

DISERTASI

**ANALISIS HUBUNGAN EKSPRESI GEN MMP1, EFNA1, ANLN, DAN
ZWINT DENGAN STADIUM KARSINOMA
SEL SKUAMOSA SERVIKS**

**ANALYSIS CORRELATION BETWEEN MMP1, EFNA, ANLN AND ZWINT
GENES EXPRESSION AND STAGING OF SQUAMOUS CELL
CARCINOMA OF THE CERVIX.**



IWAN KURNIA EFFENDI

C013182012

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

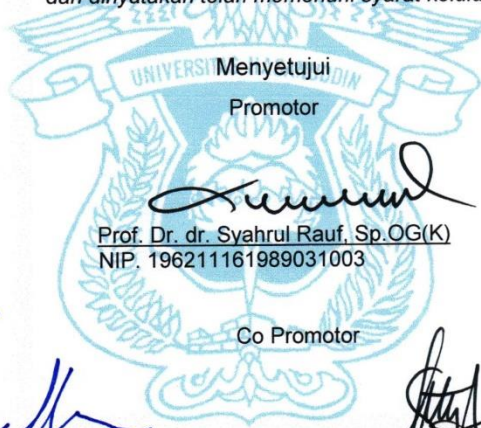
DISERTASI

**ANALISIS HUBUNGAN EKSPRESI GEN MMP1, EFNA1, ANLN, DAN ZWINT
DENGAN STADIUM KARSINOMA SEL SKUAMOSA SERVIKS**

Disusun dan diajukan oleh

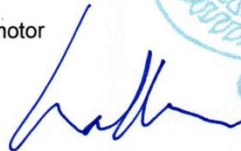
**IWAN KURNIA EFFENDI
C013182012**

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 16 Februari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*



Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp. OG(K)
NIP. 196211161989031003

Co Promotor



Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
NIP. 195704161985031001

Co Promotor



Dr. dr. Sharvianty Arifuddin, Sp. OG(K)
NIP. 197308312006042001

Ketua Program Studi Doktor
Ilmu Kedokteran,



dr. Agus Salim Bukhari, M.Med.Ph.D.Sp.GK(K)
NIP. 19700821 199903 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP/19661213 199503 1 009



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama	Iwan Kurnia Effendi
NIM	C013182012
Program Studi	Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang	S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Analisa Hubungan Stadium Karsinoma Sel Skuamosa Serviks dengan Ekspresi MMP1, EFNA1, ANLN dan ZWINT

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Januari 2022

Yang menyatakan,

Iwan Kurnia Effendi

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karuniaNya penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul **ANALISIS HUBUNGAN EKSPRESI GEN MMP1, EFNA1, ANLN, DAN ZWINT DENGAN STADIUMKARSINOMA SEL SKUAMOSA SERVIKS** ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, SpOG(K)Onk sebagai Promotor, Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K) dan Dr. dr. Sharvianty Arifuddin, SpOG(K)Onk sebagai Co-Promotor yang telah mencurahkan waktunya untuk membimbing, memberikan kritik, saran dan perbaikan, serta memberikan dorongan secara terus-menerus kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Dekan Fakultas Kedokteran Unhas dan Ketua Program Studi S3 yang telah memfasilitasi proses pendidikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Unhas Makassar.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Rektor UPH dan Dekan FK UPH yang telah memberikan izin belajar kepada penulis untuk menempuh pendidikan S3. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh teman-teman seangkatan 2018 atas support nya dalam menyelesaikan pendidikan S3 ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua, istri tercinta dan anak-anak atas motivasi, dorongan, dan pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Akhir kata mohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan disertasi ini, semoga bisa bermanfaat bagi banyak orang.

Makassar, 18 Februari 2022

Iwan Kurnia Effendi

ABSTRAK

IWAN KURNIA EFFENDI. *Analisis Hubungan Karsinoma Sel Skuamosa Serviks dengan MMP-1, EFNA-1, ANLN, dan ZWINT* (dibimbing oleh Syahrul Rauf, Mochammad Hatta, dan Sharvianti Arifuddin).

Penelitian ini bertujuan membandingkan secara langsung ekspresi gen MMP-1, EFNA-1, ANLN, dan ZWINT antara sampel normal, stadium 1, stadium 2, stadium 3, dan stadium 4 dari jaringan serviks menggunakan *real time* PCR.

Penelitian ini menggunakan metode potong lintang dengan teknik acak sederhana. Pengambilan sampel dilakukan pada September sampai dengan Desember 2021. Subjek penelitian merupakan pasien kanker serviks di Rumah Sakit Umum Kabupaten Tangerang yang belum menjalani terapi dengan total subjek 40 orang. Sampel jaringan serviks diperoleh dari biopsi dan ekspresi gen dievaluasi menggunakan qRT-PCR. Analisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS versi 21,0 dengan model regresi *cox proportional hazard* univariat dan multivariat untuk melihat tingkat ekspresi gen dan stadium kanker serviks.

Hasil penelitian menunjukkan nilai MMP-1 lebih tinggi di stadium akhir (*mean* 12,29) dibandingkan dengan serviks normal (*mean* 6,02). Nilai EFNA-1 paling tinggi di stadium akhir (*median* 14,57) dan paling rendah di serviks normal (*median* 9,01). ANLN menunjukkan nilai tertinggi di stadium akhir (*median* 12,79), stadium awal (*median* 10,42), dan serviks normal (*median* 7,14). ZWINT paling tinggi di stadium akhir (*mean* 11,35) dan paling rendah di serviks normal (*mean* 5,04). Uji korelasi Spearman menunjukkan MMP-1 berkorelasi sangat kuat terhadap EFNA-1, ANLN, ZWINT, dan ukuran tumor (koefisien $r > 0,9$, $p < 0,0001$). EFNA-1 juga berkorelasi sangat kuat terhadap variabel ANLN dan ZWINT (koefisien $r > 0,9$, $p < 0,0001$). Terdapat korelasi sangat kuat antara ANLN dan ZWINT (koefisien $r > 0,9294$ dan $p < 0,0001$).

Kata kunci: karsinoma sel skuamosa serviks, MMP-1, EFNA-1, ANLN, ZWINT



ABSTRACT

IWAN KURNIA EFFENDI. *Analysis of The Relationship of Cervic Scamous Cell Carcinoma with MMP1, EFNA1, ANLN and ZWINT* (Supervised by **Syahrul Rauf, Mochammad Hatta and Sharvianti Arifuddin**)

This study directly compares the expression of MMP1, EFNA1, ANLN and ZWINT genes between normal, stage 1, stage 2, stage 3, and stage 4 samples of cervical issue using a real-time PCR. Cervical cancer is the most common gynecological malignancy (500.000 cases each year) caused by HPV. Several gene expression has been linked with this disease, including MMP1, EFNA1, ZWINT, and ANLN. Matrix metalloproteinase 1 (MMP1) is a protease that plays a role in proteolysis and extracellular matrix.

This research is a cross-sectional study with a simple randomized sampling technique. Sampling was carried out from September 2021 to December 2021. The research subjects were cervical cancer patients at the Tangerang Regency General Hospital who had not undergone therapy with a total of 40 subjects. Cervical tissue samples were obtained from biopsies and gene expression was evaluated using qRT-PCR. Statistical analysis was done by SPSS software version 21.0 with univariate and multivariate cox proportional hazard regression models to see gene expression levels and stages of cervical cancer.

The Results show that the MMP1 value is higher at the end-stage (mean 12.29) compared to the normal cervix (mean 6.02). EFNA1 values are highest in the late stage (median 14.57) and lowest in the normal cervix (median 9.01). ANLN shows the highest values in late-stage (median 12.79), early-stage (median 10,42), and normal cervix (median 7.14). ZWINT is highest in the late stage (mean 11.35) and lowest in the normal cervix (mean 5.04). Spearman correlation test shows MMP1 has a very strong correlation to EFNA1, ANLN, ZWINT, and tumor size (coefficient $r > 0.9$, $p < 0.0001$). EFNA1 also has a very strong correlation to the ANLN variable, ZWINT (coefficient $r > 0.9$, $p < 0.0001$). There is a very strong correlation between ANLN and ZWINT (r coefficient 0.9294 and $p < 0.0001$).

Keywords: Cervical Karsinoma Scumous Cell, MMP1, EFNA1, ANLN and ZWINT



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

LEMBAR PENGESAHAN

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

KATA PENGANTAR

ABSTRAK

ABSTRACT

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	5
I.3 Pertanyaan Penelitian.....	6
I.4 Hipotesis Penelitian.....	6
I.5 Tujuan Penelitian.....	6
I.6 Manfaat Penelitian.....	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Serviks	9
2.1.1 Definisi.....	9
2.1.2 Epidemiologi.....	9
2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko	10
2.1.4 Diagnosis dan Klasifikasi Stadium Kanker Serviks	15
2.1.5 Jenis Histopatologi Kanker Serviks	17
2.1.6 Pengobatan Kanker Serviks	18
2.1.7 Prognosis Kanker Serviks	20
2.2 MMP1	21
2.3 EFNA1	24
2.4 ANLN	28
2.5 ZWINT	30

BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP

3.1 Kerangka Teori	32
3.2 Kerangka Konsep.....	39
3.3 Definisi Operasional	40

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	42
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	42
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	43
4.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Penelitian	43
4.5 Estimasi Besar Sampel	44
4.6 Variabel Penelitian	45
4.7 Instrumen Pengumpulan Data.....	48
4.8 Cara Pengambilan Sampel	49
4.9 Analisa Data.....	54
4.10 Persetujuan Etik	54
4.11 Estimasi Biaya Penelitian	55
4.12 <i>Timeline</i> Penelitian	55
4.13 Alur Penelitian	56

BAB V. HASIL PENELITIAN

5.1 Deskripsi Hasil Penelitian.....	57
5.2 Hasil Analisa Bivariat.....	61
5.3 Hubungan Ekspres Gen Dengan Klinis	66

BAB VI. PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Responden.....	79
6.2 Analisis Hubungan MMP1, EFNA1, ANLN, dan ZWINT dengan Stadium Karsinoma	79
6.3 Hubungan Ekspres Gen Dengan Klinis	81

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan.....	86
6.2 Saran.....	87

DAFTAR PUSTAKA.....	88
----------------------------	-----------

SURAT PERSETUJUAN.....	101
-------------------------------	------------

LEMBAR KUESIONER	102
-------------------------------	------------

DAFTAR SINGKATAN.....	107
------------------------------	------------

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kanker serviks adalah jenis keganasan yang paling sering ditemukan di bidang ginekologi. Lebih dari 500.000 kasus terjadi setiap tahunnya, dengan 3/5 dari seluruh kasus tersebut berakhir pada kematian.¹ Kanker serviks adalah keganasan yang terjadi pada serviks atau leher rahim yang berasal dari metaplasia epitel di daerah skuamo kolumnar junction yaitu daerah peralihan mukosa vagina dan mukosa kanalis servikalis. Kanker serviks disebabkan oleh satu atau lebih virus HPV (*Human Papiloma Virus*) tipe onkogenik dan banyak diderita oleh wanita yang telah menikah atau aktif dalam melakukan aktifitas seksual.² Sebanyak 90% dari seluruh kematian akibat kanker serviks di dunia terjadi di negara berkembang, karena banyaknya yang terdiagnosis pada stadium lanjut.³ Sekitar 80-90% kanker serviks merupakan tipe karsinoma sel skuamosal yang melapisi serviks dan 10% berasal dari kelenjar penghasil lendir pada saluran servikal.⁴ Kanker serviks menempati urutan kedua kasus baru tertinggi di seluruh dunia setelah kanker payudara, dan menempati urutan ketiga penyebab kematian kanker pada wanita setelah kanker paru dan kanker payudara di seluruh dunia.⁵

Penyebab utama kanker serviks adalah infeksi virus HPV. Berdasarkan data epidemiologik dapat dikatakan kanker serviks merupakan penyakit menular seksual. Ada beberapa faktor resiko yang diperkirakan berhubungan dengan kanker serviks, di antaranya ialah berganti-ganti pasangan, aktivitas seksual usia sangat muda yang kesemuanya merupakan perilaku seksual yang mempermudah infeksi pathogen.²

