

DISERTASI

**PERAN EKSPRESI GEN *THYMIDILATE SYNTHASE (TS)*,
DIHIDROPYRIMIDIN DEHYDROGENASE (DPD) DAN
METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR)
SEBAGAI PREDIKTOR RESPON KEMOTERAPI 5FU PADA
KARSINOMA KOLOREKTAL**

***THE ROLE OF mRNA EXPRESSION OF THYMIDILATE
SYNTHASE (TS), DIHIDROPYRIMIDIN DEHYDROGENASE (DPD)
AND METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR)
AS PREDICTORS OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY
RESPONSE OF 5FU REGIMEN IN ADVANCED COLORECTAL
CANCER***



Oleh :

ELVIDA CHRISTI IMELDA TAHIYA

C013201007

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2024



DISERTASI

PERAN EKSPRESI GEN THYMIDILATE SYNTHASE (TS), DIHIDROPYRIMIDIN DEHYDROGENASE (DPD) DAN METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) SEBAGAI PREDIKTOR RESPON KEMOTERAPI 5FU PADA KARSINOMA KOLOREKTAL

THE ROLE OF THYMIDYLATE SYNTHASE (TS), DIHYDROPYRIMIDINE DEHYDROGENASE (DPD) AND METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) GENE EXPRESSION AS PREDICTOR OF 5FU CHEMOTHERAPY RESPONSE IN COLORECTAL CARCINOMA

Disusun dan diajukan oleh

ELVIDA CHRISTI IMELDA TAHIYA
C013201014

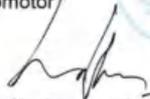
Telah dipertahankan di hadapan Tim Pembimbing dan Penguji Ujian Promosi Doktor dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 28 Maret 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui
Promotor,



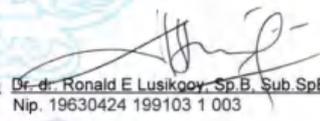
Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS, FICS
Nip. 195510191982031001

Co Promotor



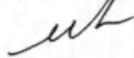
Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K)
Nip. 195704161985031001

Co Promotor



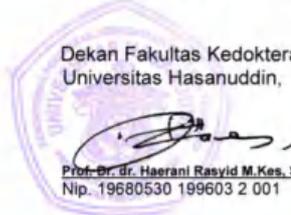
Dr. dr. Ronald E Lusikoooy, Sp.B, Sub. SpBD(K)
Nip. 19630424 199103 1 003

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip. 19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,



Prof. Dr. dr. Haeran! Rasyd M.Kes, SpGK, Sp.PD-KGH, FINASIM
Nip. 19680530 199603 2 001



PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Elvida Christi Imelda Tahiya
NIM : C013201007
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

PERAN EKSPRESI GEN THYMIDILATE SYNTHASE (TS), DIHIDROPYRIMIDIN DEHYDROGENASE (DPD) DAN METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) SEBAGAI PREDIKTOR RESPON KEMOTERAPI 5FU PADA KARSINOMA KOLOREKTAL

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, 28 Maret 2024

Yang Menyatakan,



Elvida Christi Imelda Tahiya



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Penulisan hasil penelitian ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Doktor Ilmu Kedokteran Pendidikan Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin. Kami menyadari bahwa disertasi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari pihak lain, baik berupa bantuan moril maupun materiil. Untuk itu kami menyampaikan terima kasih yang tulus dan sedalam-dalamnya kepada Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), FICS sebagai Promotor dan Co Promotor Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) dan Dr. dr. Ronald Lusikooy, Sp.B-KBD selaku pembimbing penelitian yang telah memberikan dorongan dan semangat sejak penyusunan konsep, pelaksanaan hingga penyelesaian disertasi ini.

Terima kasih yang tak terhingga juga kami sampaikan kepada Dr. dr. Reno Rudiman, M.Sc., Sp.B-KBD, Dr. dr. I Ketut Widiana, Sp.B (K) Onk, dan Prof. Dr. dr. Prihantono, Sp.B (K) Onk, M.Kes, Prof. dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK (K) , Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes, sebagai anggota tim penguji yang telah membimbing kami selama penyusunan disertasi ini.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :



Rektor Universitas Pattimura, Pimpinan Fakultas Kedokteran UNPATTI
serta Ketua Program Pendidikan S3 Ilmu Kedokteran UNHAS yang

telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti pendidikan S3 Ilmu Kedokteran.

