misalnya, kerusakan genom menyebabkan penundaan dalam perkembangan siklus sel dan memicu respons perbaikan DNA. Kematian sel melalui satu dari beberapa modalitas muncul hanya ketika sel mengalami kerusakan parah yang tidak dapat diperbaiki. Beberapa gen dengan potensi

onkogenik telah diidentifikasi dalam urutan hierarki *ataxia telangiectasia-mutated* (ATM) / *ataxia telangiectasia and Rad3-related* (ATR)– *checkpoint kinase 1/2* (Chk1/Chk2)–*p53 signaling pathway*, yang saling mengkoordinasi proses ini. Sensor kerusakan DNA mentransduksi sinyal menjadi ATM / ATR kinase, yang pada gilirannya memfosforilasi sejumlah besar substrat hilir, termasuk Chk1 dan Chk2. Perubahan pada *tumor suppressor gene* p53 adalah perubahan genetik yang paling sering diamati pada sampel tumor klinis, dan studi epidemiologi yang digabungkan dengan bukti molekuler telah menyimpulkan bahwa beberapa mutasi ATM berkorelasi dengan kerentanan kanker payudara (Olsson & Zhivotovsky, 2011).



Gambar 2.7. Jalur regulasi upstream yang menginduksi apoptosis, cell cycle arrest, perbaikan DNA dan proliferasi (Olsson & Zhivotovsky, 2011)

Jadi, apoptosis hanyalah salah satu dari beberapa kemungkinan hasil yang dimodulasi oleh sistem yang menjaga stabilitas genom. Oleh karena itu, peningkatan kerentanan tumor, karena hilangnya fungsi pada salah satu protein pengatur yang dijelaskan di atas, mungkin juga disebabkan oleh penghentian siklus sel, sintesis atau perbaikan DNA yang tidak memadai. Kesimpulan serupa dapat ditarik sehubungan dengan jalur pensinyalan pengaturan utama lainnya, menyediakan sel dengan beberapa pilihan selama kondisi stres tertentu. Proto-onkoprotein Myc menyinkronkan sejumlah proses fisiologis,

termasuk pertumbuhan dan pembelahan sel, metabolisme, dan diferensiasi. Dereglulasi MYC, sebagai konsekuensi dari kejadian karsinogenik, memaksa sel ke dalam keadaan hiperproliferatif. Namun, aktivasi Myc juga memicu mekanisme penekan tumor intrinsik, termasuk apoptosis, *senescence*, dan respons kerusakan DNA yang bertindak sebagai penghalang perkembangan tumor. Oleh karena itu, meskipun onkogen MYC berkontribusi pada perkembangan berbagai jenis kanker pada manusia, hal ini tidak selalu terjadi karena pensinyalan apoptosis yang tidak berfungsi (Olsson & Zhivotovsky, 2011).

Protein tumor supresor dan proto-onkogen dengan efek langsung pada aktivitas caspase dapat ditemukan di antara gen-gen yang ditransregulasi p53 yang menyimpan fungsi spesifik apoptosis. Dalam limfoma folikel manusia, gen antiapoptosis BCL-2 ditranslokasi ke lokus gen rantai-berat imunoglobulin, menghasilkan protein Bcl-2 yang utuh secara fungsional, dan memungkinkan resistensi sel tumor sampai mati. Nilai faktor-faktor pengatur caspase lain sebagai penanda prognostik juga telah dianalisis. Secara khusus, penurunan regulasi antagonis IAP mitokondria, Smac/DIABLO, dikaitkan dengan karsinoma sel ginjal, dan ekspresi berlebihan dari survivin, IAP lain, telah diamati pada sebagian besar garis sel yang ditransformasikan dan kanker yang diuji hingga saat ini, dibandingkan dengan ketiadaannya pada kebanyakan jaringan normal orang dewasa. Meskipun ada bukti yang menunjukkan gangguan pemrosesan caspase-9 secara tidak langsung oleh survivin, malfungsi dari *checkpoint* spindel mitosis dan perkembangan yang menyimpang dari sel yang berubah mungkin disebabkan oleh fungsi non-apoptosis dari IAP ini. Hubungan antara ekspresi berlebihan *X-linked inhibitor of apoptosis protein* (XIAP) dan hasil klinis yang buruk telah dilaporkan pada karsinoma sel ginjal dan leukemia myelogenous akut (AML). Di sisi lain, XAF1 (*XIAP-associated factor 1*), pengatur negatif XIAP yang diekspresikan di mana-mana, ditekan dalam jalur sel kanker tertentu, dan XAF1 yang dibungkam oleh metilasi promotor yang menyimpang telah ditemukan pada tumor lambung (Olsson & Zhivotovsky, 2011).

Cellular FLICE inhibitor protein (c-FLIP) merupakan homolog caspase-8 dan -10 yang tidak aktif secara katalitik, yang dapat mencegah aktivasi mereka dengan menghalangi situs pengikatan pada DISC. Beberapa varian sambungan c-FLIP telah dilaporkan, tetapi tiga isoform utama, c-FLIP_S, c-FLIP_R dan c-FLIP_L, terdeteksi pada tingkat protein. Resistensi terhadap apoptosis yang disebabkan oleh reseptor kematian telah ditemukan terjadi sebagai respons terhadap peningkatan ekspresi c-FLIP_L pada beberapa keganasan, dan karenanya, ditunjukkan bahwa varian ini dapat digunakan sebagai faktor prognostik untuk jenis kanker tertentu. Menariknya, penghambatan aktivasi procaspase-8 dan -10 oleh c-FLIP dapat terjadi oleh lebih dari satu mekanisme. Pada ekspresi pada kanker paru *non-small cell*, c-FLIP menyingkirkan pembentukan DISC dari rakit lipid ke daerah non-rakit dari membran plasma, sehingga menggeser inisiasi apoptosis yang dimediasi caspase-8 menuju kelangsungan hidup sel melalui aktivasi NF- κ B (Olsson & Zhivotovsky, 2011).

