

KARYA AKHIR

**KORELASI ANTARA KADAR LGR-5 (LEUCINE RICH REPEAT
CONTAINING G PROTEIN COUPLED RECEPTOR 5) DENGAN ASPEK
KLINIS DAN STADIUM KARSINOMA KOLOREKTAL**

**CORRELATION BETWEEN LEVELS OF LGR-5 (LEUCINE RICH
REPEAT CONTAINING G PROTEIN COUPLED RECEPTOR 5) WITH
CLINICAL ASPECT AND COLORECTAL CARCINOMA STAGE**

MENDILA P.A

C104215112



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**KORELASI ANTARA KADAR LGR-5 (Leucine Rich Repeat Containing G
Protein Coupled Receptor 5) DENGAN ASPEK KLINIS DAN STADIUM
KARSINOMA KOLOREKTAL**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Bedah

**Program Studi
Ilmu Bedah**

Disusun dan Diajukan Oleh :

dr. MENDILA P.A

C104215112

KARYA AKHIR

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

KORELASI ANTARA KADAR LGR-5 (LEUCINE RICH REPEAT CONTAINING G PROTEIN COUPLED RECEPTOR 5) DENGAN ASPEK KLINIS DAN STADIUM KARSINOMA KOLOREKTAL

Disusun dan diajukan oleh

Mendila P.A

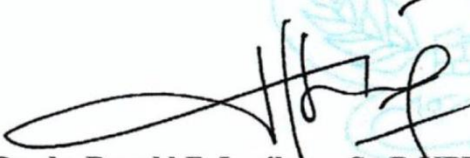
C104215112

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 20 September 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Dr. dr. Ronald E. Lusikooy, Sp.B-KBD
NIP. 19630424199103 1003


dr. Firdaus Kasim, M.Sc
NIP. 19841201201807 3 001

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk.M.Kes
NIP. 19740629200812 1 001


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.MedEd
NIP. 19661231199503 1 009



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : dr. Mendila P.A

NIM : C104215112

Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 21 Oktober 2021

Yang menyatakan,



dr. Mendila P.A

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan segala rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah dengan judul “**KORELASI ANTARA KADAR LGR-5 (Leucine Rich Repeat Containing G Protein Coupled Receptor 5) DENGAN ASPEK KLINIS DAN STADIUM KARSINOMA KOLOREKTAL**” guna memenuhi sebagian persyaratan untuk memperoleh gelar dokter Spesialis Bedah pada Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari kelemahan serta keterbatasan yang ada sehingga dalam menyelesaikan skripsi ini memperoleh bantuan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. dr. Ronald E. Lusikooy, Sp.B-KBD selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan waktu bimbingan dan arahan selama penyusunan makalah ini
2. dr. Firdaus Kasim, M.Sc selaku dosen pembimbing statistik yang telah memberikan dorongan dalam penulisan makalah ini.
3. Dr. dr. Warsinggih, Sp.B-KBD selaku dosen pembimbing yang telah memberikan masukan dan saran pada penulisan makalah ini
4. dr. Ahmadwirawan, Sp.B,Sp.BA selaku pembimbing akademik yang selalu memberikan saya motivasi selama menempuh pendidikan
5. Dr. dr. Prihantono SpB(K) Onk. selaku Ketua Program Studi PPDS Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar
6. Staf pengajar dan pegawai Program Studi Dokter Spesialis Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas segala ilmu, masukan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis
7. Kepada Orang tua dan Keluarga (Istri dan anak – anak penulis) yang sangat saya cintai dan hormati yang tak henti – hentinya memberikan dukungan, doa, nasihat dan memotivasi hingga sampai detik ini penulis tetap kuat dan bersemangat dalam menyelesaikan studi.

8. Teman seperjuangan seluruh peserta PPDS Ilmu Bedah atas semangat dan kerja samanya
9. Serta seluruh pihak yang telah ikut membantu, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis hanya bisa berdoa, semoga Tuhan YME membalas kebaikan mereka. Amin Penulis menyadari sepenuhnya bahwa makalah akhir ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis memohon maaf bila ada kesalahan dalam penulisan makalah ini. Kritik dan saran kami sangat hargai demi penyempurnaan penulisan serupa dimasa yang akan datang. Besar harapan penulis, semoga makalah ini dapat bermanfaat dan dapat bernilai positif bagi semua pihak yang membutuhkan .

ABSTRAK

MENDILA P. A.. *Korelasi antara Kadar Leucine Rich Repeat Containing G Protein Coupled Receptor 5 (LGR-5) dengan Aspek Klinik dan Stadium Karsinoma Kolorektal* (dibimbing oleh Ronald E. Lusikooy dan Firdaus Kasim).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui hubungan antara kadar LGR-5 terhadap jenis kelamin, umur, lokasi tumor, dan tingkat stadium (derajat diferensiasi histopatologi, metastasis limfonodus, dan metastasis hepar) penderita karsinoma kolorektal di Makassar.

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan potong lintang, yaitu mengevaluasi peningkatan kadar LGR-5 pada aspek klinis dan stadium penderita karsinoma kolorektal di Makassar. Jenis data penelitian yang digunakan adalah data primer yang diambil melalui data demografi yang berhubungan dengan aspek klinis penderita, antara lain umur, jenis kelamin, lokasi tumor, dan stadium kanker, keterlibatan kelenjar getah bening, tipe histopatologi saat penderita datang berobat dengan diagnosis karsinoma kolorektal. Analisis univariat dilakukan terhadap variabel hasil penelitian, sedangkan analisis bivariat digunakan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan kadar LGR-5 dan stadium penderita karsinoma kolorektal berdasarkan AJCC. Analisis data dilakukan dengan uji *chi-Square*. Nilai signifikansi diperoleh ketika $p < 0,05$.

Hasil yang diperoleh bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kadar LGR-5 terhadap jenis kelamin, umur, dan lokasi tumor pada penderita karsinoma kolorektal. Ada hubungan yang signifikan antara kadar LGR-5 terhadap stadium kanker, derajat diferensiasi, dan kejadian metastasis pada penderita karsinoma kolorektal.

Kata kunci: kadar LGR-5, aspek klinis, stadium karsinoma kolorektal



ABSTRACT

MENDILA P.A. *Correlation Between Levels of LGR-5 (Leucine Rich Repeat Containing G Protein Coupled Receptor 5) and Clinical Aspects and Stages of Colorectal Carcinoma* (supervised by **Ronald E. Lusikooy** and **Firdaus Kasim**)

The aim of this study is to determine the correlation between LGR-5 levels and sex, age, tumor location, and stage level (degree of histopathological differentiation, lymph node metastasis, and liver metastasis) in colorectal carcinoma patients in Makassar.

This research used an analytical and cross-sectional observational method that evaluated the increase in LGR-5 level in the clinical and staging aspects of colorectal carcinoma patients in Makassar. Data collection was carried out on a primary basis, where the data taken were demographic data and related to the clinical aspects of the patient, i.e. age, gender, tumor location, stage of cancer, involvement of lymph nodes, and hispathological type when the patient came for treatment with a diagnosis of colorectal carcinoma. Univariate analysis was carried out on the research variables, while bivariate analysis was used to determine the correlation between the increase of LGR-5 level and the stage of colorectal carcinoma patients based on AJCC. The analysis was carried out by using Chi-Square test. The significance value was obtained at a value of $P < 0.05$.

The results indicate that there is no significant correlation between LGR-5 level on gender, age, and tumor location in patients with colorectal carcinoma. There is a significant correlation between LGR-5 level and cancer stage, degree of differentiation, and the occurrence of metastases in patients with colorectal carcinoma.

Keywords: LGR-5 levels, clinical aspects, colorectal carcinoma stage



DAFTAR ISI HALAMAN

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR SINGKATAN	vi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Karsinoma Kolorektal	7
2.1.1 Epidemiologi.....	7
2.1.2. Faktor Resiko	9
2.1.3 Proses Karsinogenesis.....	12
2.1.4 Diagnosis.....	20
2.1.5 Stadium (Staging)	23
2.2 Tinjauan LGR-5	29
2.2.1 Stem Sel Kanker pada Kanker Kolorektal	29
2.2.2 Jalur pensinyal WNT dan keterlibatan LGR-5	31
2.2.3 Kadar LGR-5 pada Adenokarsinoma Kolorektal	33
BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP	46
3.1 Kerangka teori.....	46
3.2 Kerangka Konsep	49
BAB IV METODE PENELITIAN	50

4.1 Desain Penelitian.....	50
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	50
4.3 Partisipan penelitian.....	51
4.3.1 Populasi.....	51
4.3.2 Sampel.....	51
4.3.3 Kriteria Inklusi	51
4.3.4 Kriteria Eklusi	52
4.3.5 Teknik Perhitungan jumlah sampel.....	52
4.4 Instrumen Penelitian.....	53
a. Alat penelitian	53
b. Bahan penelitian.....	53
c. Variabel penelitian	54
4.5 Definisi Operasional dan kriteria objektif.....	54
4.6 Pengumpulan data	59
4.7 Kadar LGR-5.....	60
4.8 Kontrol Kualitas.....	61
4.9 Pengolahan data	51
4.10. Analisa data.....	51
4.11 Etika penelitian.....	62
4.12 Alur Penelitian	63
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	64
5.1 Hasil	64
5.1.1 Uji deskriptif demografi pada aspek klinis dan stadium penderita	
Kanker kolorektal.....	64

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Umur	76
6.2 Jenis Kelamin.....	77
6.3 Lokasi tumor.....	79
6.4 Stadium	80
6.5 Derajat differensiasi.....	82
6.6 Metastasis.....	83
6.7 Kadar LGR-5.....	85
6.8 Kolerasi LGR-5 dengan Klinikopatologi penderita KKR	86

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN 89

7.1 Kesimpulan	89
7.2 Saran	89

DAFTAR PUSTAKA..... 90

LAMPIRAN-LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tumor Primer(T)	25
Tabel 2. Kelenjar Getah Bening(N)	26
Tabel 3. Metastasis(M)	28
Tabel 4.Sistem Stadium TNM AJCC pada kanker kolon	29
Tabel 5. Kadar LGR-5 dan hubungannya dengan data klinikopatologis	37
Tabel 6. Hubungan kadar LGR-5 dan Stadium KKR	39
Tabel 7.Hubungan kadar LGR-5 dan grading histopatologi pada KKR.....	40
Tabel 8. Hubungan kadar LGR-5 dan Status Limfonodus pada KKR.....	44
Tabel 9.Hubungan kadar LGR-5 dan metastasis pada KKR.....	44
Tabel 10. Data demografi aspek klinis dan stadium patologikanker kolorektal...67	
Tabel 11. Hubungan antara umur dengan kadar LGR-5.....	68
Tabel 12. Hubungan antara jenis kelamin dengan kadar LGR-5.....	69
Tabel 13. Hubungan antara lokasi tumor dengan LGR-5.....	70
Tabel 14.Hubungan antara stadium kanker kolorektal dengan kadar LGR-5.....	71
Tabel 15. Hubungan antara derajat differensiasi dengan kadar LGR-5.....	72
Tabel 16 Hubungan antara metastasis kanker kolorektal dengan kadar LGR-5...73	
Tabel 17 Korelasi antara kadar LGR-5 terhadap klinikopatologi kanker.....	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.....	46
Gambar 2.....	49
Gambar 3.....	57
Gambar 4.....	57
Gambar 5.....	58
Gambar 6.....	75