2. Direktur RSUP UNHAS, Kepala Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar atas segala bantuan yang telah diberikan selama melakukan penelitian.
3. Prodi Bedah, Subdivisi Bedah Digestif, Universitas Hasanudin, Makassar atas bantuan dalam pengambilan sampel penelitian.
4. dr. Mulkyawan Bahrn, SpB-KBD dan dr. Andi Faradillah, SpGK atas bantuannya dalam pengambilan sampel penelitian dan perhitungan statistic.
5. Pak Romi yang banyak membantu dalam mengelola sampel di Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.
6. Pa Akmal, Pa Mumu dan Pa Rachmat yang selalu membantu saya selama masa pendidikan sampai menyelesaikan disertasi ini.
7. Kedua Kakak terbaikku, (alm) Dr. dr. Andi Ihwan, Sp.BS dan Dr. dr. Ira Sachraswaty, Sp.B, Sp.BP-RE (K) yang selalu menyemangati dan mensupport saya dari mulai Pendidikan hingga selesainya.
8. Bunda Fifi Madjid, serta adik-adik residen Bedah dan Bedah Saraf yang selalu membantu dan mensupport dengan segala ketulusan.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan disertasi ini yang tidak sempat kami sebutkan satu persatu.



ada saat yang berbahagia ini penulis mengucapkan terima kasih dan aan yang sebesar-besarnya kepada suami tercinta Kopol dr. Fendri

Adi Prabowo, Sp. THT-KL, M.Biomed, dan anakku tersayang Eldrienne Cheryelle Putri Prabowo yang selalu membantu, mensupport dan menopang dalam Pendidikan. Ayahanda Alm. Purn. Kopol Frans Tahiya dan Ibunda Sumarni Philippus yang telah memberikan semangat, dorongan, motivasi dan doa serta kasih sayang yang begitu berarti serta bermanfaat selama penulis mengikuti pendidikan sampai selesainya penulisan disertasi ini.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini mempunyai keterbatasan dan kekurangan oleh karenanya saran dan kritik yang bertujuan untuk menyempurnakannya penulis terima dengan segala kerendahan hati.

Akhirnya penulis mohon maaf sebesar-besarnya atas segala kesalahan yang telah penulis perbuat baik di sengaja maupun tanpa disengaja kepada semua pihak, selama penulis mengikuti pendidikan ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Kuasa senantiasa melimpahkan rahmat dan berkat-Nya serta membalas budi baik mereka yang telah mendidik dan mengajarkan kebaikan kepada penulis.

Makassar, Maret 2024

Elvida Christi Imelda Tahiya



ABSTRAK

ELVIDA. *Peran Ekspresi Gen TS, DPD, dan MTHFR sebagai Prediktor Kemoterapi 5FU pada Karsinoma Kolorektal* (dibimbing oleh Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta, dan Ronald Lusikooy).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekspresi mRNA gen TS, DPD, dan MTHFR terhadap respons klinis dengan kemoterapi regimen 5FU. Kemoterapi merupakan komponen yang sangat penting dalam penanganan kanker kolorektal. Di samping keberhasilannya menginduksi kematian sel tumor, kemoterapi mempunyai keterbatasan akibat kemoresistensi dan efek samping yang merugikan. Prediktif *marker* dibutuhkan agar kemoterapi dapat diberikan kepada pasien yang tepat. Penelitian ini menggunakan metode observasional dengan desain uji prognostik. Pengukuran massa tumor dan pengambilan sampel jaringan dan pemeriksaan CEA dilakukan sebelum kemoterapi dimulai. Dilakukan CT *scan* prekemoterapi untuk pengukuran besar tumor dan diulang setelah pemberian kemoterapi. Pengukuran dilakukan setelah pemberian kemoterapi siklus ke-2 dengan jeda waktu tiga minggu dan dilakukan lagi setelah kemoterapi empat siklus. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa nilai *mean* ekspresi mRNA TS ($9,020 \pm 0,927$) berkorelasi tidak signifikan terhadap respons tumor $p=0,195$ ($p > 0,05$). Nilai *mean* ekspresi mRNA gen DPD ($7,461 \pm 1,088$) berkorelasi signifikan terhadap respons klinis $p=0,003$ ($p < 0,05$).