2) Apoptosis dan Karsinogenesis

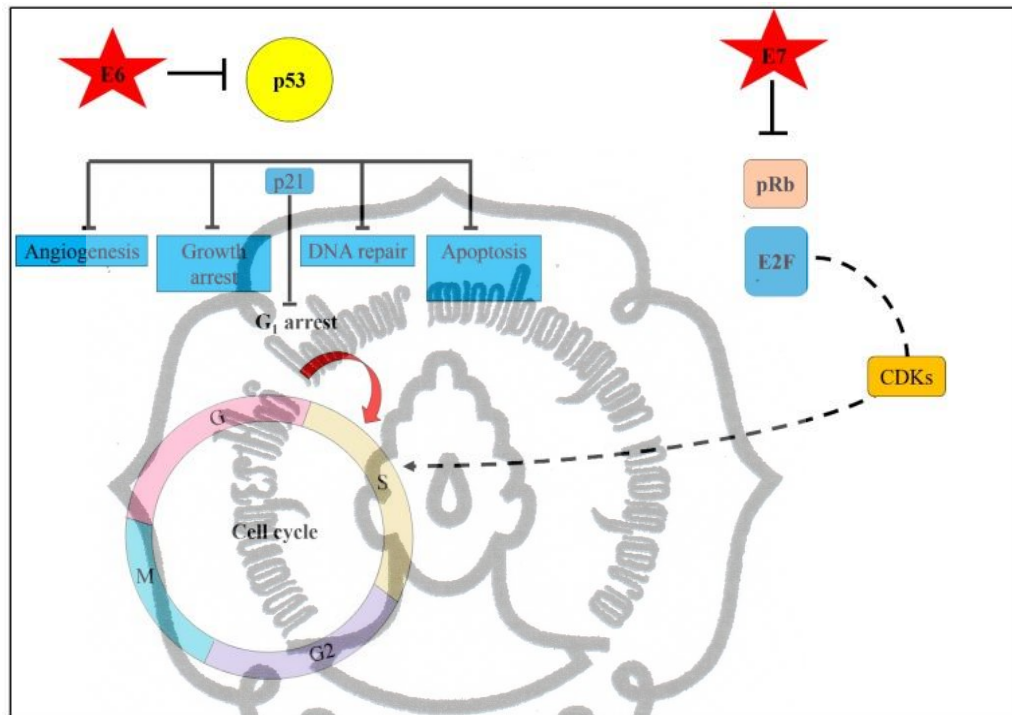
Aktivasi caspase efektor, menyatukan kedua jalur apoptosis ke dalam fase eksekusi. Selama fase ini, kaskade caspase diamati, di mana setiap caspase mengaktifkan beberapa caspase hilirnya. Caspase hilir ini kemudian menurunkan inhibitor deoksiribonuklease, protein sitoskeletal, protein selubung inti, protein reparasi DNA, dan komponen seluler lainnya, sehingga berkontribusi pada berbagai perubahan morfologi yang terkait dengan apoptosis (Tan & Ankathil, 2015).

Karena apoptosis berfungsi sebagai mekanisme alami untuk mengatur jumlah sel, kecacatan pada apoptosis dapat menyebabkan pembentukan massa sel dan, karenanya, memainkan peran penting dalam patogenesis kanker. Selain itu, pada kanker yang dimediasi oleh virus seperti kanker serviks, pemicu apoptosis yang tidak tepat pada sel imun berpotensi memperpanjang efek yang merusak dari infeksi, sehingga menyebabkan kerusakan sel lebih lanjut. Salah satu ciri penting sel kanker adalah kemampuannya untuk

menghindari apoptosis, yang dapat terjadi melalui beberapa cara. Salah satu cara yang memungkinkan sel kanker memperoleh resistensi terhadap apoptosis adalah melalui gangguan terhadap sinyal pro- dan anti-apoptosis yang mengatur permeabilisasi membran mitokondria. Gangguan sinyal apoptosis ini dapat terjadi melalui ekspresi gen yang dideregulasi yang produk proteinnya terlibat langsung dalam transmisi sinyal apoptosis (misalnya, BAX, BAK, BAD, BID, BCL-2, BFL-1, MCL-1) atau melalui ekspresi deregulasi dari gen yang produknya secara tidak langsung mengatur ekspresi dari gen yang disebutkan di atas (misalnya TP53, MDM2). Selain itu, sel kanker dapat memperoleh kecacatan apoptosis melalui gangguan pensinyalan reseptor kematian atau gangguan fungsi caspase. Kecacatan apoptosis ini mencegah sel stres onkogenik memulai program bunuh diri seluler, sehingga berkontribusi pada karsinogenesis (Tan & Ankathil, 2015).

Pada kanker serviks, infeksi HPV sendiri tidak cukup untuk memicu perkembangan kanker. Terdapat beberapa faktor yang terlibat selama periode inkubasi virus pada jaringan penjamu. Onkoprotein HPV, terutama E6 dan E7, memainkan peran penting dalam perubahan fungsi seluler inang. HPV mengekspresikan onkoprotein E6 dan E7 secara berlebihan untuk mengganggu fungsi normal *tumor suppressor gene* pada inang. Setelah integrasi, protein virus mulai merusak sel inang. Sel inang telah mengembangkan mekanisme khusus untuk memperbaiki kerusakan yang ditimbulkan pada DNA mereka melalui respons kerusakan DNA. Hanya setelah DNA yang rusak diperbaiki, *checkpoint* siklus sel dapat dikurangi, dan sel dibiarkan terus membelah. Dalam keadaan tertentu, jika sel tidak dapat memperbaiki kerusakan DNA, maka apoptosis terjadi. Namun, pada kanker terkait HPV, protein virus E6/E7 mengganggu kontrol *checkpoint* siklus sel dengan menghambat inhibitor cyclin dependent kinase (CDK) (p21, p27, p16) serta menurunkan p53 dan retinoblastoma (pRb). Degradasi p53 oleh onkoprotein E6 memungkinkan sel untuk terus bereplikasi. HPV memanfaatkan jalur respons kerusakan ini untuk replikasinya sendiri dan menghasilkan banyak episome HPV, yang diperlukan DNA HPV untuk berintegrasi ke dalam genom inang. Dengan demikian,