DAFTAR SINGKATAN

ACS	: American Cancer Society
ACF	: Aberrant Crypt Foci
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ALDH	: Aldehyd Dehydrogenase
APC	: Adenomatous Polyposis Coli
CD	: Cluster of Differentiation
CIN	: Chromosomal Instability
CK1	: Casein Kinase 1
CSC	: Cancer Stem Cell
CTC	: Computed Tomography Colonography
DCBE	: Double Contrast Barium Enema
EpCAM	: Epithelial Cellular Adhesion Molekul
EMT	: Epitel Mesenkim Transisi
ERK	: Ekstraseluler Signal Regulated Kinase
FFPE	: Formalin Fixed Parafin Embedded
FAP	: Familial Adenomatosa Polyposis
GDP	: Guanosin Disphosphate
GPCR	: G protein-Coupled Receptor
GTP	: Guanosin Triphosphate
GPR49	: G-protein-coupled-receptor 49
GSK-3 β	: Glycogen Synthase Kinase 3 β
HE	: Hematoxylin Eosin
IARC	: International Agency for Research on Cancer

IHC : Immunohistochemistry
 ISC : Intestinal Stem Cell
 ISH : In Situ Hybridization
 IHK : Imunohistokimia
 KKR : Kanker Kolorektal
 KRAS : Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
 LEF : Lymphoid Enhancing Factor
 LMA : Leukemia Myeloid Akut
 LGR-5 : Leucine Rich Containing G protein coupled Reseptor 5
 LOH : Loss of Chromosomal Heterozigosity
 MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase
 MMR : Mismatch Repair
 MSC : Mesenchymal Stem Cell
 MSI : Microsatellite Instability
 MSS : Mikrosatelit Stabil
 OS : Overall Survival
 PBS : Phospat Buffer Saline
 RER : Replication Error
 RSPO : R-Spondin
 SPK : Sel Punca Kanker
 SPK-KR : Sel Punca Kanker Kolorektal
 TAM : Tumor Associated Macrophage
 Wnt : Wingless-related integration site

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kanker kolorektal mengacu pada kanker yang berkembang secara perlahan yang dimulai sebagai tumor atau pertumbuhan jaringan pada lapisan dalam rektum atau usus besar. Jika pertumbuhan abnormal ini, yang dikenal sebagai polip, akhirnya menjadi kanker akan membentuk tumor di dinding rektum atau usus besar, dan kemudian tumbuh menjadi pembuluh darah atau pembuluh getah bening, meningkatkan kemungkinan metastasis ke situs anatomi lainnya. (Ziskin JL, dkk., 2011)

Istilah kanker kolorektal (KKR) didasarkan pada kesamaan struktur anatomi yang terdiri dari mukosa, lapisan otot, dan sebagian serosa, fungsinya dalam pembentukan feses, resorpsi cairan, transportasi dan ekskresi feses, serta persamaan histologis. Batas awal adalah katup ileocecal dan batas akhir berupa tepi anus yang ditandai dengan garis dentata ke saluran anal, sfingter ani, dan kulit. (Valastyan S, dkk., 2011)

Menurut perkiraan *International Agency for Research on Cancer*, pada tahun 2018, secara global, kanker kolorektal merupakan sekitar 1,8 juta kasus baru dan 900.000 kematian setiap tahun, menjadikannya keganasan ketiga yang paling sering didiagnosis dan penyebab utama kedua kematian akibat kanker. Setiap tiga tahun, *American Cancer Society* memberikan pembaruan kejadian KKR berdasarkan data insiden (tersedia hingga 2016) dari pendaftar kanker berbasis populasi dan data kematian (hingga 2017) dari Pusat Statistik Kesehatan Nasional. (GLOBOCAN, 2018) Pada tahun 2020, diperkirakan sekitar 147.950 orang akan

didiagnosis dengan KKR dan 53.200 akan meninggal akibat penyakit tersebut, termasuk 17.930 kasus dan 3.640 kematian pada individu berusia di bawah 50 tahun. (Siegel R, dkk., 2020)

Pada dasarnya laju perkembangan KKR dan kematian meningkat pesat setelah usia 50 tahun, dengan perkiraan 90% kasus global dan kematian terjadi setelah usia ini. Tingkat KKR yang lebih tinggi pada pria mungkin terkait dengan kombinasi berbagai faktor. Dibanding wanita, pria tampaknya lebih dipengaruhi oleh faktor lingkungan daripada faktor genetik pada karsinogenesis kolorektal, dengan heritabilitas KKR diperkirakan 28% untuk pria dan 45% untuk wanita. (Rawla P., dkk., 2019)

Tingkat kelangsungan hidup KKR bervariasi di seluruh dunia karena kualitas perawatan, termasuk teknik bedah, yang merupakan prediktor hasil untuk kekambuhan lokal dan tingkat kesembuhan. Kanker kolorektal yang telah bermetastasis, atau menyebar, ke kelenjar getah bening regional memiliki prognosis yang lebih buruk dan risiko kekambuhan yang lebih tinggi. Studi menunjukkan bahwa 15 hingga 30 persen penderita yang didiagnosis dengan kanker kolorektal *node-negatif* mengalami kekambuhan penyakit dalam waktu 2 - 5 tahun. (Fatemi SR, dkk., 2015)

Cancer Stem Cell (CSC) pertama kali diperkenalkan oleh Hope KJ dkk (1977) pada populasi sel leukemia myeloid akut, dan dipercaya bahwa jaringan kanker memiliki tiga populasi seluler layaknya jaringan normal: sel punca, sel proliferasi, dan sel matur. (Shekarriz, 2019)

Banyak protokol pengobatan telah diterapkan pada KKR, tetapi belum menghasilkan kesembuhan yang lengkap, yang mungkin disebabkan oleh sel induk

KKR yang resisten terhadap kemoterapi dan radiasi, dan dapat memungkinkan terjadinya kekambuhan. *Cancer Stem Cell* (CSC) atau sel punca kanker adalah sekumpulan sel tumor dengan karakteristik sel punca pembaharuan diri, proliferasi tak terbatas, dan potensi diferensiasi multi arah. CSC merupakan populasi yang sangat kecil dari kanker, tetapi berhubungan erat dengan metastasis tumor, resistensi obat dan kekambuhan setelah pengobatan primer. Jalur pensinyalan abnormal yang telah ditangani dengan baik pada CSC kolorektal, termasuk *Wnt / β -catenin*, *Notch*, *TGF- β* dan *Hedgehog*. Jalur *Wnt / β -catenin* sangat penting dalam pemeliharaan kekuatan dan resistensi obat dari CSC kolorektal. (Wu XS, dkk., 2012)

Reseptor 5 *Leucine-Rich, Repeat-Containing, G-Protein–Coupled* (LGR-5) yang mengandung protein G yang mengandung kaya leusin, juga dikenal sebagai reseptor berpasangan protein G 49 (*GPR49*) adalah reseptor "yatim piatu" yang termasuk dalam keluarga *G protein-coupled receptor* (GPCR). *LGR-5* memodulasi kekuatan pensinyalan Wnt kanonik melalui pengikatan ke ligan R-spondinnya. *LGR-5* mempotensiasi jalur pensinyalan *Wnt/ β -catenin*, sehingga merangsang proliferasi dan pembaruan sel induk kanker. *LGR-5* telah terbukti dapat meningkatkan mobilitas sel kanker, pembentukan tumor, dan transisi epitel-mesenkim melalui aktivasi pensinyalan *Wnt/ β -catenin*. (Nakata S., dkk., 2014)

Peran *LGR-5* dan implikasi klinisnya telah dilaporkan dalam berbagai penelitian, tetapi hasil dari berbagai penelitian yang menjurus pada topik ini masih kontroversial. Kadar berlebih *LGR-5* telah dikaitkan dengan kekambuhan, metastasis dan prognosis buruk pada KKR. Sebaliknya, penelitian lain tidak menemukan korelasi dengan prognosis, menyimpulkan bahwa kadar *LGR-5* tidak

terkait dengan prognosis yang buruk, seperti yang mungkin diantisipasi untuk penanda CSC. Sayangnya, CSC *LGR-5* jelas masih memainkan peran penting dalam karsinogenesis kolorektal. Meskipun *LGR-5* diasumsikan terkait dengan parameter klinikopatologi, tetapi sulit untuk menjelaskan hubungannya dengan tingkat kadar *LGR-5* yang tinggi.

Berdasarkan penjelasan tersebut, implikasi deteksi *LGR-5* sebagai biomarker sel induk pada kanker kolorektal tidak hanya berperan dalam menentukan perkembangan kanker, prognosis namun juga menentukan bagaimana pengaturan terapi pada individu dengan temuan biomarker berbeda, mengingat besarnya keterkaitan antara resistensi agen kemoterapi dengan CSC. Terlepas dari perbedaan temuan, penulis menganggap perlu untuk melakukan penelitian mengenai relevansi klinis kanker kolorektal dengan merujuk pada perbedaan variabel dan sampel yang diteliti.

1.2 Rumusan masalah

Bagaimana hubungan antara kadar *Leucine-Rich, Repeat-Containing, G-Protein–Coupled Receptor 5 (LGR-5)* terhadap jenis kelamin, umur, lokasi tumor dan stadium penderita kanker kolorektal?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Untuk mengetahui hubungan antara kadar *LGR-5* dengan jenis kelamin, umur, lokasi tumor dan stadium penyakit pada penderita Kanker Kolorektal?

1.3. 2. Tujuan khusus

- Untuk mengetahui kadar *LGR-5* pada penderita kanker kolorektal di Makassar.
- Untuk mengetahui hubungan antara kadar *LGR-5* terhadap jenis kelamin, umur, lokasi tumor penderita kanker kolorektal di Makassar.
- Untuk mengetahui hubungan antara kadar *LGR-5* terhadap tingkat stadium (derajat diferensiasi histopatologi, metastasis limfonodus, metastasis hepar) penderita kanker kolorektal di Makassar

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1. Manfaat praktis

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi bagi klinisi maupun masyarakat tentang hubungan antara kadar *LGR-5* dengan jenis kelamin, umur, lokasi tumor dan stadium penyakit terhadap penderita kanker kolorektal di Makassar.

1.4.2. Manfaat klinis

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang hubungan antara kadar *LGR-5* dengan jenis kelamin, umur, lokasi tumor dan stadium penyakit pada penderita kanker kolorektal di Makassar sehingga dapat mendiagnosis dan memberikan intervensi terapi yang tepat.

1.4.3. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar pengembangan untuk penelitian lanjutan tentang hubungan antara kadar *LGR-5* dengan jenis kelamin, umur, lokasi tumor dan stadium penyakit terhadap penderita

kanker kolorektal di Makassar dan pengembangan studi dengan perspektif berbeda.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karsinoma kolorektal

Kanker kolorektal (KKR) adalah keganasan yang terjadi pada kolon atau rectum, yang kadang juga disebut kanker kolon. KKR berkembang melalui perubahan bertahap genetik dan epigenetik, menghasilkan transformasi mukosa kolon normal menjadi kanker invasif. (Fadaka, 2019)

KKR adalah penyakit genetik yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan kemampuan untuk menginvasi bagian lain dari tubuh dengan membentuk metastasis. (Leng, 2018)

Sel punca kanker dianggap sebagai subpopulasi sel kanker dengan kemampuan unik untuk mempertahankan pertumbuhan tumor, dan dipercaya berperan dalam metastasis dan relaps. (Fujii, 2017)

Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 (LGR-5), suatu sel punca kanker pada intestinal dan kolon, anggota family reseptor protein berpasangan (GPCR) dan mengatur pensinyalan Wnt menuju reseptor *R-spondin*. Saat ini, LGR-5 adalah penanda sel punca KKR yang paling dapat dipercaya berdasarkan beberapa penelitian. (Kim, 2018)

2.1.1 Epidemiologi

Kanker kolorektal (KKR), atau kanker usus besar, didefinisikan sebagai istilah yang mencakup kanker kolon, persimpangan rektosigmoid, dan rektum. Meskipun ada pengecualian, kanker usus besar biasanya merupakan subkelompok terbesar dan dapat mencapai dua pertiga dari total kasus dengan kanker pada persimpangan rektosigmoid dan rektum terdiri atas sepertiga (IARC, 2019).