Lima protein yang sangat penting untuk regulator siklus sel yaitu *Cyclins*, *Cyclins dependent kinase* (CDK), Protein keluarga Retinoblastoma (pRb), *Cyclins activating kinase* (CAK) dan *Cyclins kinase inhibitor* (CKI). Infeksi HPV mampu menstimulasi proses karsinogenesis pada sel epitel serviks melalui HPV-Encoded viral oncoproteins, E6 dan E7, yang akan menghambat aktivasi dari *tumor suppressor gene* seperti p53 dan pRb. *HPV-Encoded E6 oncoprotein* mampu berikatan secara langsung ke p53 dan menyebabkan

degenerasi via *E6-AP-mediated ubiquitination pathway*.⁶⁻⁸ Kanker serviks merupakan hasil dari perjalanan penyakit yang panjang, dimulai dengan adanya perubahan yang disebut *cervical intra-cell neoplasia* (CIN). Pada proses patologisnya, terjadi infiltrasi sel tumor ke dalam sel limfosit atau yang disebut *tumor-infiltrating lymphocytes* (TIL), akibatnya, sel imun akan mengalami kerusakan dan perubahan aktivitas.⁹ Sejak diketahui jalur pathogenesis ini, maka banyak penelitian yang dilakukan untuk mengamati prognosis kanker berdasarkan tingkat ekspresi gen pada jaringan tumor. Mekanisme karsinogenesis ini sangat penting untuk diidentifikasi, mencari biomarker yang efektif dan menemukan terapi novel yang memberikan survival terbaik.¹⁰⁻¹²

Matrix metalloproteinase 1 atau MMP1 merupakan protease yang berperan dalam terjadinya proteolysis dan matrix ekstraseluler, peningkatan ekspresinya berhubungan dengan metastasis KGB dan peningkatan stadium.¹³ Penelitian menemukan ekspresinya meningkat pada banyak jenis kanker, misalnya kanker serviks, esofagus, dan kanker prostat, dan ia menjadi aspek yang berpengaruh terhadap prognosis kanker tersebut. MMP1 ini juga dianggap menjadi faktor pemicu terjadinya invasi sel glioma pada kanker otak. MMP1 memiliki peranan penting dalam hal tumor invasi dan metastasis.^{14, 15}

Ekspresi MMP1 selain sebagai faktor prognostik juga membantu pemilihan metode terapi. MMP1 berperan dalam terbentuknya sinyal sitokin untuk respon imun, namun penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi MMP1 hanya berhubungan dengan kejadian infiltrasi sel tumor ke dalam makrofag saja, tidak pada sel T memori, sehingga jika ekspresi gen MMP1 tidak cukup tinggi maka metode imunoterapi kurang tepat diberikan.¹⁶ MMP1 juga berhubungan dengan prognosis dan invasive dari kanker serviks skuamosa dan dapat digunakan sebagai faktor prognosis pada kanker serviks invasive, namun tidak berhubungan dengan risiko high grade sel intraepithelial lesi ataupun kejadian kanker serviks.¹⁷ Ekspresi Promotor MMP1 berhubungan erat dengan stadium klinis kanker serviks.¹⁴ Secara umum, kelompok pasien dengan ekspresi keempat gen yang lebih tinggi memiliki perkiraan masa kelangsungan hidup yang lebih singkat dibandingkan kelompok pasien dengan ekspresi gen yang lebih rendah.¹⁸

MMP1 adalah target dari hsa-miR-508, hsa-miR-509-2 dan hsa-miR-526b. Banyak penelitian sebelumnya yang merekomendasikan tiga messenger RNA atau miRNA ini

dijadikan sebagai aspek dalam penilaian diagnosis dan prognostic kanker serviks. miRNA terlibat dalam pengaturan gen manusia dan aktif dalam regulasi siklus sel, apoptosis dan proliferasi sel.¹⁹⁻²¹

Penelitian oleh Chen dkk memperlihatkan bahwa tingginya MMP1 pada kanker serviks dapat dihambat oleh hsa-miR-508 dan hsa-miR-509-2, terutama pada kanker serviks tanpa metastasis ke nodus limfe. Sedangkan pada kanker serviks yang sudah disertai dengan metastasis ke nodus limfe, ekspresi MMP1 semakin meningkat, sedangkan ekspresi hsa-miR-508 dan hsa-miR-509-2 justru lebih rendah. Dan prognosisnya memburuk seiring dengan melemahnya miRNA dan menguatnya ekspresi MMP1.²²

Tian dkk melakukan penelitian untuk mengidentifikasi gen yang secara persisten dan konsisten memiliki level ekspresi signifikan untuk dapat dijadikan sebagai biomarker pada kanker serviks, baik untuk prognostik maupun identifikasi adanya metastasis. Dengan menggunakan 132 data RNA kanker serviks tanpa metastasis ke nodus limfe dan 60 dengan metastasis ke nodus limfe, hasilnya menunjukkan sebelas gen yang ditemukan dengan nilai tinggi, namun hanya MMP1 yang terus-menerus menunjukkan hiperekspresi. Tingkat ekspresi MMP1 pada kanker serviks dengan metastasis lebih tinggi dibanding tanpa metastasis. Dari hasil ini terlihat bahwa ekspresi MMP1 berkorelasi positif dengan tingkat keparahan kanker yang sedang terjadi, dan berkorelasi negatif dengan keberlangsungan hidup. Pada MMP1 dengan ekspresi yang lebih rendah, keberlangsungan hidup mencapai 0.8% hingga lebih dari 6000 hari ke depan. Namun, pada ekspresi MMP1 tingkat tinggi keberlangsungan hidup hanya sekitar 0.2% dalam waktu kurang lebih 3000 hari ke depan.²³

Ephrin A1 atau EFNA1 adalah protein yang mengkode ephrin. Ephrin sendiri berfungsi memberikan sinyal dalam berbagai kondisi, misalnya untuk proliferasi sel. Selain itu, EFNA1 berperan dalam progress terjadinya keganasan, misalnya ekspresinya diketahui meningkat pada melanoma.^{24, 25} Sebelumnya, penelitian pada pasien kanker paru menunjukkan bahwa ekspresi ANLN berkurang setelah mendapat terapi radiasi, sehingga ekspresi ANLN juga dianggap berpotensi menjadi aspek penilaian untuk evaluasi terapi radiasi pada kanker serviks.²⁶ Meningkatnya ekspresi EFNA1 berhubungan dengan rendahnya overall survival pada kasus kanker serviks skuamosa. EFNA1 merupakan subfamily reseptor protein kinase yang menginduksi terjadinya angiogenesis,

neovaskularisasi dan tumor metastasis; juga mengakibatkan radioresisten dengan menciptakan kondisi *cell cycle arrest*, disregulasi PI3K (Posfatidil Inositol 3K) dan mengakibatkan kondisi hipoksia. EFNA1 di induksi oleh TNF α (*tumor necrosis factor alfa*), VEGF (*vascular endothelial growth factor*) dan HIF (*hypoxic induction factor*).²⁷

Penelitian lain oleh Zhao dkk dilakukan untuk menemukan aspek prognostic untuk kanker serviks. Mereka mengidentifikasi 169 gen yang mengalami peningkatan ekspresi pada jaringan kanker serviks dibanding sampel jaringan normal. Dan dari seluruh gen tersebut, didapatkan 5 gen yang memiliki nilai p signifikan dengan uji multivariable cox proportional hazards analysis. Dua diantaranya adalah MMP1 dan EFNA1. Mereka lalu melakukan analisis The Kaplan-Meier untuk mengetahui status kelangsungan hidup selama beberapa tahun ke depan. Secara umum, nilai kelangsungan hidup menjadi lebih pendek pada kelompok dengan ekspresi gen yang tinggi. Hazard ratio gen MMP1 dan EFNA1 berturut-turut adalah 1.123 dan 1.1479.¹⁸

ANLN adalah gen pengkode protein yang ekspresinya secara normal ditemukan tinggi pada beberapa organ, seperti otak. Namun, ekspresi yang berlebihan menandakan adanya kondisi keganasan. Penelitian oleh Xia dkk khusus mengamati ekspresi gen ANLN pada kanker serviks dibandingkan dengan sampel jaringan serviks normal, serta kaitannya dengan masa keberlangsungan hidup. Hasilnya menunjukkan gambaran yang serupa, bahwa ekspresinya secara signifikan lebih tinggi pada kanker serviks dibandingkan pada jaringan serviks normal. Dan secara umum, ekspresi ANLN yang tinggi secara signifikan memperpendek masa keberlangsungan hidup, yang artinya prognosis akan semakin buruk seiring dengan meningkatnya ekspresi gen ANLN.²⁸

Wei dkk melakukan penelitian dengan 75 sampel jaringan kanker serviks dan 35 sampel jaringan normal. Hasilnya menunjukkan 73 gen yang secara konsisten teridentifikasi, dengan 65 gen diantaranya mengalami peningkatan ekspresi, dan 3 diantaranya menghasilkan prognosis yang paling buruk. Salah satu dari tiga gen tersebut adalah ANLN. Risiko relatif yang dihitung dengan teknik statistika survival analysis atau hazard ratio menunjukkan orang dengan ekspresi ANLN yang tinggi memiliki risiko 1.87 lebih tinggi dibanding kelompok dengan ekspresi ANLN yang lebih rendah.²⁹ ANLN merupakan potensial tumor onkogen dan bias digunakan sebagai biomarker untuk

menentukan prognosis kanker serviks. ANLN meningkatkan progresifitas melalui jalur PI3K/AKT.²⁸

Sedangkan ZW10 interacting kinetochore atau ZWINT adalah protein pengkode gen yang terlibat dalam fungsi kinetokor. Perannya sangat penting dalam proses meiosis untuk memisahkan kromosom homolog. Hipereksresi ZWINT ditemukan dalam kondisi keganasan, misalnya penelitian telah mengidentifikasinya pada kanker prostat akibat resistensi kastrasi.³⁰ Peningkatan ZWINT berhubungan dengan rendahnya prognosis terjadinya resistensi dan peningkatan proliferasi. ZWINT diperlukan untuk mitosis spindle checkpoint yang mengakibatkan kromosom instabil. ZWINT juga berguna untuk regulasi mitosis dan siklus sel.³¹

Penelitian oleh Zhao dkk mengamati ekspresi dari 4 gen menggunakan beberapa sampel kanker serviks dan membandingkannya dengan ekspresi pada sampel jaringan serviks normal, yakni gen MMP1, EFNA 1, ANLN dan ZWINT. Mereka juga melakukan perhitungan dengan model cox's proporsional hazards dari masing-masing keempat gen tersebut untuk mengetahui prediksi kelangsungan hidup terkait tingkat ekspresi gen. Hasilnya menunjukkan gen MMP1, EFNA 1, dan ANLN memiliki rasio hazard >1 yang berarti adanya ekspresi ketiga gen tersebut merupakan sebuah faktor risiko, sedangkan nilai rasio hazard ZWINT <1 yang menunjukkan ia menjadi faktor proteksi. Selain itu, penelitian ini juga secara signifikan menunjukkan adanya peningkatan ekspresi mRNA dari keempat gen pada sampel kanker serviks dibandingkan pada sampel jaringan serviks normal.^{16, 18}

Hasil penelitian Tang dkk menunjukkan terdapat 20 gen paling signifikan mengalami peningkatan ekspresi dan berperan besar dalam progresifitas kanker serviks, salah satunya adalah ZWINT yang berada di urutan ke 18.³²

Dari banyaknya gen yang telah identifikasi dari sel kanker hingga saat ini, Suman dkk melakukan penelitian untuk melihat ekspresi gen yang secara konsisten bereksresi pada fase pre-kanker (CIN 2 dan CIN 3) dan kanker. Hasilnya ditemukan lima gen yang terus muncul disemua fase atau stadium, salah satunya adalah ZWINT. Ekspresinya terus semakin meningkat seiring dengan bertambahnya keparahan, dari CIN 2, CIN 3 sampai kanker, dibanding dengan sampel serviks normal.³³

Sampai saat ini belum pernah dilakukan penelitian yang membandingkan secara

langsung ekspresi gen MMP1, EFNA1, ANLN, dan ZWINT antara sampel normal; stadium awal dan stadium akhir dari jaringan serviks menggunakan real time PCR.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan penelitian yaitu Apakah terdapat hubungan antara ekspresi gen MMP1, EFNA1, ANLN, dan ZWINT dengan stadium karsinoma sel skuamosa serviks?

Apakah ada korelasi antara ke empat biomarker tersebut dengan stadium kanker serviks sel skuamosa?