degradasi pRb oleh onkoprotein E7 akan menyebabkan ketidakterjadwalan saat memasuki fase S dari siklus sel yang akhirnya mendorong sel untuk berproliferasi (Gambar 2.8) (Balasubramaniam *et al.*, 2019).



Gambar 2.8. Diagram skematis yang menggambarkan peran onkoprotein HPV dalam karsinogenesis serviks (Balasubramaniam *et al.*, 2019)

3) Fungsi Caspase-7 sebagai Tumor Supresor

Caspase-7 memiliki banyak kesamaan dengan caspase-3, keduanya adalah caspase efektor dan merupakan substrat untuk caspase inisiator dalam jalur apoptosis ekstrinsik dan intrinsik. Karena spesifisitasnya yang sebanding terhadap substrat tetrapeptida sintetik, caspase ini dianggap berlebihan secara fungsional. Tingkat keterlibatan mutasi CASP7 dalam perkembangan kanker manusia telah dianalisis dengan mengurutkan seluruh wilayah pengkodean dan semua lokasi sambungan pada kanker solid. Mutasi CASP7 ditemukan pada dua dari 98 karsinoma usus besar, satu dari 50 karsinoma esofagus dan satu dari 33 karsinoma kepala / leher. Ketika mutan caspase-7 yang diturunkan dari tumor ini diekspresikan dalam 293 sel T, apoptosis berkurang dibandingkan dengan kontrol. Selain itu, analisis imunohistokimia menunjukkan penurunan

regulasi caspase-7 dan -9 pada sampel kanker usus besar dibandingkan dengan mukosa normal dari bagian jaringan yang sama. Meskipun caspase efektor memainkan peran penting dalam apoptosis yang efisien, kerusakan masing-masing caspase efektor relatif jarang dilaporkan sebagai titik awal potensial untuk tumorogenesis. Penjelasan yang masuk akal untuk ketidaksesuaian ini mungkin bahwa caspase efektor mampu melakukan peran lebih selama fase eksekusi apoptosis. Atau, karena caspase tampaknya memiliki peran apoptosis yang agak berbeda, mereka mungkin saling mengompensasi, tetapi hanya dalam situasi di mana ketidakaktifan caspase tertentu disebabkan oleh mutasi atau deregulasi lainnya (Olsson & Zhivotovsky, 2011).

d. Efek Radioterapi pada Caspase-7

Radioterapi sendiri atau dalam kombinasi dengan kemoterapi/pembedahan banyak digunakan untuk pengobatan kanker. Pengobatan tersebut mengurangi pertumbuhan tumor dan mencegah metastasis. Sementara radiasi pengion (*ionizing radiation*/IR) mengaktifkan kaskade caspase yang mengakibatkan apoptosis pada sel kanker, radiasi pengion juga merangsang repopulasi sel tumor yang mengarah pada penurunan efektivitas terapi radiasi (Rahmanian *et al.*, 2016).

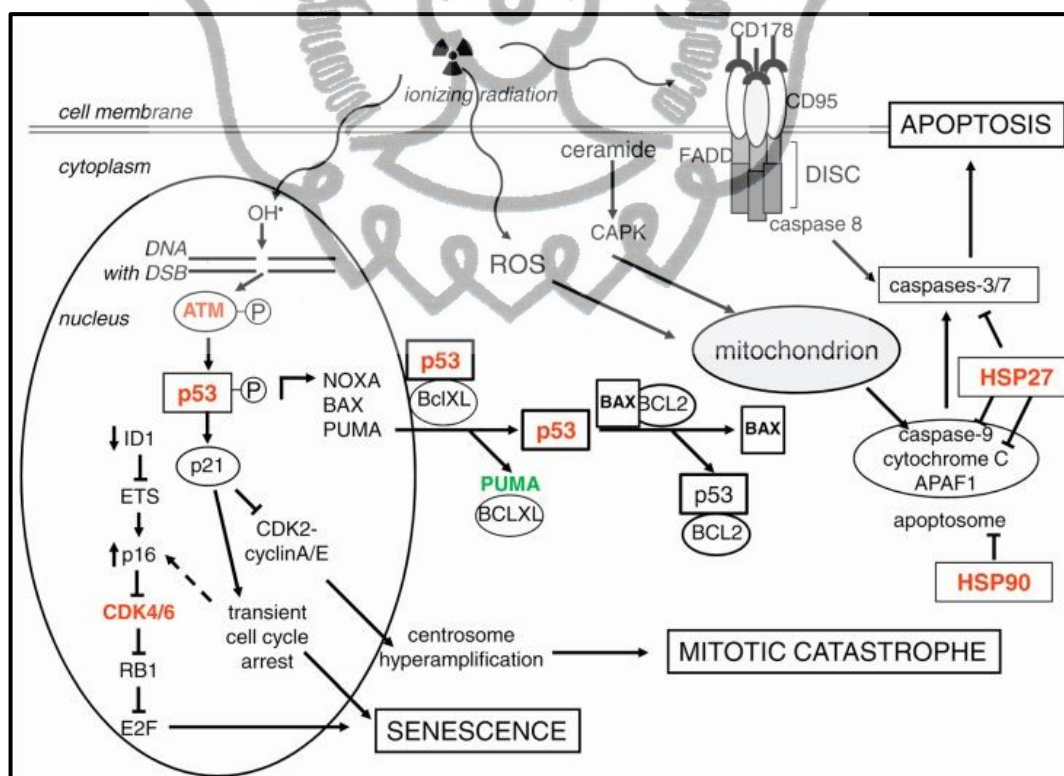
Setelah iradiasi, kematian sel kanker dapat terjadi terutama melalui nekrosis, autofagi, dan apoptosis yang mana autofagi memiliki peran yang lebih kompleks dan dapat mempromosi kelangsungan hidup sel. Radiasi pengion memperpanjang kelangsungan hidup pasien dengan menurunkan kapasitas proliferasi dan membunuh sel tumor. Kaskade caspase sebagai mediator apoptosis dalam terapi radiasi telah dijelaskan untuk mengaktifkan jalur transduksi dan ekspresi protein survival. Namun, repopulasi sel tumor selama atau setelah radioterapi merupakan kendala penting dalam mencapai respons yang diinginkan. Karena kematian sel tumor dalam persentase yang tinggi merupakan respons yang diinginkan dalam rejimen radioterapi, identifikasi faktor penghambat seperti proliferasi sel dan radioresistensi intrinsik sangat penting dalam pengobatan kanker. Melarikan diri dari kematian sel terprogram atau apoptosis adalah salah satu teori populer yang menjelaskan radioresistensi sel kanker (Rahmanian *et al.*, 2016).