Pada pemeriksaan Patologi Anatomi, KKR adalah jenis kanker paling umum ketiga, saat ini merupakan kanker ganas yang paling sering ditemukan di saluran pencernaan, mewakili 13% dari semua tumor ganas, dan dianggap sebagai penyebab kematian paling sering kedua terkait kanker yang mempengaruhi pria seperti halnya wanita dengan cara yang sama di seluruh dunia, negara maju dan negara berkembang. Lazim ditemukan pada mereka yang berusia 65-74 tahun dan prevalensi lebih tinggi pada wanita. Namun, sering kali didiagnosis pada penderita yang lebih muda, karena faktor risiko seperti obesitas, kebiasaan gizi buruk (tinggi lemak dan protein), merokok, dan penuaan populasi yang progresif (Romero, *et al.*, 2017).

Pada pria, merupakan kanker paling sering ketiga dan paling sering kedua pada wanita di seluruh dunia. Menurut perkiraan terbaru dari *Globocan* pada tahun 2018 diperkirakan ada 1.006.000 kasus baru pada pria dan 795.000 pada wanita. KKR mewakili lebih dari 10% dari beban kanker global, proporsinya lebih tinggi hanya untuk kanker paru-paru dan prostat (pada pria) dan kanker payudara (pada wanita). Pada tahun 2018 tingkat kejadian terstandarisasi usia global (*ASIR*) untuk KKR adalah 23,1 per 100.000 pria dan 15,7 per 100.000 wanita (Ferlay, *et al.*, 2018). Setiap tiga tahun, *American Cancer Society (ACS)* menyediakan pembaruan insiden KKR berdasarkan data kejadian (tersedia hingga 2016) dari pendaftar kanker dan data kematian berbasis populasi (hingga 2017) dari Pusat Statistik Kesehatan Nasional. Diprediksi pada tahun 2020 sekitar 147.950 orang akan didiagnosis KKR dan 53.200 akan meninggal karena penyakit ini, termasuk 17.930 kasus dan 3.640 kematian pada individu berusia di bawah 50 tahun. Insiden selama

2012 hingga 2016 berkisar dari 30 (per 100.000 orang) di Kepulauan Asia / Pasifik hingga 45,7 pada kulit hitam dan 89 di Alaska (Siegel, *et al.*, 2020).

Di Indonesia KKR merupakan jenis kanker ketiga terbanyak. Pada tahun 2008 Indonesia menempati urutan keempat di Negara ASEAN, dengan *incidence rate* 17,2 per 100.000 penduduk dan angka ini diprediksikan akan terus meningkat dari tahun ke tahun. Terdapat sepuluh studi epidemiologi sebelumnya menunjukkan bahwa usia penderita KKR di Indonesia lebih muda dari pada penderita kanker kolorektal di negara maju. Lebih dari 30% kasus didapat pada penderita yang berumur 40 tahun atau lebih muda, sedangkan di negara maju, penderita yang umurnya kurang dari 50 tahun hanya 2-8 % saja (Sayuti, 2019).

2.1.2 Faktor risiko

Tidak seperti beberapa kanker lainnya, seperti kanker paru-paru atau kulit, tidak ada faktor risiko tunggal yang menyebabkan sebagian besar kasus KKR. Faktor-faktor yang terkait dengan risiko relatif tinggi, seperti kondisi yang diwariskan, tidak umum dan sering tidak dapat dimodifikasi, sehingga sebagian besar beban penyakit pada tingkat populasi disebabkan oleh faktor-faktor yang terkait dengan risiko relatif lebih rendah, banyak di antaranya berpotensi dimodifikasi (IARC, 2019).

Kedua faktor genetik dan lingkungan berperan penting dalam etiologi KKR. Sebagian besar KKR bersifat sporadis, sekitar tiga perempat penderita memiliki riwayat keluarga negatif. Di sebagian besar populasi negara Barat, risiko seumur hidup rata-rata untuk KKR adalah dalam kisaran 3-5%. Namun risiko ini hampir dua kali lipat pada individu dengan anggota keluarga tingkat pertama dengan KKR yang didiagnosis pada usia 50-70 tahun; risiko tiga kali lipat jika kerabat tingkat

pertama adalah <50 tahun saat di diagnosis. Risiko semakin meningkat pada individu yang memiliki dua atau lebih anggota keluarga yang terkena dampak. Untuk kanker kolorektal sporadis, peningkatan risiko ini di hadapan keluarga yang terkena setidaknya sebagian mencerminkan faktor genetik penetrasi rendah. Dengan demikian, riwayat keluarga positif memiliki peran dalam sekitar 15-20% penderita dengan KKR (Kuipers, *et al.*, 2015).

Faktor risiko dan faktor perlindungan secara luas dikelompokkan menjadi tiga jenis: faktor gaya hidup dan lingkungan, faktor host, dan penggunaan obat-obatan (IARC, 2019).

2.1.3 Proses karsinogenesis

2.1.3.1 Jalur genomik dan epigenomik

Ketidakstabilan genomik dan epigenomik membedakan neoplastik dari epitel kolon normal dan merupakan ciri khas karsinogenesis kolorektal. Beberapa jenis ketidakstabilan genomik atau epigenetik telah dijelaskan pada kanker kolorektal: (1) ketidakstabilan kromosom (*CIN: chromosomal instability*), (2) ketidakstabilan mikrosatelit (*MSI: Microsatellite Instability*), (3) hipermutabilitas non-MSI, (4) mutasi DNA yang menyimpang, dan (5) hipomutasi DNA global. (Morikawa T., dkk., 2013)

2.1.3.2. Ketidakstabilan kromosom (CIN)

Adanya instabilitas kromosom (CIN) akan menyebabkan kromosom kehilangan material (*Loss Of Chromosomal Material/Loss Of Heterozigosity/LOH*). Hal ini mengakibatkan gen-gen supresi tumor (tumor suppressor genes) seperti gen “*Adenomatous Polyposis Coli* “ (APC) atau gen p53 akan kehilangan fungsi supresinya. Selain itu gen-gen supresi

tumor tersebut juga fungsinya akan berubah melalui suatu proses mutasi. Akibat adanya gangguan molekulik pada gen-gen supresi tumor maka akan terjadi perubahan progresif dari adenoma menjadi karsinoma. Jalur perubahan ini sering disebut juga sebagai: “jalur suppressor “ (Suppressor Pathway). Hilangnya fungsi supresi pada gen APC secara tipikal terjadi pada stadium awal pathogenesis terjadinya KKR sporandis.

Chromosomal Instability (CIN) bentuk paling umum dari ketidakstabilan genom adalah ketidakstabilan kromosom, yang ditemukan sebanyak 85% dari KKR. Ketidakstabilan kromosom, yang dapat dikenali dengan adanya aneuploidi atau poliploidi, didefinisikan sebagai adanya perubahan kromosom numerik atau multipel. Penyimpangan struktural kromosom. Kejadian genetik paling awal pada tumorigenesis kolorektal adalah aktivasi pensinyalan *Wnt* melalui gangguan genetik *APC* pada *5q21*. Mutasi germline pada *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) bertanggung jawab atas poliposis adenomatosa familial. (Morikawa T., dkk., 2013)

Mutasi dalam *APC* mengaktivitas jalur *Wnt* signaling dengan meningkatkan kadar β -catenin. β -catenin dipindahkan ke dalam inti dan meningkatkan transkripsi dari berbagai onkogen dengan T-cell rectum (TCF) transcription rectum. Kadar β -catenin yang tinggi tampak pada tumor gastrointestinal. Inaktivasi *APC* I dapat terjadi pada 72% tumor sporadic, 30%-70% adenoma dan 5% dari dysplastic aberrant crypt foci (ACF). (Tariq, K., K. Ghias., 2016)

a. Jalur *WNT / APC / β -cat*

Produk gen *APC (Antigen Presenting Cell)* adalah protein besar dengan beberapa domain fungsional yang mengatur diferensiasi, adhesi, polaritas, migrasi, perkembangan, apoptosis, dan bahkan pemisahan kromosom. Fungsi kritisnya adalah interaksinya dengan glikogen sintase kinase-3 β dan *β -catenin*, masing-masing komponen penting dari jalur pensinyalan tanpa sayap / *Wnt APC* berikatan dengan *β -catenin*, glikogen sintase kinase-3 β , dan kasein kinase 1 / pada aksin- konduktor perancah; fosforilasi selanjutnya dari *β -catenin* oleh glikogen sintase kinase-3 β mengarah pada penurunan yang bergantung pada proteasome dan penekanan sinyal *Wnt*. (Barker, N., dkk 2013).

Gen *Adenomatous Polyposis Coli (APC)* merupakan gen supresi tumor dan dianggap sebagai pemicu awal pada terjadinya tumor kolorektal. Defek pada gen *APC* merupakan pertama kali dideskripsikan pada penderita dengan *FAP (Familial Adenomatous Polyposis Coli)*, dimana mutasi pada setiap alel diperlukan untuk pembentukan polip. Inaktivasi gen *APC* telah dilaporkan pada 34-70% penderita kanker kolorektal sporadis.

APC mutan mengganggu pembentukan kompleks dan peningkatan kadar sitoplasma *β -catenin* dapat berpindah ke nukleus, di mana ia mendorong transkripsi beberapa gen yang terlibat dalam pertumbuhan tumor dan invasi melalui interaksinya dengan faktor sel-

T / faktor peningkat limfoid dari keluarga transkripsi faktor. (Carmon KS, dkk., 2011)

Juga, komponen yang berbeda dari jalur *WNT / APC / β -cat* dapat diubah secara langsung atau tidak langsung misalnya melalui pengaktifan *β -catenin* atau *Tcf* secara konstitutif. Di antara berbagai gen pengatur yang berinteraksi dengan gen penekan *APC*, protein pos pemeriksaan mitosis *BubR1* ditemukan memainkan peran penting. *BubR1* adalah komponen mesin pos pemeriksaan mitosis bersama dengan *Bub1*, *Bub3*, *Mad1*, *Mad2*, *Mad3*, *Mps-1* dan *CENP-E*. Dengan mengikat ke *Cdc20* itu menghambat aktivitas *APC* dengan menstimulasi sinyal "tunggu anafase". Regulasi turun dan akibatnya inaktivasi berkontribusi pada pembentukan sel poliploid, kelangsungan hidup sel yang lama, dan proliferasi berlebih, menunjukkan mekanisme patogenik potensial dalam inisiasi ketidakstabilan kromosom dalam bentuk sporadis KKR. (Morikawa T., dkk., 2013)

b. *K-RAS*

K RAS (Rat Sarcoma Proto-Oncogen) adalah suatu protoonkogen yang berlokasi pada kromosom 12 lengan p pada posisi 12.1. Gen ini menyandi protein K ras, suatu famili protein yang ditemukan di permukaan dalam membran sel, termasuk sel manusia. Protein ras merupakan *guanine-nucleotide-binding protein* yang berfungsi sebagai *binary molecular switches* yang mengontrol jalur signal intraseluler. Untuk mentransmisikan signal, K ras diaktifkan

oleh adanya signal ekstra selular (faktor pertumbuhan, sitokin atau hormon) yang berikatan dengan reseptor permukaan sel. Selanjutnya ras yang berikatan dengan molekul *guanosin diphosphate* (GDP) (ras yang inaktif) akan mengalami konversi menjadi *guanosin triphosphate* (GTP) (ras aktif). Pada saat aktif maka signal ekstraselular akan ditransmisikan ke inti sel. Transduksi signal oleh ras ini akan mengaktifkan gen yang terlibat dalam pertumbuhan sel, diferensiasi dan *survival*. Mutasi *K RAS* berperan pada karsinogenesis dari banyak jenis keganasan termasuk karsinoma kolorektal.