1.3 Pertanyaan Penelitian

1. Apakah ada hubungan antara ekspresi gen MMP1 dengan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks?
2. Apakah ada hubungan antara ekspresi gen EFNA1 dengan stadium karsinoma sel skuamosas serviks pada jaringan serviks?
3. Apakah ada hubungan antara ekspresi gen ANLN dengan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks?
4. Apakah ada hubungan antara ekspresi gen ZWINT dengan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks?
5. Apakah ada korelasi antara ke empat biomarker tersebut dengan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks?

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Peningkatan ekspresi gen MMP1 berhubungan dengan peningkatan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
2. Peningkatan ekspresi gen EFNA1 berhubungan dengan peningkatan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
3. Peningkatan ekspresi gen ANLN berhubungan dengan peningkatan stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
4. Peningkatan ekspresi gen ZWINT berhubungan dengan peningkatan stadium

karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.

5. Adanya korelasi peningkatan ekspresi MMP1, EFNA1, ANLN, dan ZWINT pada setiap stadium kanker serviks skuamosa pada jaringan serviks.

1.5 Tujuan Penelitian

1.5.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menjelaskan analisa hubungan ekspresi gen MMP1, EFNA1, ANLN dan ZWINT dengan stadium karsinoma sel skuamosa serviks.

1.5.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisa ekspresi MMP1 dan pengaruhnya terhadap stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
2. Menganalisa ekspresi EFNA1 dan pengaruhnya terhadap stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
3. Menganalisa ekspresi ANLN dan pengaruhnya terhadap stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
4. Menganalisa ekspresi ZWINT dan pengaruhnya terhadap stadium karsinoma sel skuamosa serviks pada jaringan serviks.
5. Menganalisa korelasi antara ke empat biomarker berdasarkan stadium kanker serviks pada jaringan serviks.

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi masukan atau tambahan pengetahuan dalam rangka mendukung pengembangan ide pemanfaatan gen MMP1; EFNA1; ANLN, dan ZWINT sebagai salah satu target terapi yang bisa dipertimbangkan dalam penanganan pasien kanker serviks.

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam pengembangan keilmuan terutama dibidang keganasan ginekologi tentang pengaruh ekspresi gen MMP1, EFNA1, ANLN dan ZWINT sebagai biomarker terhadap progresifita, respons terapi dan prognosis karsinoma sel skuamosa serviks.

Manfaat praktis penelitian ini dapat digunakan untuk memberikan edukasi pada masyarakat mengenai kanker serviks dan kondisi genetik sebagai salah satu faktor yang mempengaruhi stadium dan prognosinya.

Penelitian ini juga diharapkan dapat memperkaya cakupan ilmu pengetahuan medis mengenai proses karsinogenesis pada karsinoma sel skuamosa untuk diagnosis, terapeutik, progresifitas, kemungkinan residif, survival, maupun prognosis dari kanker serviks.

Melalui penelitian ini juga diharapkan akan dikembangkannya targeted terapi anti ekspresi gen MMP1, EFNA1, ANLN, dan ataupun ZWINT agar dapat memberikan terapi novel dengan survival yang lebih tinggi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Serviks

2.1.1 Definisi Kanker Serviks

Kanker serviks merupakan suatu penyakit keganasan yang menyerang serviks, kebanyakan disebabkan oleh *Human Papiloma Virus* (HPV). Secara anatomis, serviks merupakan sepertiga bagian bawah uterus, berbentuk silindris, menonjol dan berhubungan dengan vagina melalui ostium uteri eksternum yang bisa disebabkan oleh faktor genetik, pola hidup yang tidak baik, higiene yang kurang, serta sering berganti pasangan seksual.³⁴

2.1.2 Epidemiologi

Terdapat lebih dari 2 miliar wanita usia ≥ 15 tahun di dunia yang berisiko terkena kanker serviks dan setiap tahun terdapat 527.624 perempuan didiagnosis menderita kanker serviks serta 265.672 meninggal akibat penyakit tersebut. Kanker serviks adalah kanker paling sering ke-4 pada perempuan dan merupakan kanker terbanyak ke-2 pada wanita usia 15 sampai 44 tahun. Data di Asia tercatat sekitar 284.823 kasus kanker serviks dimana angka kejadian kanker serviks untuk wilayah Asia Tenggara dalam rentang usia 15 sampai 39 tahun adalah 9.082 kasus, usia 40 sampai 64 tahun sekitar 32.892 kasus, dan untuk usia yang lebih dari 65 tahun sekitar 8.581 kasus. Indonesia menduduki posisi keempat dengan jumlah kejadian kanker serviks terbanyak di Asia Tenggara setelah Kamboja, Myanmar dan Thailand. Sekitar 7,9% (528.000) kasus baru dan 7,5% (266.000) kasus kematian ditemukan di tahun 2012. Lebih dari 85% terjadi di negara berkembang dan 87% penderita kanker serviks meninggal di daerah yang kurang berkembang Untuk negara berkembang, kanker serviks merupakan penyebab kematian kedua tertinggi setelah kanker payudara, hal ini terjadi karena rendahnya deteksi dini lesi prakanker hingga banyak pasien terdiagnosis pada stadium lanjut.¹

Berdasarkan Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 2005, insiden kanker berkisar 1/1.000 penduduk setiap tahunnya. Setiap tahunnya kurang lebih terdapat 15.000 kasus kanker serviks baru dengan 7.500 kematian terkait kanker. Menurut laporan Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia tahun 2011, kanker serviks menduduki urutan kedua dari 10 kanker terbanyak perempuan di Indonesia

dengan jumlah 3.023 kasus, dan lebih dari 75% kasus datang ke Rumah sakit dalam keadaan lanjut. Berdasarkan pencatatan kanker registrasi RSCM tahun 2015 diperoleh 443 kasus kanker serviks di RSCM, sebanyak 68,2% datang pada stadium lanjut.³⁵

2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko

Karsinoma serviks adalah penyakit yang progresif, mulai dengan intraepitel, berubah menjadi neoplastik, dan akhirnya menjadi kanker serviks setelah 10 tahun atau lebih. Secara histopatologi lesi pra invasif biasanya berkembang melalui beberapa stadium displasia (ringan, sedang, dan berat) menjadi karsinoma insitu dan akhirnya invasif. Berdasarkan karsinogenesis umum, proses perubahan menjadi kanker diakibatkan oleh adanya mutasi gen pengendali siklus sel. Gen pengendali tersebut adalah onkogen, tumor supresor gene, dan repair genes. Onkogen dan tumor supresor gen mempunyai efek yang berlawanan dalam karsinogenesis, dimana onkogen memperantarai timbulnya transformasi maligna, sedangkan tumor supresor gen akan menghambat perkembangan tumor yang diatur oleh gen yang terlibat dalam pertumbuhan sel. Meskipun kanker invasive berkembang melalui perubahan intraepitel, tidak semua perubahan ini progres menjadi invasive.³⁶

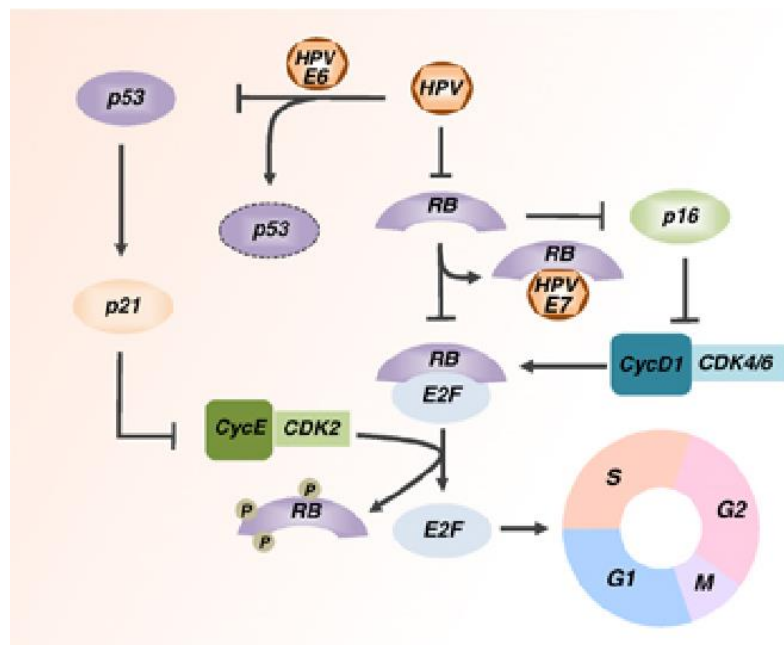
Hampir seluruh kasus kanker serviks diakibatkan oleh infeksi kronis virus human papilloma (HPV) subtype onkogen risiko tinggi.³⁷ HPV adalah virus DNA rantai ganda (*double stranded*) sirkuler dengan 8000 basa dengan diameter 55 nm. Karsinogenitas HPV terutama dipengaruhi oleh aktivitas dua jenis onkogen yaitu E (*early gene*) 6 dan E7. Produk dari E6 berhubungan dengan supresor tumor p53 dan E7 dengan pRb. Ada lebih dari 120 jenis HPV dengan 30 tipe yang menginfeksi epitel skuamosa di traktus anogenital bawah. 15 tipe diantaranya diklasifikasikan sebagai karsinogen definitif meliputi HPV tipe 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, dan 68. HPV terdeteksi pada 99,7% kasus kanker serviks.^{2, 38, 39}

DNA HPV memiliki delapan *open reading frames* (ORFs), yaitu *early region* yang terdiri atas E1, E2, E4, E5, E6, E7 (diekspresikan dalam tahap awal diferensiasi), L1 dan L2 (diekspresikan dalam tahap akhir diferensiasi) dan daerah kontrol (*long control region*) yang terletak diantara E dan L. Semua ORF sekuens pengkode protein terbatas untuk satu untai genom secara fungsional dibagi menjadi tiga region. Yang pertama adalah *noncoding upstream regulatory region*, yang disebut sebagai daerah *noncoding*, wilayah kontrol panjang (LCR), atau wilayah regulasi atas. Region ini mengandung

promotor p97, *enhancer* dan *silencer* yang mengatur replikasi DNA. Regio kedua adalah *Early Region* (45% dari region), terdiri dari ORF (*open reading frames*) E1, E2, E4, E5, E6, dan E7, dimana terlihat dalam replikasi virus dan onkogenesis. Region ketiga adalah *late region* (40% dari genom) terbagi menjadi 2 yaitu L1 (95%) dan L2 (5%) yang merupakan protein structural pembentuk *capsid* HPV.^{40, 41}