Setelah paparan radiasi pengion, ROS dan radikal bebas dihasilkan sehingga menyebabkan kerusakan DNA. *Double-Strand Breaks* (DSBs) adalah kerusakan DNA yang paling melimpah dan beracun yang dihasilkan dari paparan satu Gy radiasi pengion. Setelah kerusakan DNA, penangkapan siklus sel dan perbaikan DNA diaktifkan. Dua jalur penting yaitu ATM-CHK2 (*Ataxia Telangiectasia Mutated-Checkpoint Kinase 2*) dan sumbu ATR-CHK1 (*Ataxia Telangiectasia dan Rad3-related Checkpoint Kinase 1*) juga diaktifkan dan diinduksi masing-masing oleh DSBs dan DNA single-strand break (SSBs). Jalur tersebut memiliki fungsi yang tumpang tindih dan bertindak secara paralel satu sama lain. CHK2 dan CHK1 memfosforilasi posisi berbeda dari p53 yang menghasilkan disosiasi dari mdm2 (*mouse double minute 2 homolog*). P53 sebagai penekan tumor memiliki peran penting dalam inisiasi dan pencegahan kanker. Aktivasi p53 mengatur proses perbaikan DNA dan penangkapan siklus sel yang terjadi pada transisi G1-S dan G2-M. Sebenarnya derajat kerusakan-perbaikan DNA sangat penting untuk menentukan apakah akan terjadi kelangsungan hidup sel atau kematian sel. Singkatnya, faktor transkripsi p53 merespons berbagai tekanan seluler dan mengeliminasi sel yang mengandung lesi onkogenik atau DNA yang rusak, sehingga mencegah perkembangan tumor. Perbaikan DNA yang tidak sempurna menghasilkan promosi aneuploidi dan perkembangan kanker. Pentingnya p53 dalam kepekaan terhadap radiasi telah dibahas oleh beberapa penelitian. Misalnya, resistensi terhadap radiasi telah ditemukan pada timosit yang kekurangan p53 fungsional, sedangkan p53 tipe liar sangat sensitif terhadap radiasi. Selain itu, jalur apoptosis radiosensitif diinduksi pada sel ganas kolon dan leukemia dengan ekspresi berlebih dari p53 tipe liar. Singkatnya, ekspresi p53 memiliki peran penting dalam induksi apoptosis yang bergantung p53 dan sel dengan ekspresi mRNA p53 tinggi lebih rentan terhadap apoptosis yang diinduksi radiasi (Rahmanian *et al.*, 2016).

Telah diketahui bahwa cacat pada aktivasi kaskade caspase menyebabkan perkembangan tumor dan metastasis, sementara aktivasi oleh senyawa yang membuat sel tumor peka terhadap radiasi pengion menghasilkan induksi apoptosis, pengurangan ukuran tumor, dan pengendalian perkembangan kanker. Amplifikasi

ekspresi protein CASP3 setelah paparan radiasi menginduksi kematian sel melalui jalur apoptosis. Telah dibuktikan bahwa agonis reseptor apoptosis seperti ligan antibodi monoklonal yang mengikat secara khusus ke reseptor TRAIL (ligan penginduksi apoptosis terkait TNF) dalam kombinasi dengan radiasi pengion menyebabkan efek apoptosis sinergis melalui aktivasi jalur kaskade caspase (Rahmanian *et al.*, 2016).

Radiasi menginduksi sebagian besar jalur apoptosis intrinsik (pelepasan sitokrom c mitokondria dan pembentukan apoptosom), tetapi tergantung pada dosis dan jenis sel, jalur apoptosis ekstrinsik (aktivasi caspase yang dimediasi reseptor kematian) atau jalur stres membran (produksi ceramide dan persinyalan *second messenger*) mungkin merupakan konsekuensi dari iradiasi (Gambar 2.9) (Maier *et al.*, 2016).