RAS yang diaktifkan mengatur beberapa fungsi seluler melalui efektor yang dijelaskan dengan baik. Efektor yang dikarakterisasi terbaik adalah jalur Raf-Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) dan jalur Ekstraseluler *signal-Regulated Kinase* (*ERK*). Keluarga *Raf* mencakup tiga serin / treonin kinase (*ARAF*, *BRAF*, dan *RAF1*) yang mengaktifkan *MEK1* dan *MEK2*, yang pada gilirannya memfosforilasi *ERK1* dan *ERK2*. *ERK* kemudian memfosforilasi substrat sitosol dan inti, termasuk *JUN* dan *ELK1*, yang mengatur enzim seperti siklin D1, yang terlibat dalam pengendalian perkembangan siklus sel. Sedangkan *MEK* sering diaktifkan pada tumor kolorektal manusia. (Horst D., dkk., 2012)

RAS guanosin trifosfat juga mengikat subunit katalitik dari tipe I *phosphatidylinositol 3* kinase, yang berpindah ke membran plasma untuk menghasilkan lipid fosfoinositol. Perhatikan, *PIK3CA* bermutasi di hampir 20% KKR; mutasi yang terjadi pada hotspot yang

terletak pada ekson 9 (*E542K*, *E545K*) dan (*H1047R*) bersifat onkogenik pada model seluler KKR. *AKT / PKB* merupakan target hilir kritis *fosfatidylinositol 3* kinase yang mengatur serangkaian respon termasuk pertumbuhan sel, proliferasi, dan kelangsungan hidup dengan menonaktifkan beberapa protein proapoptosis seperti faktor transkripsi *BAD* dan *Forkhead (FKHR)*. *Phosphatidylinositol 3* kinase juga mengaktifkan *Rac*, keluarga *Rho guanosine triphosphatase*, yang penting untuk transformasi yang dimediasi oleh *RAS* dalam beberapa konteks seluler. (Imamura Y., dkk., 2012)

c. *P53*

Protein 53 (*p53*) berperan sebagai tumor-suppressor, merupakan faktor transkripsi dengan fungsi utama sebagai pengatur siklus sel dan sering mengalami mutasi. Dari 50% kasus karsinoma pada manusia ditemukan adanya mutasi dari gen *p53*. Deteksi DNA yang mengalami kerusakan diatur oleh tumor suppressor *p53*. Saat DNA mengalami kerusakan, *p53* menahan sel untuk memasuki fase berikutnya dan memberikan waktu pada DNA untuk melakukan perbaikan, atau bila kerusakan cukup parah, *p53* akan menginisiasi program kematian sel (apoptosis). Beberapa perubahan yang telah diidentifikasi, yaitu perubahan pada tumor suppressor seperti *p53*. Dengan hilangnya growth suppression, progresi siklus sel tidak terkontrol dan menghasilkan tumorigenesis (Dharmayanti, Sri, dkk., 2019)

P53 terletak di lengan pendek kromosom 17, mengkodekan faktor transkripsi asam amino yang merupakan penekan tumor dan koordinator pusat respon seluler terhadap stres, termasuk kerusakan *DNA*, sinyal proliferasi yang menyimpang, dan stres oksidatif. *P53* diinduksi oleh beberapa protein onkogenik, seperti *c-Myc*, *RAS*, dan adenovirus *E1A*. Dalam kondisi normal, *p53* diatur secara negatif oleh *MDM2*, *E3-ubiquitin* ligase, dan protein terkait *MDM4* (juga dikenal sebagai *MDMX*), yang mengikat ke domain transaktivasi *p53* dan menargetkannya untuk degradasi. Dalam sel dengan tingkat stres yang tinggi, interaksi antara *MDM2*, *MDM4*, dan *p53* terganggu, memungkinkan *p53* yang diaktifkan untuk melakukan aktivitas transkripsi. Didefinisikan sebagai "penjaga genom", *p53* adalah pengatur utama yang mengontrol transkripsi ratusan gen yang terlibat dalam metabolisme *DNA*, apoptosis, regulasi siklus sel, penuaan, angiogenesis, respons imun, diferensiasi sel, motilitas, dan migrasi. (Morikawa T., dkk., 2012)

P53 berperan sangat penting dalam menentukan nasib sel ketika *DNA* mengalami kerusakan, yakni menentukan sel rusak akan memperbaiki diri atau sel akan mengalami program kematian sel (apoptosis), apabila kerusakan terlalu ekstensif. Sehingga apabila *p53* hilang atau *p53* mengalami mutasi, maka secara nyata akan berperan terhadap perkembangan tumor, progresi dan resistensi kemoterapi. Pada sebagian besar perubahan genetik dalam tumor, baik delesi atau mutasi pada lebih dari 50% kanker pada manusia ternyata

p53 mengalami mutasi transmisi germline dari alel mutan p53. Dan kehilangan p53 mengakibatkan penurunan apoptosis dan menurunkan sensitifitas terhadap radio terapi atau kemoterapi. Terapi penggantian gen dengan p53 adalah inducer yang berpotensi untuk apoptosis sel kanker yang efektif meskipun terdapat berbagai perubahan genetik dalam sel kanker. P53 dapat meregulasi pertumbuhan sel kanker secara invivo, sehingga penggantian p53 atau overkadar p53 ketidaknormalan kontrol siklus sel dapat diregulasi Kembali (Dharmayanti, Sri, et al, 2019)

2.1.3.3. Ketidakstabilan mikrosatelit (*MSI*)

Mikrosatelit adalah urutan pengulangan nukleotida yang didistribusikan melalui genome. *Microsatellite Instability* (*MSI*) adalah perubahan panjang pengulangan tandem nukleotida sederhana akibat tidak efisiennya proses pengikatan DNA polymerase. Abnormalitas ini mengakibatkan ketidakstabilan yang luas terhadap pengulangan berulang nukleotida yang kemudian dinamakan *Microsatellite Instability* (*MSI*)/ *Replication Error* (*RER*).

Kanker kolorektal dengan mikrosatelit tidak stabil (*MSI:Microsatellite Instability*) yang menyumbang sekitar 15%, umumnya dianggap sama-sama eksklusif dari tumor *CIN* karena mereka biasanya menampilkan kariotipe dekat diploid dan membawa serangkaian mutasi gen unik yang berbeda dari yang terlihat di *CIN* KKR, meskipun tampaknya ada bagian dari KKR yang menunjukkan *CIN* dan *MSI* (Walsh MD, dkk., 2012).

MSI pada KKR telah ditentukan dengan adanya setidaknya 30% lokus mikrosatelit yang tidak stabil dalam panel yang terdiri dari 5–10 lokus yang terdiri dari saluran mono dan di-nukleotida yang dipilih pada konferensi konsensus *National Cancer Institute*. Berkenaan dengan korelasi klinis MSI, penderita dengan MSI KKR stadium I-III memiliki prognosis yang lebih baik dibandingkan dengan penderita dengan CIN KKR, dan mungkin memberikan respon yang berbeda terhadap kemoterapi adjuvan dibandingkan dengan penderita dengan mikrosatelit stabil (MSS, juga disebut CIN) KKR (Yamamoto H, dkk., 2015).

MSI diakibatkan oleh tidak aktifnya salah satu dari kelompok gen yang bertanggung jawab terhadap mismatch repair nukleotida seperti hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, hMSH6/GTBP, hMSH3 dan hMLH3. MSI merupakan refleksi dari sistim MMR DNA. Kegagalan memperbaiki kesalahan replikasi DNA mengakibatkan “mutator phenotype” dengan banyak frameshift mutasi dalam mikrosatelit coding dan non-coding. Sisipan DNA dalam pengulangan coding dapat menginduksi frameshift mutasi yang mengakibatkan produksi terpotong sehingga protein tidak berfungsi. Penumpukan mutasi pada gen-gen ini akhirnya mengakibatkan berkembangnya fenotip MSI “immune” akibat antigenisitas yang tinggi (Nojadeh NJ., Dkk., 2018).

Sistem MMR memainkan peranan penting dalam mempertahankan keutuhan genetik. Setelah deteksi awal dari replication errors oleh heterodimer MSH2/MSH6 (MutS α) dan MSH2/MSH3 (MutS β), Selanjutnya perekrutan dari kompleks MLH1/PMS2 menghancurkan

segmen yang bermutasi dan memulai sintesis kembali DNA. Kadar MSH6 normal 10 kali MSH3, sehingga perbandingan MutS α : MutS β kira-kira 10:1. Meskipun terjadi reduksi berikutnya dalam aktifitas mismatch recognition, kedua kompleks dibutuhkan untuk pMMR. Kesalahan replikasi ini akan menyebabkan gen-gen target seperti *Transforming Growth Factor* (TGF) β RII, IGF2R dan BAX, mengalami replikasi nukleotida rantai pendek yang secara intrinsik bersifat tidak stabil dan karena itulah mudah digandakan tanpa terkoreksi selama proses replikasi DNA. Hasil dari Microsatellite Instability, maka gen-gen tersebut tidak mampu untuk melakukan homeostatis kolonosit normal sehingga terjadi pertumbuhan maligna jalur karsinogenesis kolon seperti diatas tadi dikenal sebagai “jalur mutator” karena banyak terjadi mutasi pada gen-gen tersebut . System MMR juga dibutuhkan untuk cell cycle arrest dan atau program kematian sel dalam respons terhadap tipe kerusakan DNA tertentu (Sinicrope FA., 2012).

Mismatch Repair (MMR) adalah salah satu sistem yang mengontrol dan menjaga integritas DNA disaat replikasi, karena pada saat replikasi sering terjadi gangguan. Apabila mekanisme ini tidak ada maka kerusakan DNA akan berkelanjutan dan kerusakan ini akan diturunkan kepada keturunan berikutnya sebagai mutasi yang permanen. Sesungguhnya sel tumor sering terjadi akibat adanya kerusakan atau cacat pada proses repair DNA. Sebagai contoh, 10-25% dari kanker kolon pada manusia mengalami kegagalan proses perbaikan DNA akibat tidak berperannya gen-gen MMR yaitu gen MLH1, MSH2, PMS1 dan PMS2 (Sinicrope FA., dkk,2012).

2.1.4 Diagnosis

2.1.4.1. Nilai prediksi tinggi kanker kolorektal (KKR)

Berikut ini adalah gejala dan tanda yang menunjukkan nilai prediksi tinggi akan adanya KKR: (PPK Kolorektal, 2017) Keluhan utama dan pemeriksaan klinis:

- Perdarahan per-anum disertai peningkatan frekuensi defekasi dan/atau diare selama minimal enam minggu (semua umur).
- Perdarahan per-anum tanpa gejala anal (di atas 60 tahun).
- Peningkatan frekuensi defekasi atau diare selama minimal 6 minggu (di atas 60 tahun).
- Massa teraba pada fossa iliaka dekstra (semua umur) Massa intraluminal di dalam rectum.
- Tanda-tanda obstruksi mekanik usus. Setiap penderita dengan anemia defisiensi Fe (Hb <11g% untuk laki-laki atau <10g% untuk perempuan pascamenopause).

2.1.4.2. Pemeriksaan colok dubur

Pemeriksaan colok dubur dilakukan pada setiap penderita dengan gejala ano-rektal. Pemeriksaan ini harus dinilai keutuhan sfingter ani dan mengatur ukuran dan derajat fiksasi tumor pada rektum 1/3 tengah dan distal. Pada pemeriksaan colok dubur ini yang harus dinilai adalah:

- a. Keadaan tumor: perpanjangan pada dinding rektum serta letak bagian terendah terhadap cincin anorektal, serviks uteri, bagian atas kelenjar prostat atau ujung os *coccygis*.