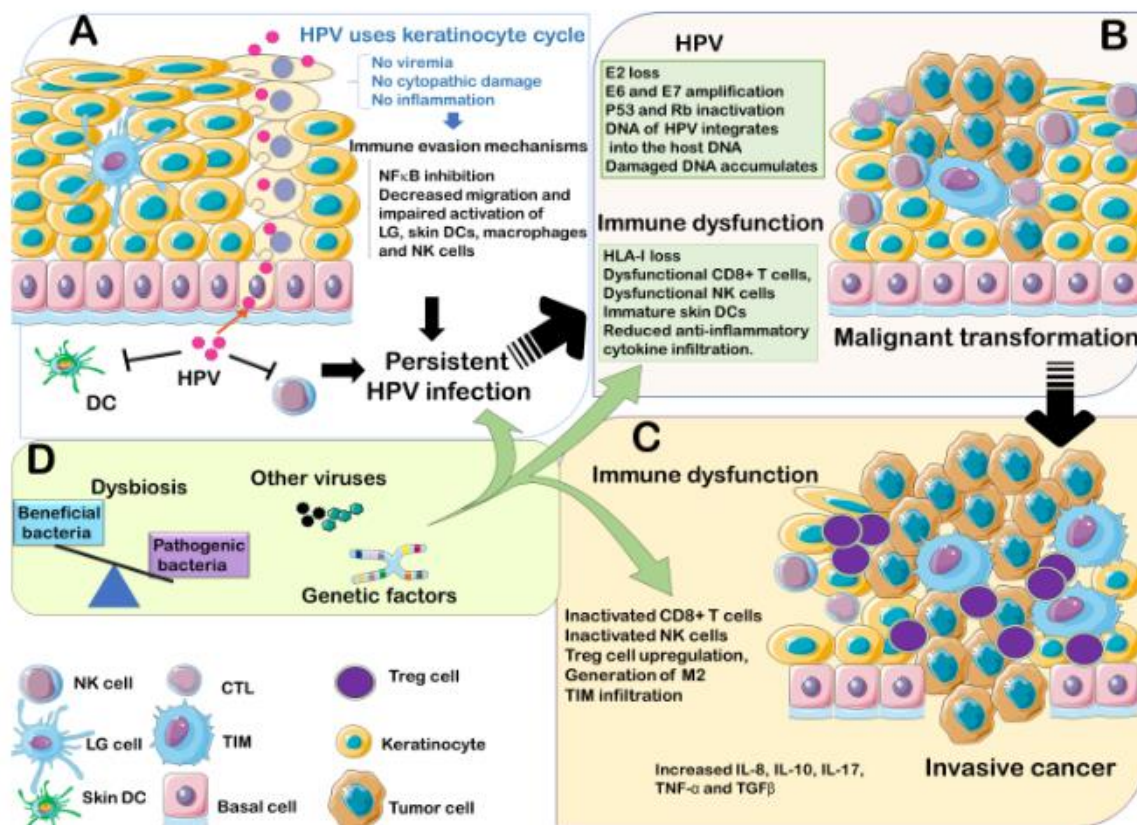
E2 merupakan protein virus yang mempunyai peranan sebagai regulator replikasi virus, E2 akan terkait dengan kromosom DNA sel. Ikatan ini menyebabkan ekspresi E2 terganggu, terganggunya E2 menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi E6 dan E7. E1 dan E2 mengkode protein yang mengontrol fungsi dari gen E6 dan E7 (bagian dari onkoprotein) yang berperan untuk replikasi virus. E1 dan E2 juga berfungsi untuk transkripsi virus. E4 mengkode rangkaian protein yang fungsinya untuk kontrol pelepasan virus (pertumbuhan dan pematangan virus). E5 tampaknya menginduksi hilangnya ekspresi permukaan MHC (*Major Histocompatibility Complex*)-I dalam epitel, menyebabkan terhindarnya imunitas dalam tahap awal diferensiasi (mengkode hidrofobik protein yang menyebabkan immortalitas sel). E5 sebagai onkogen lemah juga memiliki peranan dalam meningkatkan kadar EGFR (*epidermal growth factor receptor*) dengan demikian menghambat ekspresi MHC.⁴² Onkoprotein E6 dan E7 yang berasal dari HPV merupakan protein onkogenik utama, berperan dalam proses keganasan karena kemampuannya untuk mengikat dan mendegradasi protein gen supresor tumor p53 dan retinoblastoma (pRb) pada sel *host* yang terinfeksi. Kedua jenis protein gen supresor tumor ini berfungsi menghentikan laju siklus dan proliferasi sel. Onkoprotein E6 dari HPV akan mengikat protein sel (*associated protein/AP*) kompleks E6-AP menyebabkan kerusakan p53 sehingga Tumor suppressor gene (TSG) p53 akan kehilangan fungsinya. Kerusakan p53 menyebabkan aktivitas henti sel (*check point*) dan apoptosis tidak terjadi, siklus sel berjalan tanpa kontrol. Sedangkan onkoprotein E7 akan mengikat TSG pRb, ikatan ini menyebabkan terlepasnya E2F, dan E2F merupakan faktor transkripsi sehingga siklus sel berjalan tanpa kontrol. Masing-masing memiliki banyak sel target, terutama adalah retinoblastoma *tumour suppression protein* (pRB). Inhibisi E6 memblokir apoptosis p53, sedangkan inhibisi E7 meniadakan siklus istirahat sel.⁴³ E6 mengkode gen protein yang menghambat negative regulator dari siklus sel dan pada akhirnya menghambat p53 yang merupakan faktor transkripsi untuk apoptosis. Onkogen E6 diketahui pula memacu sekresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dengan kadar yang tinggi. E7 mengkode protein virus yang mengikat protein supresi tumor retinoblastoma,

mengakibatkan progresifitas sel dalam siklusnya tanpa normal sinyal mitotic. L1/L2 mengkode structural protein untuk fungsi virus dan pembentukan partikel virus yang komplit. Selain itu, DNA HPV memiliki sebuah LCR, yang mengatur transkripsi dari E6 dan E7 virus onkogen melalui faktor transkripsi virus dan pejamu, penting untuk replikasi virus normal dan mengontrol ekspresi gen. E6 dan E7 mengkode gen transformasi pada HPV, kedua protein tersebut berhubungan erat dengan proses karsinogenesis pada karsinoma serviks mengingat kedua protein tersebut mampu berikatan dengan *tumor suppressor gene*.^{41, 44} Mekanisme HPV risiko tinggi dalam menyebabkan instabilitas genetik yaitu melalui aktivitas metilasi DNA seluler, aktivitas (proto)onkogen, inaktivasi *tumour supressor genes* (TSG), dan aktivitas telomerase.^{43, 45, 46}



Gambar Mekanisme kerja HPV dalam menginaktivasi tumor supresor gen.⁴⁷

Umumnya infeksi HPV 85% bisa resolusi spontan tanpa terapi, namun 15% diantaranya bisa persisten akibat terjadinya *immune escape*, dengan melemahkan antiviral aktifitas keratinosit, melemahkan *antigen presenting cell* (APCs), melemahkan respon imun makrofag, melemahkan sel *natural killer* (NK), menghambat sinyal apoptosis, dan sebagainya.⁴⁸



Gambar mekanisme karsinogenesis akibat HPV persisten.⁴⁸

Hubungan seksual di usia muda dan berganti-ganti pasangan seksual merupakan faktor risiko utama. Riwayat hubungan seksual pertama pada usia muda (<20 tahun) memiliki risiko 8 kali lipat dan berganti-ganti pasangan seksual mempunyai risiko 4 kali lipat lebih tinggi untuk menderita kanker serviks.⁴⁹

Faktor nutrisi, tingkat pendidikan dan ekonomi juga meningkatkan risiko. Keadaan malnutrisi berkaitan dengan buruknya kemampuan pertahanan lokal dalam melakukan pembersihan terhadap virus HPV. Mikronutrien seperti karotenoid, folat, vitamin C, lycopenedan cryptoxanthin memiliki efek protektif yaitu berperan dalam proses regresi NIS 1 menjadi normal kembali. Pasien dengan status imunitas yang rendah diakibatkan infeksi kronis seperti pada pasien HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) atau infeksi kronis lainnya lebih cepat mengalami progresi menjadi lesi prekanker dan kanker.⁵⁰

Paritas tinggi meningkatkan risiko karsinoma sel skuamosa serviks di antara perempuan dengan HPV positif.^{51, 52} Hal ini dibuktikan oleh Nubia Munoz dkk yang menemukan bahwa terdapat hubungan langsung antara jumlah kelahiran dan risiko kanker sel skuamosa serviks, dimana OR (Odd Ratio) untuk kelahiran sebanyak 7 kali

dibandingkan dengan perempuan nulipara sebesar 3,8 (95% IK (Interval Kepercayaan) 2,7–5,5) dan 2,3 (95% IK 1,6-3,2) jika dibandingkan dengan perempuan yang memiliki 1 atau 2 kelahiran. Sedangkan untuk risiko adenokarsinoma atau adenooskuamosa tidak berhubungan dengan jumlah kelahiran.⁵³

Merokok memiliki korelasi yang kuat dengan infeksi HPV. Tembakau mengandung bahan-bahan karsinogen baik yang dihisap akan menghasilkan *polycyclic aromatic hydrocarbons heterocyclic amine* yang sangat karsinogen dan mutagen maupun yang dikunyah yang akan menghasilkan nitrosamine. Merokok secara signifikan meningkatkan risiko karsinoma sel skuamosa serviks (RR (Relative Risk): 1,50 ; 95% IK: 1,35–1,66) namun tidak meningkatkan risiko adenokarsinoma serviks (RR: 0,86; 95% IK: 0,70–1,05).^{53, 54}

Infeksi oleh mikroorganisme yang ditularkan secara seksual berhubungan dengan Chlamydia trachomatis (CT) dan Herpes simplex virus tipe 2 (HSV-2) dikatakan pula berkaitan dengan peningkatan risiko kanker serviks di antara perempuan dengan HPV positif. Hal ini diperkirakan disebabkan karena induksi inflamasi pada serviks yang dapat menimbulkan kerusakan genotoksik melalui metabolit oksidatif reaktif. Analisis dari beberapa studi kasus kontrol di antara perempuan dengan HPV positif, risiko untuk kanker serviks sel skuamosa lebih tinggi pada perempuan dengan CT positif (OR 1,8 ; 95%: 1,2-2,7).⁵⁴

Penggunaan kontrasepsi oral berkaitan dengan peningkatan risiko kanker serviks. Bila dibandingkan dengan wanita tanpa riwayat menggunakan kontrasepsi oral, risiko pasien pengguna kontrasepsi oral mengalami peningkatan sesuai dengan durasi penggunaan. Untuk durasi kurang dari 5 tahun, 5-9 tahun, 10 tahun dan lebih dari 10 tahun terdapat RR masing-masing 1,1 (95% IK 1,1-1,2), 1,6 (1,4-1,7), dan 2,2 (1,9-2,4) untuk semua wanita dan 0,9 (0,7-1,2), 1,3 (1,0-1,9), dan 2,5 (1,6-3,9) untuk wanita dengan infeksi HPV. Dalam suatu meta analisis didapatkan risiko kanker serviks meningkat pada kelompok yang menggunakan selama 5 tahun atau lebih dibandingkan dengan yang tidak pernah menggunakan dengan RR 1,9 (1,69-2,13). Risiko akan menurun setelah seorang perempuan berhenti menggunakan kontrasepsi oral dan setelah 10 tahun atau lebih, risikonya akan kembali seperti kelompok yang tidak pernah menggunakan kontrasepsi oral.⁵⁵⁻⁵⁷

2.1.4 Diagnosis dan Klasifikasi stadium kanker serviks

Diagnosis kanker serviks ditegakkan atas dasar histopatologi spesimen biopsi serviks. Kanker serviks uteri stadium dini tidak memiliki tanda gejala yang jelas. Adapun, gejala kanker serviks yang utama, diantaranya:^{2, 58}

- a. Perdarahan pervaginam
- b. Sekret per vaginam berupa keputihan bertambah yang berbau.
- c. Nyeri: umumnya terjadi pada stadium sedang, lanjut atau bila disertai infeksi. Sering berlokasi di abdomen bawah, regio gluteal, atau sakro koksigeal. Nyeri abdomen bawah tengah umumnya disebabkan karena lesi kanker disertai infeksi atau akumulasi cairan, pus dalam kavum uteri yang menyebabkan uterus berkontraksi. Nyeri intermiten abdomen mungkin disebabkan oleh kompresi atau invasi tumor sehingga ureter obstruksi dan dilatasi. Bila timbul hidronefrosis dapat menimbulkan nyeri pinggang, nyeri tungkai bawah, gluteal, sakrum dapat juga disebabkan karena desakan atau invasi tumor terhadap saraf di daerah kavum pelvis.
- d. Gejala saluran urinarius: sering kali karena infeksi, dapat timbul polakisuria, urgensi, disuria. Dengan progresi kanker, dapat mengenai buli-buli, timbul hematuria, piuria, hingga terbentuk fistel sisto-vaginal. Bila lesi menginvasi ligamen kardial, mendesak atau invasi ureter, timbul hidronefrosis, akhirnya menyebabkan uremia.
- e. Gejala saluran pencernaan: ketika lesi kanker menyebar ke ligamen kardinal, ligamen sakral, dapat menekan rektum, timbul obstipasi, bila tumor menginvasi rektum dapat timbul hematokezia, dan akhirnya timbul fistel rektovaginal.
- f. Gejala sistemik: lemah, letih, demam, berat badan menurun, anemia, oedem.

Penentuan stadium penting dalam memperkirakan penyebaran penyakit, prognosis rencana tindakan, dan memberikan arti perbandingan dari metode terapi. Tahapan stadium klinis yang dipakai sekarang adalah pembagian menurut *Federation International Of Gynecologi And Obstetric* (FIGO) tahun 2018.⁵⁹

Tabel 1. Penetapan Stadium Klinik Kanker Serviks berdasarkan FIGO 2018⁵⁹.