Gambar 2.9. Jalur kematian sel setelah iradiasi (Maier *et al.*, 2016)

Pada jalur apoptosis intrinsik, radiasi pengion dapat secara langsung meningkatkan produksi superoksida oleh mitokondria yang memicu pelepasan sitokrom c. Superoksida, tetapi juga ROS lain, seperti hidrogen peroksida (H_2O_2)

atau hidroksil radikal, dapat menyebabkan pelepasan Ca^{2+} dari mitokondria, yang akan memicu berbagai kemungkinan konsekuensi pro-apoptosis: (1) hilangnya potensi membran mitokondria; (2) pelepasan protein proapoptosis mitokondria, yang digabungkan dengan respons stres, yang dikenal sebagai transisi permeabilitas *inner mitochondrial membrane* (IMM); (3) produksi ROS karena pengikatan Ca^{2+} ke kardiopilin dalam hasil IMM dalam oksidasi fosfolipid membran dan protein dan, dengan demikian, dalam peningkatan permeabilitas membran; (4) defosforilasi pro-apoptosis BAD (agonis terkait BCL2 kematian sel) oleh Ca^{2+} / *Calmodulin-dependent protein phosphatase calcineurin* menyebabkan translokasi BAD dari sitoplasma ke mitokondria diikuti dengan pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Pelepasan sitokrom c ke dalam sitosol mengarah pada pembentukan kompleks apoptosom yang mengandung sitokrom c/APAF1/caspase-9. Inisiator caspase-9 kemudian mengaktifkan caspase efektor caspases-3 dan -7, sehingga mendorong kaskade caspase yang dimediasi pasca-mitokondria (Maier *et al.*, 2016).

Apoptosis yang diinduksi radiasi juga dieksekusi melalui jalur apoptosis ekstrinsik kanonik dengan memberi sinyal melalui reseptor kematian (DRs), yang termasuk dalam super famili *tumor necrosis factor receptor* (TNFR). Aktivasi p53 oleh radiasi menyebabkan transaktivasi hilir reseptor CD95, DR5 dan ligan CD95 (CD95L atau CD178). Pengikatan CD178 ke CD95 menghasilkan trimerisasi CD95 dan pengelompokan domain kematian intraseluler (DD). DD merekrut protein adaptor FADD (*FAS associated death domain*). Selanjutnya, procaspase-8 berinteraksi dengan domain efektor kematian (DED) dari FADD, membentuk kompleks pensinyalan yang menginduksi kematian (DISC). Aktivasi inisiator caspase-8 menghasilkan lagi aktivasi procaspase-3 dan procaspase-7. Selain itu, di hilir CD95, aktivasi caspases juga dapat dilanjutkan melalui mekanisme intrinsik yang bergantung pada mitokondria (Maier *et al.*, 2016).

4. Evaluasi Tumor

Penilaian perubahan massa tumor sangat penting dalam evaluasi klinis dari terapi kanker. Penurunan ukuran tumor dan *Disease Free Survival* merupakan target penting dalam uji klinis kanker (Eisenhauer *et al.*, 2009).

Penilaian respons terhadap radioterapi dapat diklasifikasikan menurut kriteria *Response Evaluation Criteria in Solid Tumours* (RECIST 1.1), dengan kriteria sebagai berikut (Eisenhauer *et al.*, 2009) :

a. Evaluasi lesi target

1) Respons lengkap (*Complete Response*)

Hilangnya semua lesi target. Semua limfa nodus patologik (meskipun lesi target atau non target) harus memiliki reduksi pada aksis pendeknya hingga ≤ 10 mm.

2) Respons parsial (*Partial Response*)

Pemberian terapi sedikitnya memberikan $\geq 30\%$ penurunan dalam jumlah diameter terpanjang lesi target dibandingkan dengan garis dasar (ukuran lesi sebelumnya).

3) Penyakit progresif (*Progressive Disease*)

Sedikitnya terdapat $\geq 20\%$ peningkatan dalam jumlah diameter terpanjang dari lesi target dibandingkan dengan jumlah terkecil diameter terpanjang sebelumnya atau munculnya satu atau lebih lesi baru.

4) Penyakit stabil (*Stable Disease*)

Bukan respons parsial atau penyakit progresif.

b. Evaluasi lesi non target

1) Respons lengkap (*Complete Response*)

Hilangnya semua lesi non target dan normalisasi tingkat marker tumor.

2) Bukan respons lengkap (*Non Complete Response*) /bukan penyakit progresif (*Non Progressive Disease*)

Persistennya dari satu atau beberapa lesi non target dan/atau tetapnya tingkat penanda tumor di atas batas normal.

3) Penyakit progresif (*Progressive Disease*)

Progres tegas dari lesi non target yang sudah ada atau kemunculan dari satu atau lebih lesi baru.

Berdasarkan penelitian Udiyanto *et al* (2020) evaluasi ukuran tumor dapat dilakukan dengan pasien menjalani pemeriksaan USG transabdominal sebelum dan sesudah terapi radiasi. Ukuran tumor pasien dihitung sebelum dan sesudah terapi menggunakan pemeriksaan USG transabdominal. Keberhasilan terapi didefinisikan sebagai keadaan klinis setelah pemberian terapi radiasi yang dinyatakan dengan penurunan ukuran tumor dalam cm^3 yang dievaluasi secara klinis dengan penurunan volume lebih dari 70% relatif terhadap ukuran tumor sebelum diberikan terapi radiasi yang diperiksa dengan pemeriksaan USG. Jika pengurangan volume kurang dari 70% dalam cm^3 , maka terapi radiasi dianggap gagal (Udiyanto *et al.*, 2020).