- b. Mobilitas tumor: Hal ini sangat penting untuk diketahui prospeksi terapi pembedahan.
- c. Ekstensi dan ukuran tumor dengan batas atas, bawah, dan sirkuler.

2.1.4.3. Pemeriksaan Penunjang dan Histopatologi

Lebih dari 90% karsinoma kolorektal adalah adenokarsinoma yang berasal dari sel epitel mukosa kolorektal. Jenis karsinoma kolorektal yang langka lainnya termasuk neuroendokrin, sel skuamosa, adenoskuamosa, sel spindle dan karsinoma yang tidak berdiferensiasi. Adenokarsinoma konvensional ditandai oleh pembentukan kelenjar, yang merupakan dasar untuk penilaian tumor histologis. Pada adenokarsinoma yang terdiferensiasi dengan baik > 95% tumor membentuk kelenjar. Adenokarsinoma dengan diferensiasi sedang menunjukkan pembentukan kelenjar 50-95%. Adenokarsinoma yang berdiferensiasi buruk sebagian besar padat dengan pembentukan kelenjar <50%. (Hamilton SR., dkk., 2010)

Karsinoma invasif biasanya menyerang melalui mukosa muskularis ke dalam submukosa, dan kadang-kadang terlihat dekat dengan pembuluh darah submukosa. Ciri penting lain dari invasi adalah adanya desmoplasia atau reaksi desmoplastik sejenis proliferasi berserat yang mengelilingi sel-sel tumor sekunder akibat pertumbuhan tumor invasif. (Fleming., dkk., 2012)

Dalam klasifikasi Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), sejumlah varian histologis karsinoma kolorektal dicantumkan, seperti musinosa, meduler, mikropapiler, bergerigi, *cribriform comedo-type*, *adenosquamous*, sel *spindle*, dan tidak berdiferensiasi. Adenokarsinoma dikategorikan

berdasarkan persentase pembentukan kelenjar menjadi baik (lebih dari 95%), sedang (lebih dari 50%) dan buruk (kurang dari 49%) dibedakan, tetapi selanjutnya dibagi dalam dua tingkat rendah (baik sedang) / bermutu tinggi (buruk) dengan signifikansi prognostik. Diagnosis klinikopatologis diferensial adalah neuroendokrin, hamartoma, mesenchymal, dan limfoma (Fleming., dkk., 2012).

Penanda imunohistokimia yang paling banyak digunakan untuk adenokarsinoma kolorektal adalah Citokeratin (*CK*) 20, *CK7* dan *CDX2*. Imunofenotip adenokarsinoma kolorektal yang paling umum adalah positif untuk *CK20* dan negatif untuk *CK7*, yang merupakan pola pewarnaan yang relatif spesifik untuk asal kolorektal) (Recio-Boiles A., dkk., 2020).

Baru-baru ini, enam sistem klasifikasi independen bergabung menjadi empat sub tipe molekul konsensus (*CMSs*) dengan fitur yang membedakan:

- *CMS1* (*MSI*-imun, 14%), beban yang terprogram, *dMMR*, mikrosatelit yang tidak stabil dan aktivasi kekebalan yang kuat.
- *CMS2* (kanonik, 37%), ketidakstabilan kromosom yang tinggi, epitel, ditandai pensinyalan *WNT* dan *MYC*.
- *CMS3* (metabolik, 13%), disregulasi metabolik epitel dan jelas, mutasi *KRAS*.
- *CMS4* (mesenkimal, 23%), hipermetilasi *CpG*, transformasi aktif faktor pertumbuhan-beta, invasi stroma, dan angiogenesis.
- Klasifikasi *CMSs* memiliki nilai prognostik, *CMS1* baik, *CMS4* buruk dan *CMS2* / 3 menengah.

Sel punca KKR diidentifikasi melalui sekelompok penanda permukaan. Salah satu penanda sel punca kanker utama adalah *LGR-5*. *LGR-5* atau reseptor 5 protein G berpasangan berisi pengulangan kaya leusin (*Leucine-rich repeat-containing G protein coupled receptor 5*) berasal dari famili reseptor berpasangan protein G, yang mengandung 17 pengulangan kaya leusin dan sebuah domain transmembran α -heliks. *LGR-5* adalah penanda intestinal normal dan sel punca KKR. *LGR-5* turut berperan aktif dalam pathogenesis KKR, dan kadar *LGR-5* sangat berhubungan dengan tumorigenesis, resistensi terhadap *5-fluorouracil* dan rekurensi KKR. Pada KKR stadium IV, kadar *LGR-5* yang tinggi dihubungkan dengan prognosis yang buruk. Oleh karena itu, *LGR-5* disebut sebagai indikator prognosis buruk dan target potensial pada KKR. (Zhou, 2018)

Beberapa penelitian menunjukkan kadar *LGR-5* yang tinggi pada sel KKR dibandingkan pada jaringan yang normal. *LGR-5* dijadikan sebagai indikator prognosis atau prediktor respon terapi pada KKR; kebanyakan studi menunjukkan kadar *LGR-5* berhubungan dengan luaran klinis. Suatu penelitian mengenai pemeriksaan *LGR-5* pada 340 penderita KKR sebagai sampel menunjukkan adanya hubungan yang kuat dengan kejadian relaps, metastasis, dan tumor jenis diferensiasi buruk. (Morgan, 2018)

2.1.5 Stadium (*Staging*)

Klasifikasi stadium kanker digunakan untuk menentukan luas atau ekstensi kanker dan nilai prognostik penderita. Sistem yang paling banyak digunakan adalah sistem *TNM American Joint Committee on Cancer (AJCC)* 2018 (Tabel 2 - Tabel

5) (PPK Kolorektal, 2017). Dalam manual pementasan *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* edisi ke-8, tentang kanker kolorektal memberikan penjelasan yang lebih luas tentang anatomi, diikuti oleh aturan untuk klasifikasi klinis dan patologis.

a. Stadium tumor

Kategori T tidak berubah. Ini ditujukan pada lesi yang terbatas pada mukosa di mana sel kanker menyerang ke dalam lamina propria dan mungkin melibatkan tetapi tidak menembus melalui mukosa muskularis. (Lesi ini lebih tepat disebut karsinoma intramukosal.) Meskipun invasi melalui membran basal di semua situs gastrointestinal dianggap invasif, pada tumor kolorektal, invasi ke lamina propria tanpa penetrasi melalui mukosa muskularis (karsinoma intramukosal) disebut Tis, karena itu dikaitkan dengan risiko metastasis yang dapat diabaikan. (Edge SB, dkk., 2010)

Lesi polip diklasifikasikan menurut definisi pT yang digunakan untuk karsinoma kolorektal. Misalnya, karsinoma invasif yang terbatas pada mukosa muskularis dan / atau lamina propria diklasifikasikan sebagai pTis, sedangkan tumor yang telah menyerang melalui mukosa muskularis dan telah memasuki submukosa kepala atau batang polip diklasifikasikan sebagai pT1. (Amin MB, dkk., 2017)

Seperti dalam edisi *AJCC* sebelumnya, T1, T2, dan T3 didefinisikan sebagai keterlibatan submukosa, penetrasi melalui submukosa ke dalam tetapi tidak melalui muskularis propria, dan penetrasi masing-masing melalui muskularis propria. T4 dibagi lagi menjadi T4a dan T4b. Tumor yang menginvasi permukaan serosal (visceral peritoneum) disebut sebagai T4a. Ada klarifikasi lebih lanjut bahwa tumor

dengan perforasi, di mana sel tumor terus menerus dengan permukaan serosal melalui peradangan, juga dianggap sebagai T4a. Di area kolon dan rektum tanpa penutup peritoneal, seperti aspek posterior kolon ascendens dan descendens serta rektum bawah, T4a tidak berlaku. Tumor yang langsung menyerang atau menempel pada organ atau struktur yang berdekatan dianggap sebagai T4b. (Amin MB, dkk., 2017)

Mengenai kolorektum, ahli patologi menerapkan istilah displasia tingkat tinggi pada lesi yang terbatas pada lapisan epitel kriptus dan kurangnya invasi melalui membran basal ke dalam lamina propria. Istilah karsinoma intraepitel identik dengan displasia derajat tinggi tetapi jarang digunakan untuk diterapkan pada kolorektum.

Tabel 1. Tumor primer (T)

TX	Tumor primer tidak bisa dinilai
T0	Tidak ada bukti adanya tumor primer
Tis	Karsinoma <i>in situ</i> : intraepitelial atau invasi ke lamina propria
T1	Tumor menginvasi ke submucosa
T2	Tumor menginvasi ke muskularis propria
T3	Tumor menginvasi melalui muskularis propria ke jaringan perikolorektal
T4a	Tumor berpenetrasi ke lapisan peritoneum viseral
T4b	Tumor secara langsung menginvasi atau melekat ke organ atau struktur lain

b. Stadium nodul

Nodul kategori juga tidak berubah; namun, ada diskusi panjang tentang sel tumor yang terisolasi di kelenjar getah bening dan mikrometastasis. Sel tumor terisolasi, yang umumnya terdiri dari 20 sel dalam sinus subkapsular atau marginal dari kelenjar getah bening, memiliki nilai prognostik yang kontroversial. Menurut AJCC 8, mereka harus diberi tanda N0, tetapi keberadaannya tidak meningkatkan

penyakit ke stadium III. Mikrometastasis adalah kelompok dari 20 sel atau lebih atau metastasis berukuran diameter 0,2 mm dan 2 mm. Kelenjar getah bening yang menyimpan mikrometastasis harus dianggap positif dan dilambangkan dengan N1. (Edge SB, dkk., 2010)

AJCC 8 menjelaskan interpretasi dari nodul tumor yang ditemukan di dalam area drainase getah bening dari kolon primer atau karsinoma rektal. Nodul yang tidak memiliki jaringan kelenjar getah bening yang dapat diidentifikasi atau struktur vaskular / saraf harus dianggap sebagai deposit tumor dan ditunjuk sebagai N1c. Tumpukan tumor dalam dinding pembuluh harus dianggap sebagai invasi limfovaskular, dengan sebutan L, untuk invasi limfatik atau vena kecil dan V, untuk endapan di ruang berlapis sel endotel dengan sel darah merah atau sel otot polos terkait. Jika nodul tumor ditemukan di sekitar struktur saraf, mereka harus dikategorikan sebagai invasi perineural. (Amin MB, dkk., 2017)

Tabel 2. Kelenjar Getah Bening (N)

NX	Kelenjar getah bening regional tidak bisa dinilai
N0	Tidak ada metastasis ke kelenjar getah bening regional
N1	Metastasis dalam 1-3 kelenjar getah bening regional
N1a	Metastasis dalam 1 kelenjar getah bening regional
N1b	Metastasis dalam 2-3 kelenjar getah bening regional
N1c	Tidak terdapat nodus regional yang positif, namun ditemukan deposit tumor di: • Subserosa • Mesenterium • Perikolik non-peritoneal atau perirektal/mesorektal
N2	Empat atau lebih nodus regional yang positif
N2a	Empat sampai enam nodus regional yang positif
N2b	Lebih dari tujuh nodus regional yang positif

N1c meningkatkan penyakit ke stadium III, bahkan tanpa metastasis ke nodus. Jumlah deposit tumor dicatat dengan faktor spesifik lokasi tetapi tidak

mempengaruhi penunjukan (yaitu penderita dengan satu deposit tumor dan penderita dengan empat deposit tumor keduanya digolongkan sebagai N1c). Jumlah deposit tumor tidak ditambah dengan jumlah kelenjar getah bening yang positif. (Amin MB, dkk., 2017)

c. Stadium metastasis

Metastasis ke hanya satu organ padat (hati, paru, ovarium, kelenjar getah bening *non regional*) harus dicatat sebagai M1a. Beberapa metastasis hanya dalam satu organ, bahkan jika organ tersebut berpasangan (Ovarium atau paru), masih merupakan penyakit M1a. Metastasis ke beberapa tempat atau organ padat yang jauh dari tempat primer yaitu M1b, tidak termasuk karsinomatosis peritoneal. Karsinomatosis peritoneal dengan atau tanpa metastasis melalui darah ke organ viseral ditetapkan sebagai M1c, karena studi terbaru menunjukkan hal ini terjadi pada 1-4% penderita dan prognosis untuk penyakit peritoneal lebih buruk daripada metastasis viseral ke satu atau organ yang lebih padat. Ahli patologi tidak boleh menetapkan pM0 karena M0 merupakan sebutan global yang mengacu pada tidak adanya metastasis yang dapat dideteksi di manapun di tubuh. (Edge SB, dkk., 2010)