Stadium	Kriteria
I	Kanker terbatas pada serviks, penyebaran ke korpus uteri tidak dinilai secara khusus
IA	Mikroskopik karsinoma invasif, kedalaman invasi stroma < 5 mm dan lebar ≤ 7 mm.
IA1	Invasi stroma kedalaman ≤ 3 mm dan lebar ≤ 7 mm
IA2	Invasi stroma kedalaman > 3 mm dan ≤ 5 mm dan lebar ≤ 7 mm.
IB	Secara klinis lesi tampak terbatas pada cervix uteri atau lesi mikroskopis yang lebih dari stadium IA
IB1	Invasi kanker kedalaman > 5 mm dan ukuran terbesar ≤ 2 cm
IB2	Ukuran tumor > 2 cm dan ≤ 4 cm
IB3	Ukuran terbesar tumor > 4 cm
II	Kanker invasi keluar uterus tetapi tidak mencapai 1/3 vagina distal, dan tidak mencapai dinding panggul
IIA	Kanker invasi keluar uterus tetapi tidak mencapai 1/3 vagina distal dan tanpa keterlibatan parametrium.
IIA1	Ukuran tumor ≤ 4 cm
IIA2	Ukuran tumor > 4 cm
IIB	Kanker invasi ke parametrium tetapi belum mencapai dinding panggul
III	Kanker invasi ke dinding pelviks dan atau mencapai 1/3 distal vagina Kanker invasi ke 1/3 distal vagina
IIIA	
IIIB	Kanker invasi ke dinding lateral panggul, atau menyebabkan hidronefrosis/ gangguan ginjal
IIIC	Terdapat metastasis ke kelenjar getah bening pelvik maupun paraaorta (termasuk mikometastasis)

IIIC1 Metastasis KGB pelvik saja

IIIC2 Metastasis KGB paraaorta

IV	Kanker invasi ke luar pelvis mayor dan atau invasi ke mukosa kandung kemih dan/atau mukosa rektum
IVA	Kanker invasi ke kandung kemih dan/atau mukosa rektum
IVB	Kanker menyebar ke organ jauh

2.1.5 Jenis histopatologi kanker serviks

Jenis skuamosa merupakan jenis yang paling sering ditemukan, yaitu \pm 90% merupakan karsinoma sel skuamosa (KSS), adenokarsinoma 5% dan jenis lain sebanyak 5%. Karsinoma skuamosa terlihat sebagai jalinan kelompok sel-sel yang berasal dari skuamosa dengan pertandukan atau tidak, dan kadang-kadang tumor itu sendiri berdiferensiasi buruk atau dari sel-sel yang disebut small cell, berbentuk kumparan atau kecil serta bulat seta mempunyai batas tumor stroma tidak jelas. Sel ini berasal dari sel basal atau reserved cell. Sedang adenokarsinoma terlihat sebagai sel-sel yang berasal dari epitel torak endoserviks, atau dari kelenjar endoserviks yang mengeluarkan mucus.⁶⁰

Tabel 2 . Klasifikasi histologik kanker serviks

<p>1. Squamous carcinoma</p> <ul style="list-style-type: none"> • Keratinizing • Large cell non keratinizing • Small cell non keratinizing • Verrucous
<p>2. Adeno carcinoma</p> <ul style="list-style-type: none"> • Endocervical • Endometroid (adenocanthoma) • Clear cell - paramesonephric • Clear cell - mesonephric • Serous • Intestinal
<p>3. Mixed carcinoma</p> <ul style="list-style-type: none"> • Adenosquamous

<ul style="list-style-type: none"> • Mucoepidermoid • Glossy cell • Adenoid cystic
4. Undifferentiated carcinoma
5. Carcinoma tumor
6. Malignant melanoma
7. Malignant non-epithelial tumors <ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma : mixed mullerian, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma • Lymphoma
<p style="text-align: center;"><i>75% jenis kanker serviks adalah squamous cell carcinoma, 10-15% adalah tipe adenocarcinoma, dan sisanya jarang terjadi.</i></p>

2.1.6 Pengobatan kanker serviks^{59 61}

Terapi karsinoma serviks dilakukan bila mana diagnosis telah dipastikan secara histologik dan stadium sudah ditetapkan baik secara klinis maupun dengan bantuan radiologi. Pengobatan kanker leher rahim tergantung pada lokasi dan ukuran tumor, stadium, usia, keadaan umum penderita, dan fertilitas.

1. Pembedahan

Pembedahan merupakan salah satu terapi yang bersifat kuratif maupun paliatif. Kuratif adalah tindakan yang bertujuan menghilangkan penyebabnya sehingga manifestasi klinik yang ditimbulkan dapat dihilangkan. Sedangkan tindakan paliatif adalah tindakan yang berarti memperbaiki keadaan penderita. Histerektomi radikal adalah suatu tindakan pembedahan yang bertujuan untuk mengangkat uterus dan serviks, parametrium, parakolpium dan vagina. Biasanya dilakukan pada stadium awal yaitu stadium IA sampai IIA (klasifikasi FIGO).

2. Terapi penyinaran (radioterapi)

Terapi radiasi bertujuan untuk merusak sel kanker baik pada serviks, parametrial; dinding panggul dan kelenjar getah bening. Kanker serviks stadium IIB, III, IV sebaiknya

diobati dengan radiasi. Metoda radioterapi disesuaikan dengan tujuannya yaitu tujuan pengobatan kuratif atau paliatif. Pengobatan kuratif ialah mematikan sel kanker serta sel yang telah menjalar ke sekitarnya atau bermetastasis ke kelenjar getah bening dengan tetap mempertahankan sebanyak mungkin kebutuhan jaringan sehat di sekitar seperti rektum, vesika urinaria, usus halus, ureter. Radioterapi dengan dosis kuratif hanya akan diberikan pada stadium IIB sampai III C, atau bisa juga diberikan pada stadium awal bila ditemukan kontraindikasi tindakan pembedahan maupun paska pembedahan sebagai terapi adjuvant apabila di nilai risiko tinggi untuk kekambuhan. Apabila sel kanker sudah keluar ke rongga panggul, maka radioterapi hanya bersifat paliatif yang diberikan secara selektif pada stadium IV A. Pada radioterapi digunakan sinar berenergi tinggi untuk merusak sel-sel kanker dan menghentikan pertumbuhannya. Efek samping dari terapi penyinaran adalah iritasi rektum dan vagina, kerusakan kandung kemih dan rektum dan ovarium berhenti berfungsi.

3. Kemoterapi

Kemoterapi adalah penatalaksanaan kanker dengan pemberian obat kemoterapi bias melalui pembuluh darah, tablet/kapsul, intraperitoneum atau intramuskuler. Obat kemoterapi digunakan utamanya untuk membunuh sel kanker dan menghambat perkembangannya, atau sebagai *radiosensitiser*. Tujuan pengobatan kemoterapi tergantung pada jenis kanker dan stadiumnya. Pada pengobatan kanker serviks; pemberian kemoterapi dilakukan pada stadium lanjut, bisa sebagai terapi kuratif (terutama pada fasilitas yang tidak memiliki radioterapi) maupun sebagai terapi paliatif.

Penelitian oleh Rameri (2017) dengan pemberian kemoterapi neoadjuvan pada kanker serviks lokal lanjut (IB2- IVA) menemukan hasil *overall recurrence rate* (ORR) yang tidak berbeda dengan kasus yang langsung diberikan terapi definitif.^{61, 62}

Terdapat beberapa alasan digunakan kemoterapi neoadjuvan, yaitu untuk mengecilkan ukuran tumor sehingga memudahkan tindakan pembedahan, menurunkan angka rekurensi dan meningkatkan survival. Namun berbeda dengan teori diatas temuan klinis mengenai manfaat kemoterapi neoadjuvan masih kontroversi, pada pasien yang resisten dengan kemoterapi maka akan menunda pemberian terapi definitif. Berdasarkan penelitian di Prague menemukan angka respon komplit terhadap kemoterapi neoadjuvan adalah 12,6% dengan angka progresifnya 6%, sehingga sangat penting untuk menemukan penanda yang dapat mengidentifikasi pasien mana yang relatif lebih

resisten terhadap kemoterapi.⁶³

Faktor klinis seperti usia, kadar hemoglobin (Hb), ukuran awal tumor, tipe histopatologi dan derajat diferensiasi akan mempengaruhi respon kemoterapi demikian juga dengan faktor angiogenesis sebagai respon terhadap hipoksia yang terjadi pada kanker serviks yang merupakan tumor padat akan juga mempengaruhi respon kemoterapi.⁶⁴⁻⁶⁶

Hipoksia diketahui berperan untuk terjadinya resistensi pada kemoterapi dan radiasi. Saat lingkungan sekitar tumor yang hipoksia, maka sel akan merespon dengan aktivasi regulator hipoksia yang sangat penting yaitu HIF (*hypoxia inducible factor*). Adanya ekspresi HIF-1A akan merangsang pelepasan berbagai faktor angiogenesis, seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *angiopoetin*, *angiogenin*, dan *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF). Selanjutnya faktor angiogenesis tersebut mengakibatkan aktivasi protease endotel, proliferasi, migrasi endotel, dan menghambat aktivitas apoptosis sehingga mengakibatkan pembentukan mikrovaskular yang baru.⁶⁷

Jika kanker menyebar luas dan dalam fase akhir, kemoterapi digunakan sebagai paliatif untuk memberikan kualitas hidup yang lebih baik. Kemoterapi secara kombinasi telah digunakan untuk penyakit metastase karena terapi dengan agen-agen dosis tunggal belum memberikan keuntungan yang memuaskan. Contoh obat yang umum digunakan pada kasus kanker serviks antara kombinasi antara platinum dan taxane.

2.1.7 Prognosis kanker serviks^{1, 59}

Prognosis kanker serviks adalah buruk. Prognosis yang buruk tersebut dihubungkan dengan 85-90 % kanker serviks terdiagnosis pada stadium invasif, stadium lanjut, bahkan stadium terminal. Selama ini, beberapa cara dipakai menentukan faktor prognosis adalah berdasarkan klinis dan histopatologis seperti keadaan umum, stadium, besar tumor primer, jenis sel, derajat diferensiasi Broders. Prognosis kanker serviks tergantung dari stadium penyakit. Umumnya, *5-years survival rate* untuk stadium I lebih dari 90%, untuk stadium II 60-80%, stadium III kira - kira 50%, dan untuk stadium IV kurang dari 30% .

1. **Stadium 0:** 100 % penderita dalam stadium ini akan sembuh.
2. **Stadium 1:** Kanker serviks stadium I sering dibagi menjadi IA dan IB. Dari semua wanita yang terdiagnosis pada stadium IA memiliki *5-years survival rate*

sebesar 95%. Untuk stadium IB *5-years survival rate* sebesar 70 sampai 90%. Ini tidak termasuk wanita dengan kanker pada limfonodi mereka.

3. **Stadium 2:** Kanker serviks stadium 2 dibagi menjadi 2, 2A dan 2B. Dari semua wanita yang terdiagnosis pada stadium 2A memiliki *5-years survival rate* sebesar 70-90%. Untuk stadium 2B *5-years survival rate* sebesar 60 sampai 65%.
4. **Stadium 3:** Pada stadium ini *5-years survival rate*-nya sebesar 30-50%.
5. **Stadium 4:** Pada stadium ini *5-years survival rate*-nya sebesar 20-30%.