Ultrasonography atau USG secara rutin digunakan untuk mengevaluasi massa serviks yang mungkin dicurigai sebagai kanker. Ultrasonografi adalah modalitas pencitraan utama dalam onkologi ginekologi. Selama dekade terakhir, telah terjadi pengembangan teknologi yang mengarah pada peningkatan dalam kualitas gambar ultrasonografi. Jika dilakukan oleh seorang ahli sonografi yang berpengalaman, USG memiliki peran yang sangat penting dalam diagnosis primer kanker ginekologi, dalam penilaian tingkat tumor di rongga panggul dan rongga abdomen, dalam evaluasi respon perawatan, dan tindak lanjut. Mempertimbangkan bahwa selain keakuratannya, USG adalah metode pencitraan yang tersedia secara umum, non-invasif, dan murah yang dapat dilakukan tanpa risiko atau ketidaknyamanan bagi pasien. Ahli onkologi ginekologi memerlukan perawatan yang memadai dan merencanakan informasi yang akurat tentang ukuran dan lokasi tumor (topografi tumor dalam serviks), adanya parametria yang terinfiltrasi, dan status kelenjar getah bening. Pada tahun 2009, FIGO melakukan peninjauan stadium klinis kanker serviks, yang merekomendasikan penggunaan metode pencitraan modern dalam menentukan parameter prognostik yang signifikan ini. Sebaliknya, pemindaian ultrasound dapat dilakukan secara langsung oleh ahli onkologi ginekologi. Probe endoluminal beresolusi tinggi memungkinkan tampilan

rinci struktur panggul yang sebanding dengan MRI. Kombinasi USG transvaginal dan transabdominal memungkinkan penilaian lengkap pada abdomen dan panggul untuk pementasan kanker serviks (Fischerova & Cibula, 2015).

Case-report yang dilaporkan oleh Chappel *et al.* (2016) dimana seorang wanita 58 tahun datang ke departemen *sonography* untuk evaluasi USG perut dan pelvis dengan keluhan utama nyeri punggung dan panggul disertai dengan hematuria. USG abdomen dan pelvis dilakukan secara lengkap. Dari hasil pemeriksaan didapatkan kecurigaan neoplasma servikal *hypoechoic* yang terlihat secara posterior di belakang kandung kemih. Evaluasi pra-void kandung kemih menunjukkan massa *hypoechoic* buruk memanjang dari serviks menonjol ke kandung kemih, konsisten dengan metastasis. Temuan ini dianggap konsisten dengan kanker serviks stadium lanjut (stadium IV). Karena pasien ini memiliki neoplasma serviks yang diyakini sebagai kanker serviks stadium lanjut, biopsi dilakukan di fasilitas terpisah. Pada kasus ini, massa serviks ditemukan pada CT dan diteliti lebih lanjut dengan sonografi, baik secara transabdominal maupun transvaginal. CT dengan kontras pada awalnya mampu mengidentifikasi dan melokalisasi area yang mencurigakan serta neoplasma. Sedangkan USG mampu mengkonfirmasi temuan CT serta memberikan lebih detail mengenai wilayah kanker dan keterlibatan dengan struktur sekitarnya. USG juga mampu memberikan pengukuran yang akurat, karakteristik penampilan jaringan, dan potensi penyebaran kondisi (Vargo, 2014).

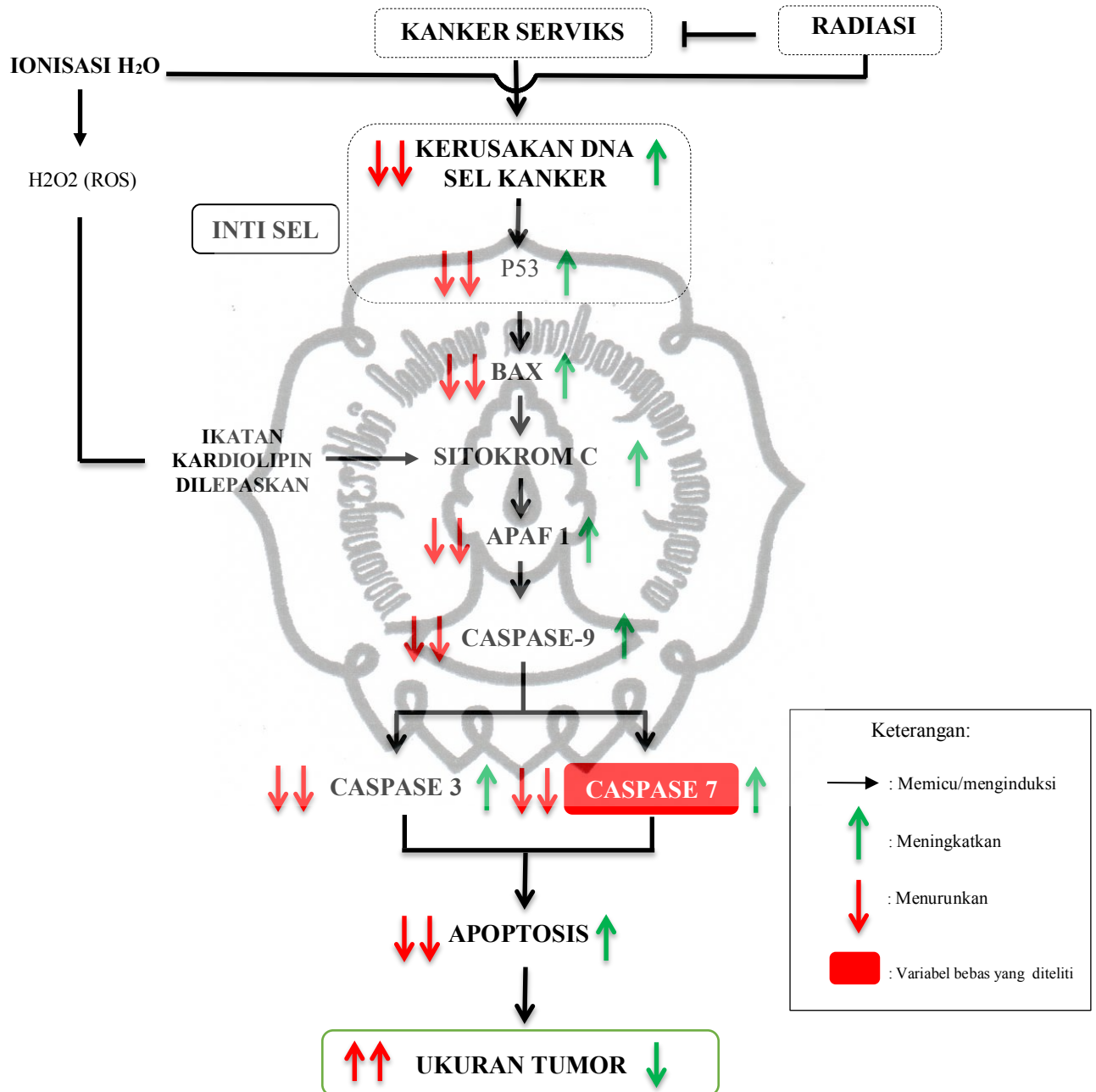
Kelangsungan hidup dan kontrol penyakit panggul pada pasien kanker serviks sendiri berkorelasi dengan *staging* FIGO, akan tetapi prognosis juga dipengaruhi oleh sejumlah karakteristik tumor yang tidak termasuk dalam sistem *staging*. Diameter tumor klinis sangat berkorelasi dengan prognosis untuk pasien yang diobati dengan radiasi. Untuk alasan ini, pada tahun 1994 FIGO memodifikasi kategori *stage* I untuk membagi tumor ini sesuai dengan diameter tumor klinis. Berbagai metode penentuan ukuran tumor dengan pencitraan tersedia tetapi mahal dan tidak mudah tersedia di mana-mana, terutama di negara-negara berkembang di mana penyakit memiliki massa yang berukuran maksimum. Ultrasonografi tiga