Tabel 3. Metastasis (M)

cM0	Tidak ada metastasis jauh melalui pencitraan, dll.; tidak ada bukti tumor di tempat atau organ yang jauh (Kategori ini tidak ditetapkan oleh ahli patologi.)
cM1	Metastasis ke satu atau lebih tempat atau organ yang jauh atau metastasis peritoneum diidentifikasi
cM1a	Metastasis terkonfirmasi ke 1 organ (hati / paru / ovarium / kelenjar getah bening non regional)
cM1b	Metastasis ke lebih satu organ atau ke peritoneum
cM1c	Metastasis ke permukaan peritoneal diidentifikasi sendiri atau dengan metastase situs atau organ lain
pM1	Metastasis ke satu atau lebih situs atau organ yang jauh atau metastasis peritoneum diidentifikasi dan dikonfirmasi secara mikroskopis
pM1a	Metastasis ke satu situs atau organ diidentifikasi tanpa metastasis peritoneum dan dikonfirmasi secara mikroskopis
pM1b	Metastasis ke dua atau lebih situs atau organ diidentifikasi tanpa metastasis peritoneum dan dikonfirmasi secara mikroskopis
pM1c	Metastasis ke permukaan peritoneal diidentifikasi sendiri atau dengan situs lain atau metastasis organ dan dikonfirmasi secara mikroskopis

d. Invasi kanker kolorektal

Invasi limfovaskular (LVI) adalah invasi pembuluh darah kecil atau besar oleh tumor primer merupakan faktor prognostik buruk yang penting. Invasi pembuluh darah kecil adalah keterlibatan tumor dari struktur berdinding tipis yang dilapisi oleh endotelium, tanpa lapisan otot polos atau lamina elastis yang dapat diidentifikasi. Struktur berdinding tipis ini termasuk limfatik, kapiler, dan venula postkapiler. Invasi pembuluh darah besar didefinisikan oleh tumor yang melibatkan ruang berlapis endotelium yang memiliki lamina elastis dan / atau lapisan otot polos. (Amin MB, dkk., 2017)

Invasi Perineural (PNI) adalah invasi saraf di dalam atau berdekatan dengan tumor primer oleh karsinoma kolorektal merupakan faktor prognostik negatif yang mungkin sama pentingnya dengan invasi limfatik atau pembuluh darah. Namun, sering terlewatkan dan mungkin muncul pada 20% karsinoma kolon primer atau

rektal. Invasi karsinoma pada saraf perifer, termasuk ruang perineural dalam area drainase regional tumor primer, merupakan faktor prognostik yang merugikan, seperti yang diidentifikasi dalam beberapa studi institusional, dan mengindikasikan karsinoma yang sangat agresif. (Amin MB, dkk., 2017)

Tabel 4. Sistim stadium *TNM AJCC* pada kanker kolon (Jessup, J.M., et al., 2018)

Stadium	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1, T2	N0	M0
Stadium IIA	T3	N0	M0
Stadium IIB	T4a	N0	M0
Stadium IIC	T4b	N0	M0
Stadium IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
Stadium IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
Stadium IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
Stadium IVA	Any T	Any N	M1a
Stadium IVB	Any T	Any N	M1b
Stadium IVC	Any T	Any N	M1c

2.2 Tinjauan *Leucine-Rich Repeat-Containing G-Protein–Coupled Receptor* 5 (*LGR-5*)

2.2.1 Stem sel kanker pada kanker kolorektal

Sel punca kanker (*CSC: Cancer Stem Cell*) dijelaskan pertama kali pada *Leukemia Myeloid Akut* (LMA), tetapi segera terbukti pada tumor padat. *CSC* muncul melalui mutasi gen atau deregulasi program genetik pada sel induk / progenitor normal. Pada KKR, sel-sel dengan karakteristik epitel, yaitu *EpCAM* (*Epithelial Celular Adhesion Molekul*) tinggi diisolasi dan sel-sel ini menunjukkan sifat-sifat seperti sel induk, seperti tumorigenesis, invasi dan metastasis, yang menunjukkan sumber epitel dari *CSC*. Secara umum, *CSC* kolorektal terutama berasal dari sel usus yang terdiferensiasi atau sel induk usus

(ISC: *Intestinal Stem Cell*) melalui peningkatan perubahan genetik yang cukup untuk memicu transformasi keganasan. (Munro, MJ., dkk, 2017)

Sel-sel di ruang bawah tanah berasal dari sel induk. Salah satu sel mitosis tetap sebagai sel induk di dasar ruang bawah tanah dan sel lain secara bertahap didorong ke permukaan luminal ruang bawah tanah sebagai sel epitel. Sel-sel yang mencapai bagian paling atas melakukan apoptosis dan mengelupas tanpa bereplikasi atau berdiferensiasi. Oleh karena itu, setiap mutasi pada sel-sel ini pada dasarnya tidak berdampak pada perputaran normal mukosa. Sel-sel dengan *DNA* yang rusak (gen yang bermutasi) tidak menyebabkan apoptosis, mencapai bagian paling atas di ruang bawah tanah, dan terus berkembang biak. Ini adalah perubahan prakanker, *Aberrant Crypt Foci (ACF)*, sekarang digunakan secara luas sebagai salah satu biomarker karsinogenesis usus besar dalam percobaan kemopreventif. Sel punca berada dalam “ceruk” khusus yang terdiri dari myofibroblas sub-epitel usus yang mengontrol fungsinya dengan ketat. Telah dikatakan bahwa mutasi dalam sel induk kolon dewasa ini dapat menyebabkan perubahan neoplastik. Sel-sel tersebut kemudian dapat berdisosiasi dari epitel, berjalan ke mesenkim, dan dengan demikian membentuk kanker invasif. (Zheng S, dkk., 2013)

Perkembangan Kanker Kolorektal (KKR) adalah bahwa setiap sel di mukosa dapat mengakumulasi mutasi genetik dan akhirnya menyebabkan transformasi ganas. Ini disebut sebagai teori mutasi kanker "somatik". Ada teori saat ini bahwa sel punca khusus organ dapat menjadi asal mula perkembangan kanker. Di usus, sel induk mukosa di dasar kriptus kolon dapat mengakumulasi mutasi dan karenanya menyebabkan perkembangan tumor. Sel induk kolon

normal menghasilkan mukosa usus besar yang memiliki tingkat produksi dan pergantian sel yang luar biasa. Oleh karena itu, kanker dapat berkembang sebagai akibat dari perubahan proses ini melalui akumulasi mutasi dan kerusakan di dalam sel induk pengendali. (Stoian M dkk, 2016)

Teori Unitarian menyatakan bahwa "semua jenis sel di dalam ruang bawah tanah diturunkan dari satu sel induk". Di masa dewasa, setiap ruang bawah tanah bersifat monoklonal, yaitu satu sel induk yang berfungsi per ruang bawah tanah, sedangkan pada janin dan neonatus, kriptusnya bersifat poliklonal. Sel punca kanker mirip dengan sel punca dewasa normal tetapi dengan tambahan beberapa fitur yang menyebabkan kekacauan fisiologis: angiogenesis, invasi, metastasis, dan resistensi terhadap apoptosis. Di dalam kanker, pembelahan sel didorong oleh peristiwa seluler internal terlepas dari rangsangan eksternal. Mirip dengan sel induk kolon dewasa normal, sel kanker rektal manusia dapat memunculkan semua jenis sel ruang bawah tanah kolon. (Stoian M dkk, 2016)

2.2.2. Jalur pensinyal *WNT* dan keterlibatan *LGR-5*

Sel punca kanker secara istimewa menunjukkan aktivasi yang persisten dari jalur transduksi sinyal ganda. Jalur pensinyalan abnormal yang telah ditangani dengan baik pada CSC kolorektal, termasuk *Wnt / β -catenin*, *Notch*, *TGF- β* dan *Hedgehog*. Jalur *Wnt / β -catenin* sangat penting dalam pemeliharaan kekuatan dan resistensi obat dari CSC kolorektal. Pensinyalan *Wnt / β -catenin* diaktifkan melalui pengikatan ligan *Wnt* dengan kompleks reseptor *Frizzled*, dan *β -catenin*, ko-regulator transkripsi, adalah efektor kunci dari pensinyalan *Wnt / β -catenin* ini. Apakah fungsi pensinyalan *Wnt / β -catenin* bergantung pada

level dan lokasi seluler β -catenin, dan $GSK-3\beta$, sebuah kinase multifungsi yang terletak di kompleks regulasi $APC / Axin / GSK-3\beta$, merupakan regulator negatif dari β -catenin. (Mohammed MK, dkk 2016)

$GSK-3\beta$ ini memfosforilasi β -catenin dan mendorong degradasi proteasomal melalui jalur β -TrCP / Skp. Aktivasi kompleks Wnt / reseptor menggantikan $GSK-3\beta$ dari $APC / Axin$ dan dengan demikian menstabilkan β -catenin. Akumulasi β -catenin bertranslokasi ke dalam nukleus, mengikat faktor transkripsi LEF / TCF , dan mendorong kadar gen target. Pada CSC kolorektal, mutasi yang mencegah pembentukan kompleks penghancuran $APC / Axin / GSK-3\beta$ menyebabkan akumulasi dan translokasi inti β -catenin, mengaktifkan gen target yang terlibat dalam diferensiasi. (Leucht P, dkk, 2019)

Leucine-rich, repeat-contains, G-protein-coupled Receptor 5 (LGR-5), yang juga dikenal sebagai *GPR49*, adalah anggota keluarga protein *G-Protein-Coupled Receptor (GPCR)* dan merupakan target pensinyalan Wnt. *LGR-5* merupakan suatu molekul sinyal permukaan yang memiliki tujuh protein transmembran yang bekerja pada jalur sinyal Wnt. Jalur sinyal Wnt diatur fungsinya oleh gen *Adenomatous Polyposis Coli (APC)* yang merupakan gen supresi tumor. Gen *APC* merupakan jalur selular yang penting dalam proses perkembangan tumor. Kehilangan fungsi *APC* akan menyebabkan gangguan jalur sinyal Wnt. Keadaan tersebut akhirnya menyebabkan pertumbuhan terus menerus. (Dharmayanti, S. dkk., 2019).