2.2 MMP1

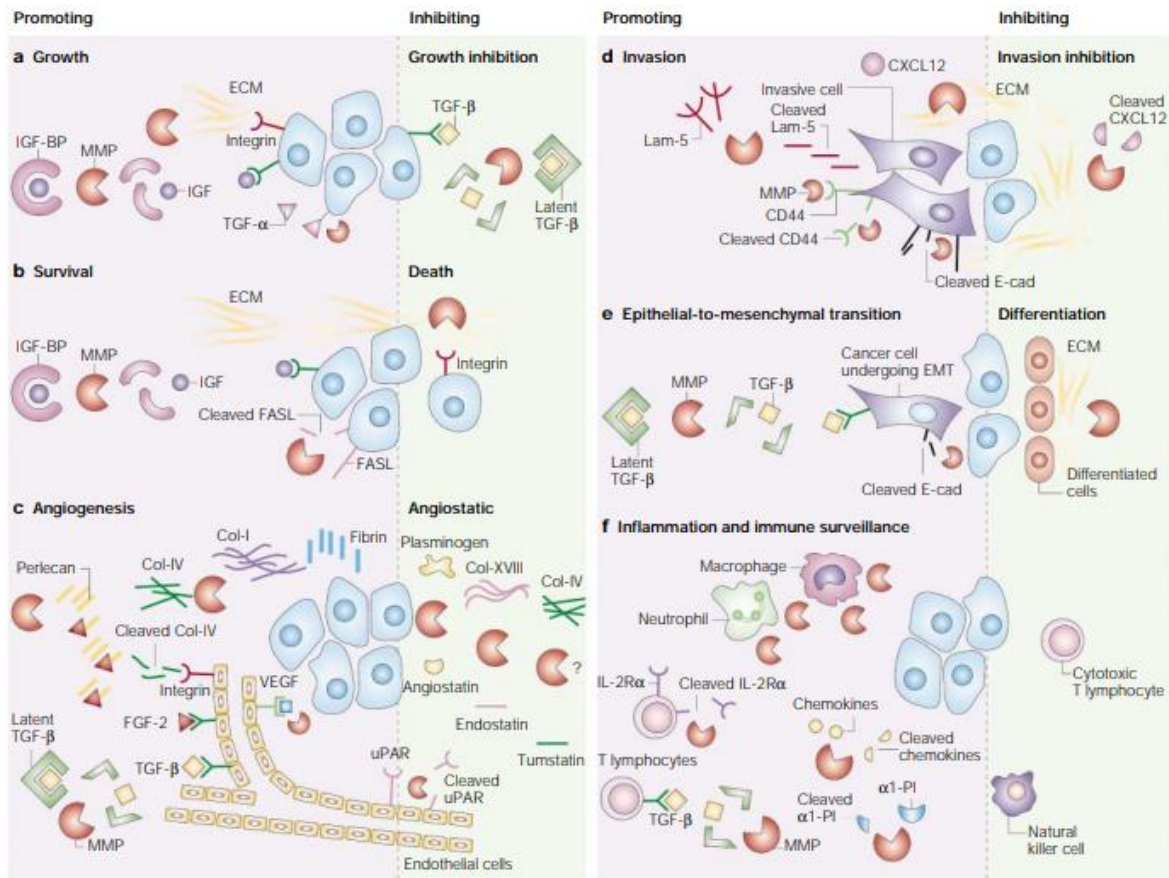
Metalloproteinase dari sebuah matriks dikenal sebagai matriksin atau MMP (*Matrix Metallo Proteinase*), merupakan bagian dari subgrup zink-endoproteinase yang diproduksi oleh jaringan ikat. Enzim ini terlibat dalam berbagai peristiwa penting yang menyebabkan degradasi jaringan ikat, baik karena peristiwa fisiologis maupun patologis. Penurunan matriks ekstraseluler (*extracellular matrix* atau ECM) menjadi sebuah bagian penting dalam proses terjadinya invasi dan metastasis keganasan selama perkembangan kanker, contohnya metastasis kelenjar getah bening. Degradasi dari ECM ini salah satunya akibat aktifnya *matriks metallo proteinase* (MMPs) yang mencerna berbagai komponen protein ECM. Perubahan struktur ECM ini diikuti oleh proses fisiologis lain, misalnya embriogenesis, angiogenesis, apoptosis dan pembentukan jaringan ikat baru. Seluruh perubahan ini mendukung perkembangan kanker.⁶⁸

MMP diketahui berkaitan erat dengan dengan pembentukan dan perkembangan karsinoma sel skuamosa (*squamous cell carcinoma* atau SCC). Gen MMP yang terlibat dalam perkembangan SCC termasuk MMP1, 2, 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13, dan hampir seluruhnya mengalami over ekspresi pada jaringan SCC dibanding pada jaringan normal. Seluruh gen MMP diklasifikasikan dalam kelompok berbeda. MMP1 merupakan bagian dari kelompok kolagenase, yakni sebagai kolagenase intersisial.⁶⁹

Sebagai kolagenase intersisial, ekspresi MMP1 yang abnormal terlibat dalam perkembangan kanker.²³ Peningkatan ekspresinya dideteksi pada berbagai jenis kanker dan sangat berpengaruh terhadap prognosis. Selain itu, MMP1 juga menjadi promotor terjadinya angiogenesis dengan mengaktifasi protease-activated reseptor 1 pada endotelial.⁷⁰ Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel glioma dapat melakukan invasi dengan dipromotori oleh MMP1 melalui jalur protein kinase yang mengaktifasi

mitogen.¹⁵

MMP1 yang diproduksi oleh sel tumor secara fungsional berkontribusi pada penyebaran vaskular karsinoma sel skuamosa. MMP1 menginduksi permeabilitas vaskular melalui aktivasi *Protease Activated Receptor* (PAR)-1 endotelial, sehingga memungkinkan terjadinya invasi sel karsinoma dan metastasis.⁷⁰



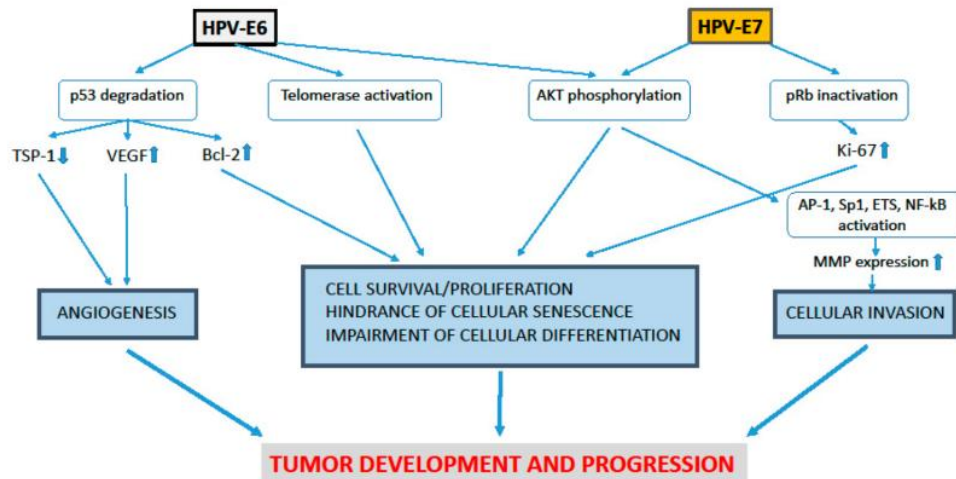
Gambar : Fungsi MMP1 dalam progresifitas kanker.⁷¹

Matrix metalloproteinases (MMPs) mempunyai dua fungsi sebagai promoting kanker dan fungsi inhibin kanker

- A. MMPs promosi pertumbuhan sel kanker dengan *cleaving insulin-growth-factor-binding protein* (IGF-BP), melepaskan IGF; melalui transmembrane prekursor *growth factors* termasuk menginisiasi *growth factor-α* (TGF-α); dan melalui regulasi matriks ekstraselular, mempromosikan pertumbuhan secara tidak langsung melalui interaksi antara matriks ekstraselular dengan integrins. MMP juga dapat memperlambat pertumbuhan sel kanker melalui transformasi *growth factor-β* (TGF-β) dari laten TGF-β kompleks

- B. MMP mengakibatkan survival sel kanker dengan inisiasi IGF melalui jalur FAS ligand (FASL), ligan untuk *death receptor* FAS. MMPs juga mengakibatkan apoptosis, melalui perubahan komposisi matriks ekstraselular, yang akan mempengaruhi sinyal integrin.
- C. MMPs promosi angiogenesis dengan peningkatan bioavailabilitas dari pro angiogenesis *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblast growth factor 2* (FGF-2), and TGF- β . Faktor-faktor ini menstimulasi proliferasi dan migrasi sel endothelial. FGF-2 aktivasi melalui protein matriks ekstraselular, yang mekanisme ini bertanggung jawab untuk peningkatan VEGF. Sebagai tambahan MMPs juga mempromosi invasi endothelial sel melalui struktural komponen matriks ekstraselular seperti, kolagen tipe I (Col-I) dan IV (Col-IV) dan fibrin. Kolagen matriks ekstraselular ini berperan sebagai pro-angiogenesis dengan mengikat integrin $\alpha\beta 3$. MMPs juga dapat berperan sebagai anti angiogenesis melalui plasminogen dan Col-XVIII, menghasilkan generasi anti angiogenesis dari anti angiogenesis faktor angiostatin dan endostatin. MMPs juga berpartisipasi dalam generasi *urokinase-type plasminogen activator receptor* (uPAR) pada permukaan sel endothelial yang dapat menghambat angiogenesis, dan uPAR diperlukan oleh sel endothelial invasi invitro.
- D. MMPs meregulasi invasi melalui degradasi struktur komponen matriks ekstraselular. Terutama MMPs mempromosikan invasi dan migrasi melalui jalur laminin 5 (Lam-5), juga melalui jalur molekul adhesi CD44 and Ecadherin (E-cad). Pelepasan bagian dari E-cad mengikat dan menghambat fungsi molekul E-cad. Sebagai tambahan migrasi MMP-9 ke CD44 juga diperlukan untuk invasi sel kanker. MMPs dapat menghambat metastasis melalui jalur CXCL12, kemokin dari keluarga CXC yang mempromosikan metastasi kanker payudara.
- E. MMPs mempromosikan *epithelial-to-mesenchymal transition* (EMT). Transisi yang berhubungan dengan perilaku keganasan melalui jalur molekular sel adhesi E-cad dan TGF- β . MMPs juga mempromosikan differensiasi melalui perubahan komponen matriks ekstraselular dan pengaruh sinyal integrin.
- F. Reaksi inflamasi sel merupakan kunci dari keterlibatan MMPs dengan progresifitas kanker, namun MMPs juga menghambat reaksi imun melawan sel kanker. MMPs membelah reseptor interleukin-2- α (IL-2R α) pada limfosit T, mengakibatkan inhibisi proliferasi limfosit T; melepaskan TGF- β , yang

merupakan *suppressor* penting rekasi sel T melawan sel kanker; membelah $\alpha 1$ -*proteinase inhibitor* ($\alpha 1$ -PI), menyebabkan penurunan sensitivitas kanker sel terhadap *natural killer cells*; membelah anggota keluarga dari CC and CXC chemokine, mengakibatkan lolosnya dari sel lekosit.



Gambar peranan MMP terhadap perkembangan dan progresifitas tumor.⁷²

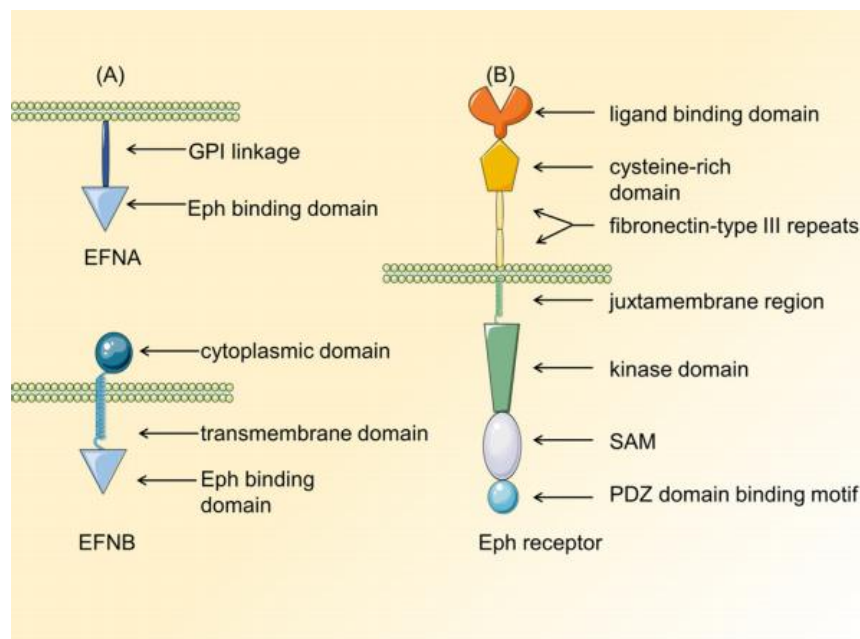
2.3 EFNA1

Reseptor Eph adalah famili reseptor tirosin kinase paling besar. Reseptor-reseptor ini diaktivasi oleh ligan protein yang disebut ephrin dan menempel ke membran sel, baik pada domain protein *membrane-spanning* (tipe B) manapun glikolfosfatidil inositol (tipe A).⁷³ EphA2 (ECK) merupakan salah satu bagian dari reseptor protein kinase Eph (*erythropoietin-producing hepatoma*) yang terletak di kromosom 1p36 dan ditemukan over ekspresi pada beberapa tumor.^{25, 74, 75} Reseptor tirosin kinase ini terletak dekat dengan bagian *intermediate cell junctions* mengikuti transfeksi dari E-cadherin di sel MDA-MB-231. Selebihnya, EphA2 di bagian proksimitas dari *intermediate cell junctions* mengalami fosforilasi. EphA2 akan didistribusikan ke sepanjang membran sel dalam keadaan tidak terfosforilasi jika sel tersebut kekurangan aktifitas E-cadherin.⁷⁵ Hal ini mengindikasikan bahwa EphA2 berperan besar dalam pertumbuhan sel tumor dengan adanya stimulasi EphA2 oleh Ephrin A1 yang memicu pertumbuhan melanosit pada keganasan. Namun untuk mekanisme stimulasi proliferasi oleh EphA2 belum diketahui. EphA2 memiliki fungsi yang berhubungan dengan E-cadherin, sebuah molekul sel adesi homotipik yang bertanggung jawab dalam pembentukan konektivitas atau *junction* sel epitelial. Sehingga, absennya E-cadherin yang dipengaruhi EphA2 dapat mengubah

pertumbuhan sel neoplastik dan proses adhesi.⁷⁴

EFNs (efrins) adalah molekul pemberi sinyal (ligan) yang melekat pada reseptor Eph, dan terdiri atas dua subkelas tergantung pada bagian mana dia melekat di membran sel. EFNA (EFNA1, EFNA2, EFNA3, EFNA 4, EFNA5) merupakan salah satu subkelas EFN yang melekat di membran dengan berikatan pada *glycosyl phosphatidyl inositol* (GPI). Subkelas lain yakni EFNB yang melekat pada domain protein transmembran. Oleh Karena itu, ekspresi EFNA1 sangat berpengaruh terhadap prognosis suatu keganasan^{18, 76-79}.