dimensi (3D) adalah alat diagnostik alternatif yang efektif, cepat, dan relatif murah dalam penilaian tumor pada kanker serviks. Ukuran tumor serviks yang diukur dengan pencitraan resonansi magnetik berkorelasi positif dengan ukuran tumor yang diukur dengan ultrasonografi 3D ($r = 0,91$, $P < 0,0001$). Studi ini mendukung bahwa ultrasound adalah alat yang murah, sederhana, dan berguna dalam memprediksi hasil pengobatan dan *disease-free survival* (DFS) berdasarkan ukuran tumor dan mirip dengan publikasi lain yang telah menggunakan MRI dengan cara yang sama (Srivastava *et al.*, 2017).

Pemeriksaan sonografi transabdominal biasanya menggunakan *probe array* cembung (3,5-7 MHz), tergantung pada tubuh pasien. Pemeriksaan ultrasonografi rongga abdomen harus dilakukan secara sistematis dan seluruh anatomi harus dievaluasi pada bagian sagital dan transversal, yang dilakukan dengan memutar probe 90°. Sangat penting untuk menghafal urutan langkah-langkah yang diperlukan dalam menyelesaikan pemeriksaan ultrasonografi transabdominal lengkap. Hal ini untuk memastikan bahwa USG dilakukan secara identik setiap kali pemeriksaan dan dengan demikian mencegah kelalaian (Fischerova, 2011).

Pertama, perhatian diberikan pada organ visceral di perut bagian atas (seperti ginjal dan kelenjar adrenal, limpa, hati dan pankreas); ukuran dan strukturnya dievaluasi dan kemungkinan lesi fokal atau difus *intraparenchymatous*, infiltrasi kapsul atau limfadenopati viseral dievaluasi. Kedua, area parietal, visceral, peritoneum dan omentum mesenterika dievaluasi, karena ada potensi penyebaran tumor dalam bentuk parietal (*lateral paracolic gutter*, diafragma, dinding abdomen anterior), omental, visceral (karsinomatosis usus, permukaan organ) atau mesenterika (mesenterium usus halus atau mesocolon). Akhirnya, kelenjar getah bening perifer (superfisial dan dalam) dan retroperitoneal (juga disebut parietal) dievaluasi (Fischerova, 2011).

B. Kerangka Teori



Gambar 2.10. Kerangka Teori

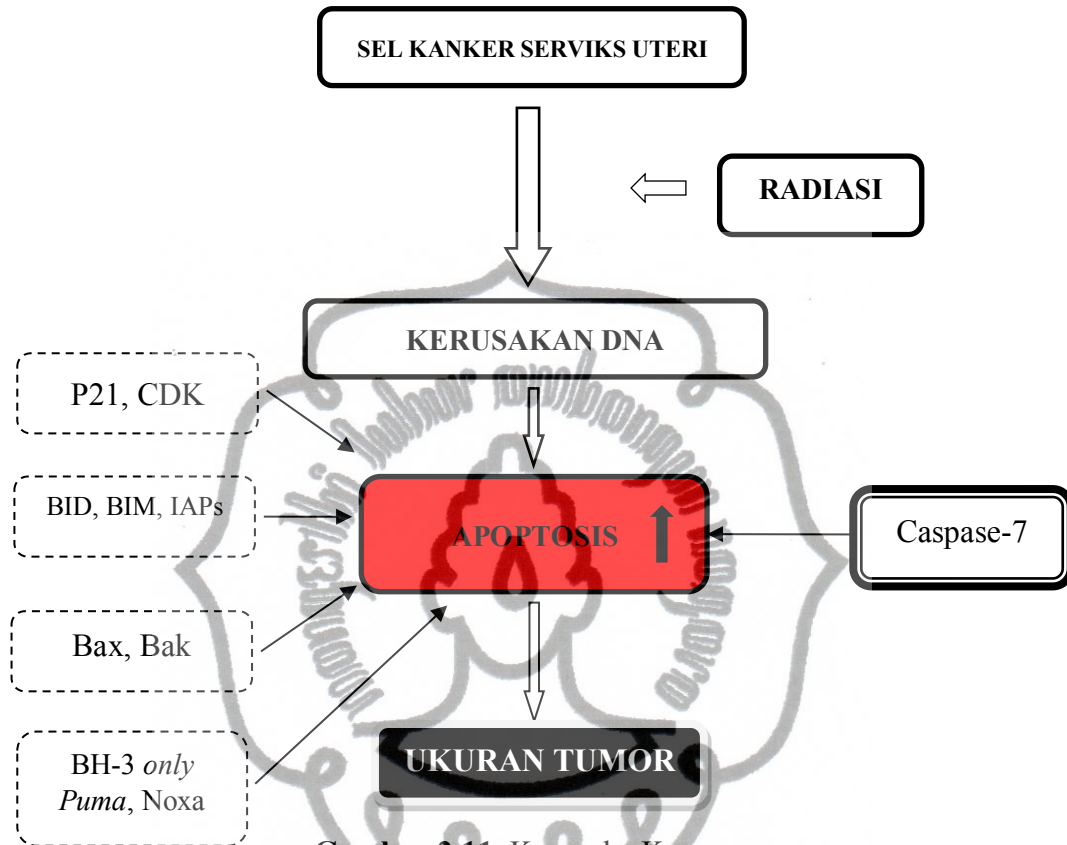
Keterangan:

Pemberian radioterapi pada kanker serviks uteri akan mengakibatkan kerusakan molekul DNA pada jaringan target berupa *double strand breaks* sehingga akan terjadi apoptosis. Pemberian radioterapi pada jaringan sel kanker akan menyebabkan terjadinya ionisasi H₂O yang akan menghasilkan H₂O₂ (*Reactive Oxygen Spesies* / ROS) yang mempengaruhi proses apoptosis, dimana akan terjadi pelemahan hubungan antara *Cardiolipin* dan sitokrom C, sehingga ikatan terlepas dan sitokrom C yang berada dalam ruang antar membran melepaskan diri masuk kedalam sitosol yang selanjutnya menginisiasi proses apoptosis.

Kerusakan DNA yang tidak bisa diperbaiki akan memicu aktivasi p53 di sitosol untuk menginisiasi terjadinya apoptosis dengan cara menginduksi protein Bax. Protein Bax ini menekan Bcl-2 pada *Pt pore* mitokondria, sehingga *Pt pore* terbuka terjadilah pelepasan sitokrom-c. Rilis sitokrom c mitokondrial menuju sitosol lalu akan berhubungan dengan protein Apaf-1 untuk membentuk apoptosom. Kompleks apoptosom ini lalu akan memediasi aktivasi dari caspase-9. Ketika sudah teraktivasi, caspase-9 akan memproses caspase eksekusioner yaitu caspase-3 dan caspase-7. Caspase-3 dan caspase-7 yang matur lalu membelah substrate sel yang akhirnya akan menghasilkan karakteristik morfologi dan biokimiawi dari tanda-tanda apoptosis seperti eksposur fosfatidilserin, kondensasi nuklear, dan fragmentasi genomik DNA.

Harapan yang ingin dicapai melalui pemberian radioterapi adalah respons stress sel yang akan memunculkan salah satu dari faktor apoptosis pada kaskade caspase yaitu Caspase-7 pada mitokondria yang akan menyebabkan apoptosis sel sehingga terjadi penurunan ukuran tumor. Penilaian perubahan massa tumor sangat penting dalam evaluasi klinis dari terapi kanker. Hal ini dikarenakan penurunan ukuran tumor merupakan target penting dalam uji klinis kanker.

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.11. Kerangka Konsep

Keterangan :



Variabel Bebas



Variabel perancu yang tidak dikontrol



Variabel tergantung



Variabel antara

Keterangan:

Berdasarkan latar belakang yang ada diperlukan suatu penelitian yang dapat menganalisis dan menjelaskan peran ekspresi Caspase-7 sebagai faktor prognosis keberhasilan radioterapi pada kanker serviks stadium lanjut (stadium IIB – IIIB). Kanker serviks disebabkan oleh HPV tipe 16 dan 18 memiliki onkoprotein E6 dan E7. Protein E6 akan berinteraksi akan menonaktifkan p53 sehingga inisiasi apoptosis tidak akan terjadi. Pada kanker serviks salah satu terapi yang diberikan adalah dengan melakukan radioterapi. Pemberian radioterapi pada sel kanker serviks akan menyebabkan kerusakan DNA melalui mekanisme *double strand breaks*. Kerusakan DNA inilah yang menyebabkan kematian sel.

kerusakan DNA yang diinduksi oleh radiasi UV dan obat-obatan kemoterapi memicu rilis sitokrom c mitokondrial menuju sitosol yang lalu akan berhubungan dengan protein Apaf-1 untuk membentuk apoptosom. Kompleks apoptosom ini lalu akan memediasi aktivasi dari caspase-9. Ketika sudah teraktivasi, caspase-8, caspase-9, dan caspase-10 akan memproses caspase eksekusioner yaitu caspase-3 dan caspase-7. Caspase-3 dan caspase-7 yang matur lalu membelah substrate sel yang akhirnya akan menghasilkan karakteristik morfologi dan biokimiawi dari tanda-tanda apoptosis seperti eksposur fosfatidilserin, kondensasi nuklear, dan fragmentasi genomik DNA. Itulah mekanisme Caspase-7 sebagai *executioner caspase* yang dapat memicu terjadinya apoptosis. Proses apoptosis tersebut dapat menurunkan ukuran tumor pada pasien kanker serviks stadium lanjut.

D. Hipotesis

1. Ada hubungan antara ekspresi protein Caspase-7 dengan penurunan ukuran tumor. Ekspresi protein Caspase-7 yang tinggi berkorelasi terhadap penurunan ukuran tumor.
2. Ekspresi protein Caspase-7 dapat berperan sebagai faktor prognosis respon radioterapi terhadap penurunan ukuran tumor.