Leucine-rich repeat-contains G-protein-coupled Receptor-5 (LGR-5) sekarang memiliki ligan yang mapan di *R-Spondin (RSPO)*, yang ketika terikat, bertindak bekerja sama dengan reseptor Wnt (*Frizzled* dan *LRP5 / 6*) untuk

menginduksi pensinyalan *Wnt* / β -catenin. *LGR-5* / *RSPO* kompleks mampu mempromosikan pensinyalan *Wnt* melalui netralisasi dua ligase E3 transmembran, *RNF43* dan *ZNRF3*. Enzim ini adalah target *Wnt* yang menghilangkan reseptor *Wnt* dari permukaan sel, sehingga berfungsi sebagai bagian dari umpan balik negatif untuk mengatur keluaran pensinyalan *Wnt*. (de Lau W, dkk, 2011)

Setelah diaktifkan, protein *LGR-5* merekrut kompleks reseptor *LRP*, yang berikatan dengan ligan *Wnt*, memperkuat pensinyalan *Wnt* mengikuti fosforilasi *LRP5* / 6. Serangkaian langkah terjadi, termasuk akumulasi β -catenin, yang ditranslokasi ke nukleus, menginduksi kadar berbagai gen target *Wnt* (seperti *C-myc*, *Cyclin D1*, *LGR-5*) setelah mengikat bersama dengan keluarga *TCF* / *LEF* faktor transkripsi, yang menyebabkan perkembangan tumor melalui stimulasi proliferasi sel, *epitel-mesenkim-transisi (EMT)*, dan pemeliharaan sel punca kanker (CSC). (Leushacke M, dkk., 2012)

2.2.3. Kadar *Leucine-rich, repeat-containing, G-protein-coupled Receptor 5*

(*LGR-5*) pada adenokarsinoma kolorektal

LGR-5 dilaporkan berlebih pada adenoma kolorektal manusia dan kanker, serta pada tumor padat lainnya seperti karsinoma hepatoseluler, karsinoma sel basal, dan neuroblastoma. Subpopulasi sel *LGR-5* ditemukan sebagai fraksi klonogenik *in vitro* dan populasi tumorigenik *in vivo* dari kedua jalur sel kanker kolorektal (KKR) dan tumor kolorektal primer. Baru-baru ini, ditunjukkan bahwa ablasi sel *LGR-5* selektif mengakibatkan penghambatan pertumbuhan tumor primer atau regresi tumor, dan bahwa sel *LGR-5* penting dalam pembentukan dan pemeliharaan metastasis hati KKR. Hasil ini

menunjukkan bahwa sel kanker usus besar *LGR-5* berfungsi sebagai sel punca kanker (CSC) dalam jaringan kanker yang sedang tumbuh; pengetahuan ini dapat menawarkan kesempatan terapeutik untuk mengelola KKR primer dan metastatik. (Jang BG, dkk 2018)

LGR-5 dapat menggunakan beberapa fungsi atau bahkan fungsi yang berbeda di antara jenis kanker yang berbeda. Hasil yang tidak sesuai dari laporan tentang efek kadar *LGR-5* dalam perkembangan tumor telah disajikan dalam literatur. Dalam banyak penelitian, kadar *LGR-5* telah dikaitkan dengan prognosis buruk pada kanker kolorektal (KKR), dan beberapa meta-analisis menyimpulkan bahwa *LGR-5* merupakan faktor prognostik yang tidak diinginkan pada penderita KKR. Namun, penelitian ini menggunakan analisis imunohistokimia untuk mengevaluasi kadar *LGR-5* dan diketahui bahwa tidak ada antibodi yang secara khusus menandai sel *LGR-5* di ceruk sel induk usus, sehingga menimbulkan keraguan besar pada keakuratan hasil ini. Sebaliknya, *RNA In Situ Hybridization (ISH)* dengan jelas menunjukkan sel *LGR-5* pada basis kript dan telah diakui sebagai metode yang paling dapat diandalkan untuk mendeteksi *LGR-5* pada jaringan *Formalin-Fixed, Paraffin Embedded (FFPE)* yang diperoleh dari penderita KKR. (Gzil, A., dkk 2020).

Ziskin dkk menggunakan *ISH* untuk mengeksplorasi nilai prognostik *LGR-5* dalam rangkaian KKR skala besar dan menunjukkan bahwa *LGR-5* tidak terkait dengan hasil klinis yang buruk. Kim dkk juga menjelaskan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik dalam hubungan antara kadar *LGR-5* dengan faktor klinikopatologi. (Kim Y. dkk, 2018)

Dalam penelitian yang dilakukan SongWu, dkk, *LGR-5* secara berlebihan di sebagian besar kanker kolorektal (*KKR*) (56,3%) dibandingkan dengan mukosa normal distal (25%). Peningkatan kadar *LGR-5* secara signifikan berkorelasi dengan kedalaman invasi, metastasis kelenjar getah bening, dan metastasis jauh. Hasil ini menunjukkan bahwa tingkat kadar reseptor *LGR-5* yang tinggi biasanya berkorelasi dengan tumor yang lebih ganas dan metastasis. Selain itu, *LGR-5* terlihat lebih sering pada kanker kolorektal lanjut. Kadar positif *LGR-5* ditemukan pada 83,1% (54/65) jaringan kanker stadium III dan 100% (10/10) jaringan kanker stadium IV. Hasil ini menunjukkan bahwa *LGR-5* dapat berperan penting dalam pengembangan dan perkembangan tumor. Ini menunjukkan bahwa *LGR-5* dekat kaitannya dengan prognosis buruk dari karsinoma kolorektal. Dalam penelitian yang sama, kadar *LGR-5* berkorelasi dengan kelangsungan hidup yang buruk dari kanker kolorektal, yang menunjukkan bahwa sel *LGR-5* positif bisa jadi mengandung lebih banyak *CSC* (Wu, dkk., 2012).

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Ihemelandu dkk, dilakukan untuk menganalisis tingkat signifikan patologi klinis dan prognosis dari kadar *LGR-5* pada penderita *KKR*. Hasil yang didapatkan adalah *LGR-5* mengalami kadar yang berlebih pada penderita *KKR* dibandingkan dengan jaringan kolon non-kanker dan jaringan kolon kanker, yang kemudian membuat *LGR-5* menjadi kandidat yang menjanjikan dalam pemberian terapi dan diagnosis pada penderita. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kadar *LGR-5* lebih tinggi pada *KKR* dibandingkan mukosa normal. *LGR-5* adalah biomarker prognosis independen untuk *outcome* penderita yang lebih baik dan dapat

digunakan sebagai target terapeutik potensial pada KKR. LGR-5 merupakan target protein tumor, dengan lokalisasinya pada membran sel, regulasinya yang menyebar melalui jaringan KKR dan pada mayoritas penderita KKR membuatnya menjadi agen teranostik ideal untuk perawatan CRC. (Ihemelandu, 2019)

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Zheng dkk (2018) menunjukkan kadar LGR-5 secara signifikan berhubungan dengan stadium kanker, dan ikut berperan dalam perkembangan kanker. (Zheng, 2018)

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Shekarriz dkk menunjukkan kadar LGR-5 yang berbeda-beda berdasarkan penemuan patologis. Kadar LGR-5 yang diamati pada sampel tumoral lebih tinggi dibandingkan pada jaringan normal ($P < 0,001$). Tidak ada perbedaan statistik lainnya antara kategori kadar dan penemuan klinikopatologis. Didapatkan tujuh penderita yang meninggal dikarenakan KKR dan keseluruhannya berada pada kelompok dengan kadar LGR-5 yang tinggi ($P = 0,121$). (Shekarriz, 2019)

Tabel 5. Kadar LGR-5 dan hubungannya dengan data klinikopatologis

Variabel	Kadar LGR-5 tinggi (Jumlah skor IHC ≥ 4)	Kadar LGR-5 rendah (Jumlah skor IHC < 4)	<i>P-value</i>
Sampel n (%)			
CRC	31 (73,8%)	9 (23,7%)	$P < 0,001$
Jaringan normal	11 (26,6%)	29 (76,3%)	
Penderita, n (%)			
Pria	17 (54,48%)	4 (44,5%)	0,71
Wanita	14 (45,2%)	5 (55,5%)	
Grading tumor, n (%)			
Diferensiasi baik	28 (90,3%)	8 (88,9%)	
Diferensiasi sedang	2 (6,5%)	0 (0%)	0,66
Diferensiasi buruk	1 (3,2%)	1 (11,1%)	
Invasi perineural dan vascular, n (%)	4 (12,9%)	1 (11,1%)	1
N, n (%)			
N0	19 (61,3%)	5 (55,5%)	0,68
N1, N2	8 (25,8%)	3 (33,5%)	
T, n (%)			
T1, T2	4 (12,9%)	1 (11,1%)	1
T3	27 (87,1%)	8 (88,9%)	
Stadium, n (%)			
Stadium I	3 (9,7%)	1 (11,1%)	
Stadium II	14 (45,16%)	4 (44,5%)	0,37
Stadium III	4 (12,9%)	3 (33,3%)	
Stadium IV	6 (19,35%)	0 (0%)	
Metastasis jauh	6 (19,35%)	0 (0%)	0,30

Sebagai kesimpulan didapatkan kadar LGR-5 yang berlebih pada jaringan KKR dan dampaknya pada kelangsungan hidup namun tidak memiliki kaitan dengan jenis kelamin dan data patologis. (Shekarriz, 2019).

Suatu studi yang dilakukan pada 1133 penderita yang menjalani reseksi di *Seoul National University Hospital* (Seoul, Republik Korea) oleh Jang dkk menunjukkan LGR-5 adalah penanda prognostik independen untuk *outcome* klinis yang lebih baik pada KKR. Peningkatan kadar LGR-5 menetap sepanjang transisi adenoma- karsinoma. (Jang, 2018)

Namun, pada studi yang dilaksanakan oleh Nagata dkk, mengenai penanda sel punca sebagai prediksi untuk rekurensi pasca operasi menunjukkan adanya hubungan antara kadar LGR-5 yang negatif dengan risiko tinggi rekurensi peritoneal. Tetapi pada studi ini juga ditemukan bahwa LGR-5 turut berperan dalam tumorigenesis. (Nagata, 2019)

Invasi vaskular, metastasis limfonodus, dan stadium TNM dihubungkan dengan peningkatan kadar LGR-5, dan penderita dengan LGR-5 yang rendah memiliki angka keberlangsungan hidup yang lebih tinggi. Telah dilakukan berbagai macam studi telah mengenai peran sel punca kanker dalam resistensi obat. Pada kenyataannya, kemampuan permanen sel punca kanker dalam memperbaiki genom yang rusak dan sifat memperbaharui diri turut bertanggung jawab dalam berkembangnya resistensi terhadap kemo-radioterapi. Kadar LGR-5 yang berlebih tidak hanya dihubungkan dengan kemoresistensi namun juga dengan metastasis dan stadium kanker. (Shekariz, 2019)

Dua meta-analisis, yang pertama oleh *Chen dkk* (mencakup 7 penelitian, 1883 penderita) dan yang kedua oleh *Jiang dkk* (mencakup 12 penelitian, 2600 penderita), menunjukkan hubungan kadar LGR-5 dengan tingkat keberlangsungan hidup secara keseluruhan/*overall survival* (OS) dan keberlangsungan hidup tanpa penyakit (*DFS*) yang lebih pendek. (Morgan, 2018)

Sebuah tinjauan sistematis dan meta-analisis atas 7 studi (4 dari China, 2 dari Jepang, 1 dari AS) mengenai hubungan antara LGR-5 dan keberlangsungan hidup KKR, melaporkan hubungan antara kadar LGR-5 yang lebih tinggi dan OS yang lebih rendah. Ini diamati pada OS di Asia dan bukan di

AS. Ditemukan bahwa penderita dengan kadar LGR-5 yang lebih tinggi memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih pendek dari pada kelompok dengan kadar yang lebih rendah, bagaimanapun, tren ini tidak mencapai statistik yang signifikan yang mungkin diakibatkan oleh ukuran sampel. (Shekariz,2019)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ihemelandu dkk, pada setiap stadium KKR, didapatkan lebih banyak penderita dengan kadar LGR-5 yang lebih tinggi dibandingkan kadar LGR yang lebih rendah, seperti yang ditampilkan pada Tabel 6. Kadar rata-rata LGR-5 didapatkan lebih tinggi pada stadium awal I dan II dibandingkan pada kriptenormal dan lebih rendah pada stadium III dan IV dibandingkan dengan stadium I dan II. Zhou dkk, menyebutkan sebuah teori di mana hasil yang menunjukkan kadar LGR-5 yang menurun pada stadium lanjut dibandingkan stadium awal, mengindikasikan kemungkinan adanya seleksi aktif kadar LGR-5 pada perkembangan KKR, atau fenomena ini menunjukkan asal tumor yang diturunkan oleh ekspansi klonal sel punca positif-LGR-5. (Ihemelandu, 2019)