EFNA1 merupakan ligan utama dari EphA2, ia diklonisasi dari sel endotelial umbilikus sebagai sebuah faktor yang diinduksi oleh faktor nekrotik tumor alfa (TNF alfa).⁸⁰ Selanjutnya, EFNA1 terbukti menjadi fasilitator yang mendukung autofosforilasi EphA2.⁸¹ EFNA1 juga berinteraksi dengan semua subkelas reseptor EphA lainnya dengan tingkat afinitas yang berbeda.⁸² EFNA secara umum terlibat dalam berbagai proses yang umum terjadi dalam tubuh, seperti remodeling tulang,⁸³ angiogenesis,⁸⁴ diferensiasi sel saraf⁸⁵ dan pertumbuhan akson.⁸⁶ Namun secara khusus, EFNA1 diketahui terlibat dalam proses tumorigenesis dengan cara meningkatkan angiogenesis pada daerah tumor,^{87, 88} pembentukan sel ganas^{89, 90} dan proses invasi keganasan.⁹¹⁻⁹³

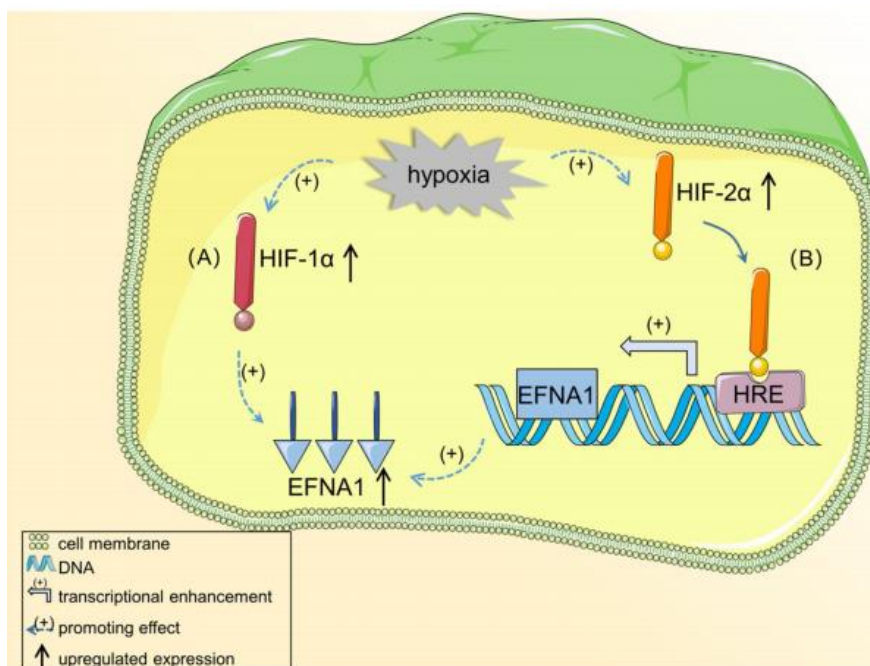


Gambar Struktur EFNs(A) dan reseptor Eph(B)²⁷

(A) EFNA menempel pada mebran dengan GPI *linkage*. EFNBs menempel dengan transmembrane protein utama.

(B) Reseptor Eph memiliki ikatan utama ligan ekstraselular diikuti oleh cysteine-rich domain dan dua fibronectin-type III *repeats*. Bagian intraselular berisi segmen juxtamembrane, a tyrosine kinase domain, a SAM, dan a PDZ *domain-binding motif*.
Singkatan: GPI, glycosyl phosphatidyl inositol; SAM,sterile alpha motif

EFNA1 merupakan factor kunci dalam pathogenesis tumor ganas. Ekspresi EFNA1 terbukti meningkat pada berbagai jenis kanker, seperti kanker gaster,⁹⁴ kanker kolorektal,⁹⁵ dan kanker renal.⁹⁶ Telah diketahui bahwa ekspresi EphA2 dan EFNA1 secara bersamaan meningkat pada beberapa jenis sel tumor ganas dan di pembuluh darah.⁷⁵ Hal ini membuktikan bahwa EphA2 dan EFNA1 terlibat dalam pembentukan tumor. EFNA1 menginduksi migrasi sel endotelial, dan aktivasi EphA2 diperlukan untuk neovaskularisasi tumor yang tumbuh.^{87, 97} EFNA1 terbukti menginduksi sinyal metogenik pada melanosit keganasan. Ia sebagai ligan prototipe yang mengikat reseptor tirosin kinase EphA2 dan memicu turunnya sinyal yang mengatur pertumbuhan sel dan migrasi.⁷⁴



Gambar bagaimana EFNA1 menginduksi lingkungan hipoksia yang mengakibatkan radioresisten melalui jalur *HIF-dependent*²⁷

(A) Ekspresi EFNA1 mediasi HIF-1 α induksi hypoxia.

(B) Induksi hipoksia HIF-2 α berikatan dengan HRE di promotor EFNA1 dan peningkatan regulasi ekspresi EFNA1. *Abbreviations*: HIF-1 α , pemicu hipoksia faktir-1 α ; HIF-2 α , pemicu hipoksia faktor-2 α ; HRE, elemet respons hipoksia.

Dalam kasus keganasan lain, tidak adanya EFNA1 sangat membantu dalam menghambat perkembangan HT29 atau sel kanker kolon pada sel dengan densitas maksimum. Sehingga ia menyimpulkan bahwa stimulasi EPHA2 oleh EFNA1 terlibat dalam proses penghambatan inhibisi sel karsinoma melalui penekanan regulasi E-cadherin. Banyak penelitian lain menunjukkan peningkatan ekspresi EphA2 pada orang dengan kanker. Mayoritas reseptor dan ligandnya ditemukan pada hampir seluruh jenis sel karsinoma.⁹⁸

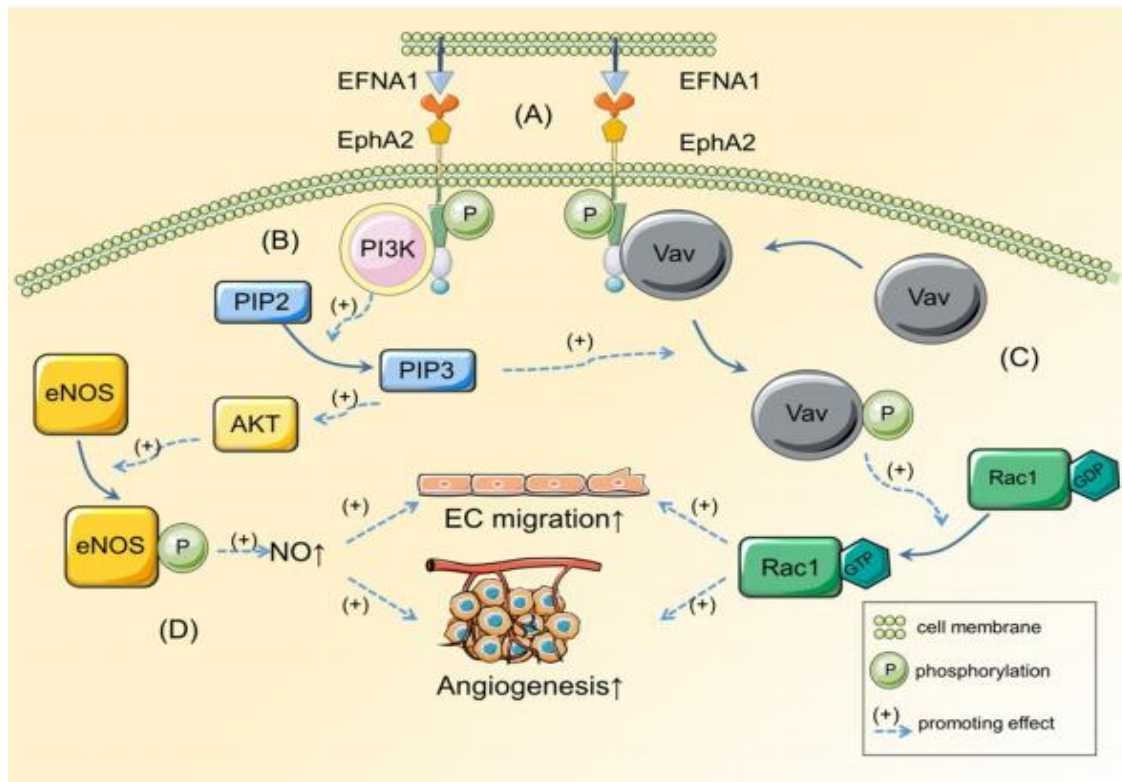
EFNA1 dan reseptornya terlibat dalam jalur VEGF dengan cara meningkatkan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) pada sel tumor dan kemudian mengaktifkan sel endotelial. Pada kanker serviks terbukti adanya peningkatan ekspresi EFNA1 diikuti peningkatan VEGF.⁹⁹ EFNA1 selain berperan pada perkembangan embrionik dan ekspresi sel-sel endotelial, EFNA1 secara signifikan juga meningkat pada beberapa tumor sel.

Tabel EFNA1 sebagai nilai prognosis pada berbagai kanker :²⁷

Cancer type	Expression	Prognostic value	Notes
Gastric cancer	increased	poor DSS	EFNA1 expression is associated with gastric tumor stage, depth of invasion, lymph node metastasis and recurrence. SNP in the 3'UTR of EFNA1 contributes to GC susceptibility. GMAN upregulates EFNA1 and contributes to gastric tumor metastasis and poor survival outcome.
Colorectal cancer	increased	controversial	Overexpression of EFNA1 was found in colorectal tumor tissue compared to nonmalignant tissue, and it was more prominent in tumors less than 5 cm in stages I and II compared to larger tumor or higher stages. SNP in the 3'UTR of EFNA1 (rs12904 A > G) is also associated with decreased CRC susceptibility in a Chinese population but not an Iranian population.
Hepatocellular cancer	increased	poor DFS*	EFNA1 expression is positively corresponding with AFP expression. EFNA1 expression is higher in cirrhotic tissue and highest in HCC compared to normal hepatic tissue.
Renal cell cancer	increased	(-)	Significantly increased expression of EphA2 and EFNA1 were detected in cancer tissues with higher grade differentiation, more advanced stage and more lymph node metastasis, and were shown to be positively associated with the MVD.
Cervical cancer	increased	poor OS	Comprehensive bioinformatics analyses identified EFNA1 as a risk factor.
Ovarian cancer	increased	poor CS	Increased levels of EFNA1 and EFNA5 in the presence of high expressions of EphA1 and EphA2 lead to a more aggressive ovarian tumor phenotype.
Prostatic cancer	(-)	(-)	EFNA1 expression correlated with the Gleason Score. The high Gleason group exhibited low EFNA1 expression in prostate cancer.
Esophageal squamous cell carcinoma	increased	poor OS	EFNA1 and EphA2 are in ESCC, often colocalize in tumor areas and vascular endothelial cells, and their expressions are associated.
Laryngeal squamous cell carcinoma	increased	(-)	EFNA1 and EphA2 expressions are correlated with T stage, clinical stage, lymph node metastasis, recurrence and prognosis in LSCC.
Adenoid cystic carcinoma of salivary gland	increased	(-)	EphA2/EFNA1 expressions correlated with MVD, clinical TNM stage, perineural invasion and vascular invasion.
Osteosarcoma	increased	(-)	EphA2 was not present in fetal or adult nonneoplastic bone. EphA2 was upregulated in osteosarcoma samples compared to osteoblasts.