Kata kunci: gen TS, DPD, MTHFR, 5FU, KKR



ABSTRACT

ELVIDA. *The Role of mRNA Expression of TS, DPD and MTHFR gene as Predictors of response to neoadjuvant chemotherapy regimen of 5FU as Chemotherapy Predictor 5FU in Colorectal Cancer* (supervised by Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta and Ronald Lusikooy)

The research aims to investigate the correlation expression of mRNA TS, DPD, MTHFR gene towards the tumour response and CEA response of 5FU chemotherapy regimen. The chemotherapy is important component in the treatment of the colorectal cancer. Besides its success induces the tumour cell death, the chemotherapy has been constrained by the chemoresistant and adverse side effects. The predictive marker is needed for the chemotherapy to be given to the right patients. The research used the observational method with the prognostic test design. The measurement of the tumour mass and tissue sampling was conducted prior to the chemotherapy begins, and CT scan pre-chemotherapy is used to measure the tumour size and after 2 cycles the administration of chemotherapy with a lag time of 3 weeks, and it is repeated after 4 cycles. The research result indicates that the mean value of mRNA expression of TS gene ($9,555 \pm 1,693$) has the insignificant correlation with the clinical response $p=0,195$ ($p > 0,05$). The mean value of mRNA expression of DPD gene ($7,461 \pm 1,088$) has the significant correlation with the clinical response $p=0,003$ ($p=0.003$).

Key words: gen TS, DPD dan MTHFR, 5FU, KKR



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR GRAFIK	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Rumusan Masalah	6
I.3. Tujuan Penelitian	6
I.5. Manfaat Penelitian	7
BAB I. TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1. Kanker Kolorektal (KKR)	9
a. Definisi.....	9
b. Biologi Molekuler Kanker saluran cerna	10
c. Diagnosis & Patologi	12
d. Staging & Penilaian Risiko	13
e. Manifestasi Klinis	17
f. Terapi	17
II.2. Mekanisme Kerja 5-FU & Metabolisme Pirimidine	20
II.3. Carcinoembryonic Antigen (CEA).....	22
II.4. Capecitabine	24
Respon Kanker Kolorektal berdasarkan Tumor Marker CEA setelah Pemberian Obat Terapi Capecitabin.....	



II.6. Hubungan ekspresi TS dengan Respon Kemoterapi 5-FU	28
II.7. Hubungan ekspresi DPD dengan Respon Kemoterapi 5-FU	30
II.8. Hubungan ekspresi MTHFR dengan Respon Kemoterapi 5-FU	32
II.9. Kerangka Teori	34
II.10. Kerangka Konsep	36
II.11. Hipotesis	37
BAB III. METODE PENELITIAN	38
III.1. Rancangan Penelitian	38
III.2. Tempat dan Waktu Penelitian	38
III.3. Populasi dan Teknik Sampel	38
III.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	40
III.5. Definisi Operasional	40
III.6. Kriteria Objektif.....	42
III.7. Cara Kerja	43
III.8. Ekstraksi RNA (Metode Boom)	45
III.9. Metode Pemeriksaan TS	46
III.10. Metode Pemeriksaan DPD	47
III.11. Metode Pemeriksaan MTHFR	48
III.12. Alur penelitian	49
III.13. Analisis Data	49
III.14. Aspek Etis	50
BAB IV. HASIL PENELITIAN	52
IV.1. Karakteristik Subjek Penelitian.....	52
IV.2. Chi-square test.....	55
IV.3. Perubahan Ukuran Tumor dan CEA Pasien Sebelum dan Setelah Kemoterapi serta Ekspresi Gen TS, Gen DPD dan Gen MTHFR.....	56
<i>Mann Withney U Test</i>	57



IV.5. Perbedaan Buomarker berdasarkan Respons Kemoterapi pada Karsinoma Kolorektal	59
IV.6. Analisis Korelasi	60
IV.7. Analisis Regresi Logistik	62
IV.8. Analisis Receiver Operating Characteristic (ROC)	63
BAB V. PEMBAHASAN	68
V.1. Pemilihan Desain Penelitian	68
V.2. Karakteristik Subjek Penelitian	68
V.3. Pengaruh mRNA gen TS terhadap Respon Kemoterapi KKR	73
V.4. Pengaruh mRNA gen DPD terhadap Respon Kemoterapi KKR	74
V.5. Pengaruh mRNA gen MTHFR terhadap Respon Kemoterapi KR	76
V.6. Keterbatasan Penelitian	78
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	77
VI.1. Kesimpulan	80
VI.2. Saran	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN	92