Tabel 6. Hubungan kadar LGR-5 dan stadium KKR (Ihemelandu, 2019)

Stadium menurut AJC	LGR-5 (tinggi) (n=35)	LGR-5 (rendah) (n=25)	<i>p-value</i>
Stadium 1	1 (2,9%)	4 (16,0%)	0,177
Stadium 2	11 (31,9%)	5 (20,0%)	
Stadium 3	8 (22,9%)	3 (12,0%)	
Stadium 4	15 (42,9%)	13 (52,0%)	

Sistem grading histologi dari *WHO* untuk KKR didasarkan pada proporsi tumor dengan pembentukan kelenjar seperti kripte dan kemiripan strukturnya dengan kripte normal. (Martin, 2018)

Grading karsinoma kolorektal dapat dibagi menjadi tiga, yakni diferensiasi baik, diferensiasi sedang, dan diferensiasi buruk dengan beragam pembentukan kelenjar. Sekitar 10% dari KKR yang terdiagnosis termasuk dalam diferensiasi baik, 70% diferensiasi sedang, dan 20% diferensiasi buruk. Sedangkan untuk pembentukan kelenjar, didapatkan pada 95% diferensiasi baik, 50-95% diferensiasi sedang, dan <70% diferensiasi buruk. (Fadaka, 2019)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ithemelandu dkk, pada setiap stadium KKR, didapatkan lebih banyak penderita dengan kadar LGR-5 yang lebih tinggi dibandingkan kadar LGR-5 yang lebih rendah, seperti yang ditampilkan pada tabel 7. (Ithemelandu, 2019)

Tabel 7. Hubungan kadar LGR-5 dan grading histopatologi pada KKR (Ithemelandu, 2019)

Grading Histopatologi	LGR-5 (tinggi) (n=35)	LGR-5 (rendah) (n=25)	<i>p-value</i>
Diferensiasi baik	7 (25,0%)	6 (24,0%)	0,346
Diferensiasi sedang	20 (71,4%)	12 (48,0%)	
Diferensiasi buruk	1 (3,6%)	3 (12,0%)	

Diagnosis kanker kolorektal dapat ditegakkan dari pemeriksaan penderita yang datang dengan gejala, atau dari hasil skrining. Penyakit ini dapat dihubungkan dengan berbagai macam gejala, seperti darah pada tinja, perubahan pola BAB dan nyeri abdomen. Gejala lainnya termasuk kelelahan, gejala anemia seperti penampilaan0 pucat, serta kehilangan berat badan.

Nilai prediksi atas gejala-gejala ini terbatas pada penderita usia lanjut, namun memerlukan evaluasi klinis yang lebih lanjut. Dengan dikenalnya skrining populasi pada KKR, banyak individu yang didiagnosa pada stadium pre klinis. Pada penderita bergejala, kolonoskopi adalah metode yang dianjurkan, tetapi beberapa metode lainnya sedang dikembangkan. Untuk skrining populasi, beberapa metode lainnya dapat digunakan untuk penilaian awal, yang diikuti dengan kolonoskopi untuk kasus positif. Deteksi molekular pada KKR menawarkan uji non-invasif yang menguntungkan penderita dan klinisi di mana sampel dari beberapa penderita dapat langsung dianalisa secara bersamaan. (Kuipers, 2016)

Kolonoskopi adalah *gold-standard* untuk diagnosis KKR karena memiliki tingkat akurasi diagnostik yang tinggi dan dapat mengakses lokasi tumor. Poin penting pada kolonoskopi adalah dengan dilakukannya teknik ini, secara bersamaan dapat dilakukan pengambilan sampel biopsi sehingga dapat segera dilakukan konfirmasi diagnosis histologik dan bahan untuk profil molekuler. Kolonoskopi juga sebagai satu-satunya teknik skrining yang juga berfungsi sebagai alat diagnostik dan terapeutik. Pengangkatan adenoma menggunakan polipektomi endoskopi dapat mengurangi angka kejadian kanker dan kematian. Kemanjuran kolonoskopi dalam mengurangi angka kejadian dan kematian akibat KKR juga dibuktikan oleh Studi Polip Nasional AS. Studi terbaru tentang *follow up* data selama 20 tahun menunjukkan berkurangnya angka kematian akibat KKR sebesar 53%. Kualitas kolonoskopi sebagai faktor penentu dalam bidang diagnostik kanker dan adenoma, yang menjadi cara terkini untuk menghindari interval kanker (tumor yang semakin berkembang) untuk skrining. (Kuipers, 2016)

Kapsul endoskopi adalah pemeriksaan yang menggunakan alat *wireless* berbentuk kapsul yang ditelan oleh penderita, dan memungkinkan pemeriksaan pada hampir seluruh traktus gastrointestinal tanpa penggunaan endoskopi konvensional. Kapsul endoskopi sangat berguna dalam mendiagnosis adenoma dan KKR. Kapsul endoskopi generasi pertama mampu mendeteksi polip dengan ukuran $\geq 6\text{mm}$ dengan sensitivitas hingga 60% dan spesifitas $>80\%$. Deteksi kanker didapatkan pada 74% penderita dengan KKR. Dengan berkembangnya kapsul endoskopi generasi kedua untuk kolon, kecepatan bingkai meningkat dari empat gambar per detik menjadi 4 hingga 35 gambar per detik tergantung pergerakan kapsul. Sebuah uji coba besar dilakukan di AS dan Israel yang menilai tingkat akurasi kapsul ini dalam mendiagnosis neoplasia kolorektal. Sebanyak 884 penderita inklusi, sensitivitas yang didapatkan sebesar 88% dan spesifitas sebesar 82% dalam mendeteksi adenoma berukuran $>6\text{mm}$. (Kuipers, 2016)

CT-kolonografi menggunakan pemindaian CT dosis rendah untuk mendapatkan gambaran interior kolon. Teknik ini adalah modalitas diagnostik yang kuat untuk KKR. Dalam sebuah tinjauan sistematis dan meta-analisis pada >11.000 orang dari 49 titik menunjukkan CT-kolonografi memiliki sensitivitas sebesar 96% untuk deteksi KKR. Namun memiliki sensitivitas yang rendah untuk lesi yang kecil dan datar (6-9mm). Pemeriksaan ini membutuhkan persiapan usus yang kompleks di mana usus harus benar-benar kosong, inflasi udara dan perubahan posisi penderita sepanjang pemeriksaan. (Kuipers, 2016)

Deteksi molekular untuk KKR menawarkan uji non invasif menguntungkan penderita dan klinisi di mana sampel dari beberapa penderita dapat langsung dianalisa secara bersamaan. Penanda molekular yang ideal seharusnya mampu membedakan antara kanker dan adenoma lanjut dari lesi lainnya, terus dilepaskan ke lumen atau sirkulasi usus, dan menghilang atau berkurang setelah lesi diberi pengobatan atau diangkat. (Kuipers, 2016)

Bukti yang didapatkan menunjukkan suatu subpopulasi sel punca kanker atau sel yang menginisiasi tumor, memberikan karakteristik sel punca yang mempengaruhi pembentukan tumor. Sel-sel ini ikut andil dalam ciri tertentu, termasuk pembaharuan sel, potensi diferensiasi, resistensi terhadap kemoterapi, dan tumorigenitas yang tinggi. Sel punca kanker juga telah diidentifikasi pada kanker kolorekal oleh kadar penanda permukaan spesifik, di antaranya seperti LGR-5, CD133, CD44, CD166, EpCAM (molekul adhesi sel epitel), CD24, CD29, dan *Aldehid Dehydrogenase* (ALDH). Selanjutnya didapatkan lebih banyak bukti yang menunjukkan LGR-5 sangat menjanjikan sebagai biomarker untuk KKR dan ikut terlibat dalam jalur Wnt/ β -katenin, yang memegang peran penting dalam mempertahankan pembaharuan sel punca kanker dan kemampuan tumorigenik. Oleh karena itu, LGR-5 dapat menjadi biomarker penting untuk mengidentifikasi dan mengisolasi sel punca KKR pada manusia sepanjang progres kanker. (Leng, 2018)

Dalam beberapa tahun terakhir, studi menunjukkan LGR-5 mengalami kadar yang berlebih pada jenis tumor tertentu, termasuk KKR. Suatu penelitian yang dilakukan oleh Leng et. al pada tikus menunjukkan LGR-5 dapat menjadi penanda baik pada sel punca kolon yang normal dan sel punca kanker kolon. (Leng, 2018)

Terkadang pertumbuhan sel abnormal, yang disebut polip, terbentuk di kolon atau rectum. Seiring berjalannya waktu, beberapa polip dapat berkembang menjadi kanker. (CDC, 2020) Hubungan antara kadar LGR-5 dan status limfonodus serta metastasis pada KKR diteliti oleh Ithemelandu dkk ditampilkan pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 8. Hubungan kadar LGR-5 dan status limfonodus pada KKR

(Ithemelandu, 2019)

Status Limfonodus	LGR-5 (tinggi) (n=35)	LGR-5 (rendah) (n=25)	<i>p-value</i>
Negatif	18 (51,4%)	13 (52,0%)	0,821
Positif	17 (48,6%)	12 (48,0%)	

Tabel 9. Hubungan kadar LGR-5 dan metastasis pada KKR (Ithemelandu, 2019)

Metastasis	LGR-5 (tinggi) (n=35)	LGR-5 (rendah) (n=25)	<i>p-value</i>
Primer	16 (47,1%)	11 (44,0%)	0,965
Metastasis	19 (54,3%)	14 (56,0%)	

Skrining KKR dimulai dengan mengelompokkan individu berdasarkan usia, serta riwayat medis pribadi dan keluarga. Informasi penting ini membantu dalam menentukan kapan skrining harus dimulai, apa tes yang cocok untuk dilakukan, dan frekuensi pemeriksaan selanjutnya. Risiko KKR umumnya dikelompokkan menjadi tiga kategori besar: risiko rata-rata, risiko sedang, dan risiko tinggi. Risiko rata-rata didefinisikan sebagai individu yang asimtomatik tanpa adanya riwayat polip atau KKR pada pribadi atau keluarga. Oleh karena usia disebutkan sebagai faktor risiko terkuat dalam perkembangan KKR dan polip adenomatosa, pria dan wanita dengan risiko rata-rata harus memulai

skrining pada usia 50 tahun. Pemeriksaan yang tersedia untuk kategori risiko rata-rata dibagi menjadi dua: (1) pemeriksaan yang hanya mendeteksi KKR (pemeriksaan feses dan pemeriksaan DNA feses), dan (2) pemeriksaan yang mendeteksi polip adenomatosa prekanker (sigmoidoskopi fleksibel (FS), kolonoskopi, dan modalitas pencitraan seperti *Double Contrast Barieum Enema* (DCBE) dan *Computed Tomography Colonography* (CTC)). (Greenberger, 2016).

Risiko sedang didefinisikan sebagai individu yang memiliki riwayat pribadi atau keluarga dengan polip atau KKR. Untuk penderita ini, kolonoskopi adalah metode skrining yang disarankan. Modalitas skrining konvensional lainnya tidak disarankan pada keadaan ini. (Greenberger, 2016)

Risiko tinggi didefinisikan sebagai individu dengan sindrom KKR hereditas, seperti *Familial Adenomatosa Polyposis* (FAP) atau syndrome Lynch (juga dikenal sebagai KKR nonpoliposis hereditas atau HNPCC), yang membutuhkan konseling genetik dan protokol skrining khusus. (Greenberger, 2016)