(-)unknown * independent prognostic factor

Abbreviations: DSS, Disease-specific survival; SNP, Single nucleotide polymorphism; GC, Gastric cancer; GMAN, Gastric cancer metastasis associated long noncoding RNA; CRC, Colorectal cancer; DFS, Disease-free survival; AFP, Alpha-Fetoprotein; HCC, Hepatocellular carcinoma; MVD, Microvessel density; OS, Overall survival; CS, Cumulative survival; ESCC, Esophageal squamous cell carcinoma; LSCC, Laryngeal squamous cell carcinoma.



Gambar Mekanisme bagaimana EFNA1 menginduksi angiogenesis.²⁷

- (A) EFNA1 mengikat dan mengaktivasi reseptor EphA2.
- (B) Aktivasi EphA2 mengikat dan mengaktivasi upregulasi PI3K ke level PIP3, hingga meningkatkan aktivasi keluarga Vav.
- (C) Aktivasi EphA2 mengikat Vav2/3. Aktivasi promosi Vav menurunkan aktivasi Rac1 mengakibatkan migrasi sel-sel endothelial dan angiogenesis.
- (D) EFNA1 induksi stimulasi fosforilasi eNOS melalui jalur dependen PI3K/AKT-dan meningkatkan produksi NO yang diperlukan untuk induksi angiogenesis,
- Singkatan : PI3K, Phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase; PIP2, Phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate; PIP3, Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate; EC, sel endotelial. eNOS, (Endothelial nitric oxide synthase).

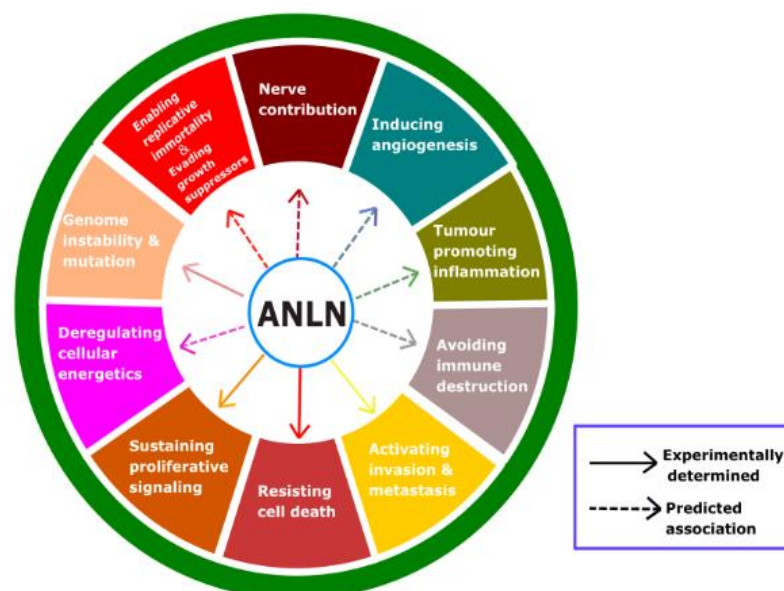
2.4 ANLN

Actin-binding protein Anillin (ANLN) pertama kali ditemukan di *Drosophila* sebagai protein terikat aktin dengan berat molekul sebesar 124 kDa,^{100, 101} komponen ini memegang peranan penting dalam sitokinesis.¹⁰²⁻¹⁰⁴ ANLN diidentifikasi sebagai salah satu prognostic biomarker pada kasus keganasan seperti kanker payudara, kolorektal, pankreas dan kanker serviks. Gen ANLN ini mengkode sebuah protein terikat aktin yang memegang peran penting dalam pertumbuhan dan migrasi sel serta sitokinesis.

Protein yang dikodekan memegang regulasi dinamisitas aktin sitoskeletal di podosit, yang merupakan komponen glomerulus, sehingga mutasi gen ini berkaitan dengan *focal segmental glomerulosclerosis 8* (FSGS8). Gen ANLN berkaitan dengan mikrotubulus karena merupakan protein multi-domain terkonservasi.¹⁰⁵ Selain aktin, ANLN juga berkaitan dengan komponen lain, misalnya dengan myosin II dan septins^{101-104, 106, 107} ANLN menjadi komponen kunci dalam proses sitokinesis.¹⁰⁸

Ekspresi ANLN terus meningkat secara progresif dari jaringan normal, jaringan tumor malignan dan jaringan tumor metastasis. Peningkatan ekspresi ANLN pada kanker terjadi sebanyak 2 sampai 6 fold.¹⁰⁸ Hal ini ditemukan pada hampir seluruh jenis keganasan, misalnya kanker gaster, paru, dan payudara.^{86, 109-112} Ia memegang peran penting dalam progres siklus sel. Lokalisasi ANLN yang tidak sebagaimana mestinya, akan menyebabkan perubahan siklus sel secara drastis. Pada sel tubuh manusia, ANLN terakumulasi di nukleus selama interfase dan ditransfer ke sitoplasma ditahap mitosis-anafase.^{100, 109}

Pada kanker serviks, ekspresi ANLN mengalami overekspresi. Ekspresi mRNA ANLN yang meningkat hingga overekspresi selama progres tumor berkaitan dengan ekspresi mRNA Ki67, hal ini menandakan bahwa ekspresi ANLN diregulasi oleh *cell cycle-dependent factors*.¹¹³



Gambar efek ANLN terhadap progresifitas kanker.¹¹⁴

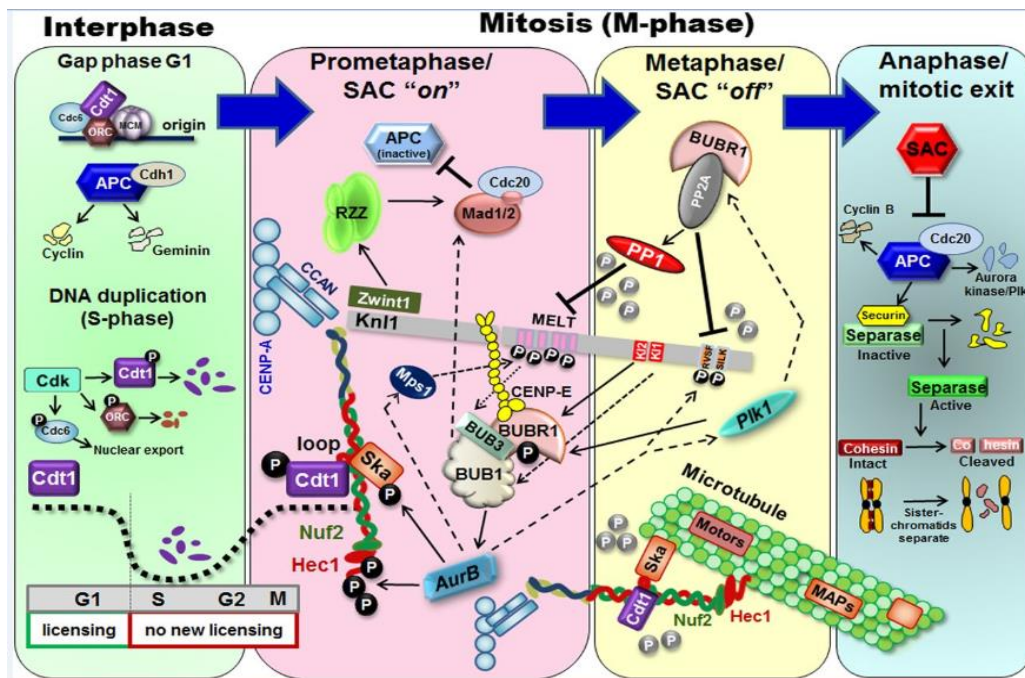
Ekspresi ANLN yang tinggi ditemukan pada beberapa kanker, protein ini mempunyai peranan penting dalam sitokin dan dapat dipertimbangkan sebagai target spesifik untuk terapi agen anti kanker.¹¹⁴

2.5 ZWINT

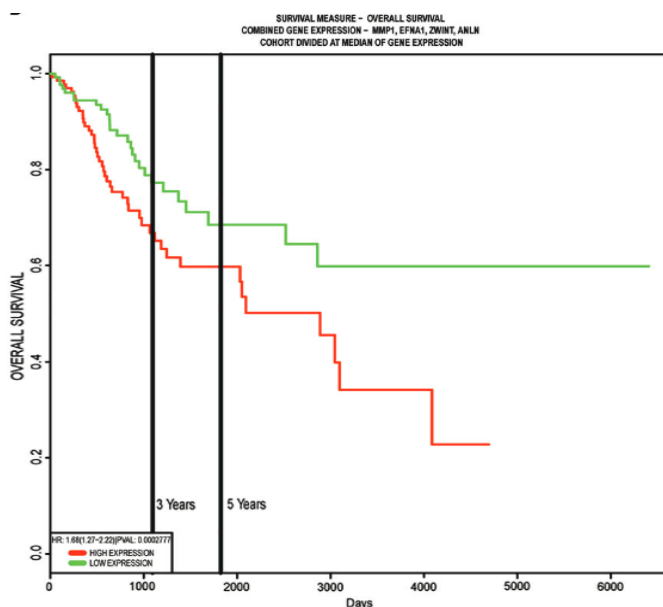
ZW10 interacting kinetochore protein atau ZWINT adalah sebuah komponen kompleks sentromer yang merupakan tempat melekatnya benang-benang spindel dari sentriol dan terlibat dalam fungsi sentromer dan pertumbuhan sel, kode gen protein yang memiliki peranan penting dalam fungsi *kinetochore*, bekerja selama proses meiosis.¹¹⁵ ZWINT diperlukan untuk memperbaiki ikatan sentromer dan mikrotubulus serta meregulasi perlekatan benang spindel selama proses meiosis.³¹ ZWINT telah teridentifikasi sebagai protein yang berinteraksi dengan ZW10 yang diperlukan untuk motilitas kromosom dan kontrol perlekatan benang spindel. ZWINT dan ZW10 sama-sama terletak di kinetokor yang menentukan perlekatan antara kromosom dan mikrotubulus dari benang spindel. Hal ini menjadi faktor penting penentu akurasi pemisahan kromosom dan benang spindle.^{116, 117}

Ekspresi ZWINT yang meningkat mestinya berkaitan dengan ketidakstabilan kromosom (*chromosome instability* atau CIN) dan kromosom yang tidak normal ini menjadi penanda berbagai jenis keganasan buruknya prognosis pada tumor primer.¹¹⁸ Sehingga, ZWINT dinilai dapat menjadi salah satu penanda klinis yang signifikan dalam identifikasi keganasan pada manusia.¹¹⁹

Diketahui bahwa ekspresi ZWINT yang berlebihan berkaitan dengan keganasan, misalnya pada kanker prostat, kanker ovarium, kanker kandung kemih, dan kanker payudara dan juga kanker serviks.^{30, 120-123} Penelitian oleh Vargas-Rondon dkk mengamati perbedaan ekspresi gen ZWINT pada jaringan normal dan jaringan tumor. Hasilnya menunjukkan ekspresi yang lebih tinggi pada jaringan karsinoma mammae, kanker paru, sarkoma, kanker kandung kemih, kanker liver dan kanker serviks dibandingkan jaringan normal.¹²⁴ ZWINT berperan pada pertumbuhan sel, proses invasi dan persistensi, karena itu hal ini bisa digunakan sebagai biomarker faktor prognostik dan terapi target terbaru.¹²⁵



Gambar peranan zwiint pada tahap pembelahan sel fase mitosis (prometafase) dimana zwiint merekrut beberapa protein cek poin seperti Mad1, Mad2, Mps1 kinase, Bub 1, Bub3, kompleks RZZ, BubR1, dan Cenp-E menghambat kompleks anaphase promoting/siklosome mengaktifkan CDC20 meningkatkan proliferasi menghasilkan genomic dan kromosom yang tidak stabil.¹²⁶



Gambar validasi perbedaan overall survival kombinasi ekspresi gen MMP1; EFNA1; ZWINT dan ANLN antara yang ekspresi tinggi dengan ekspresi rendah pada kanker serviks.¹⁶