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan stadium klinik berdasarkan TNM (AJCC) dan Dukes Modifikasi Astler Coller	15
Tabel 2. Karakteristik Sampel Penderita Kanker Kolorektal yang Menjalani Kemoterapi	54
Tabel 3. Karakteristik Subyek Penelitian	55
Tabel 4. Perbedaan Karakteristik Demografi dan Ukuran Tumor.	52
Tabel 5. Perubahan Ukuran Tumor dan CEA sebelum dan Sesudah Kemoterapi	56
Tabel 6. Hasil Rata-Rata Selisih Variabel pada Kelompok Respon dan Tidak Respon	57
Tabel 7. Perbedaan Biomarker berdasarkan Respons Kemoterapi pada KKR	59
Tabel 8. Analisis Korelasi yang menunjukkan Besar Pengaruh mRNA Gen TS, Gen DPD, dan Gen MTHFR terhadap Δ Perubahan Ukuran Tumor	62
Tabel 9. Hasil Uji Analisis Chi-Square dari Hosmer dan Lameshow test	62
Tabel 10. <i>Cut of point</i> berdasarkan Sensitivitas dan Spesifisitas serta nilai <i>Area Under Curve</i> (AUC)	66
Tabel 11. Perbedaan Biomarker berdasarkan Respons Kemoterapi (perubahan ukuran tumor) pada KKR	67
Tabel 12. Perbedaan Biomarker berdasarkan Respons Kemoterapi (nilai CEA) pada KKR	67



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Alur Diagnosis Kanker Rectum	13
Gambar 2. Pembagian Derajat Keganasan KKR	16
Gambar 3. Mekanisme Kerja 5-FU dan Metabolisme Pyrimidin).....	21
Gambar 4. Perubahan Enzimatik Capecitabin menjadi 5FU	26



DAFTAR GRAFIK

- Grafik 1. Histogram Sebelum dan Setelah Kemoterapi untuk Ukuran Tumor dan CEA
57
- Grafik 2. Histogram Selisih Perbedaan Rata-Rata Kelompok Respon dan Tidak Respon.....
54
- Grafik 3. Grafik Selisih Perubahan Ukuran Tumor pada Kelompok Respon dan Tidak Respon
59
- Grafik 4. Box Plot Perbandingan Biomarker mRNA gen TS, Gen DPD dan Gen MTHFR berdasarkan Responsibilitas Subyek terhadap Kemoterapi
56
- Grafik 5. Grafik ROC mRNA Gen TS sebagai Prediktor Ukuran Tumor.....
64
- Grafik 6. Grafik ROC mRNA Gen DPD sebagai Prediktor Ukuran Tumor...
64
- Grafik 7. Grafik ROC mRNA Gen MTHFR sebagai Prediktor Ukuran Tumor
64



DAFTAR SINGKATAN

5-FU	: 5- Fluorourasil
ABC	: ATP-Binding Cassette
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ANSM	: Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé
DHFU	: <i>Dihydrofluorouracil</i>
DPD	: <i>Dihydropyrimidine Dehydrogenase</i>
DPWG	: The Dutch Pharmacogenetics Working Group
EMA	: European Medicines Agency
FdUDP	: <i>Fluorodeoxyuridine Diphosphate</i>
FdUMP	: <i>Fluorodeoxyuridine Monophosphate</i>
FdUTP	: <i>Fluorodeoxyuridine Triphosphate</i>
FUDP	: <i>Fluorouridine Diphosphate</i>
FUTP	: <i>Fluorouridine Triphosphate</i>
HAS	: Haute Autorité de Santé/
INCa	: Institut National Du Cancer
KKR	: Kanker Kolorektal
MDR1	: Multidrug Resistance 1
MSI	: Microsatellite Instability
MTHFR	: <i>Methylenetetrahydrofolate Reductase</i>
PBMC-DPD	: Peripheral Mononuclear Cells-DPD
PS	: Performance Status
RER	: Replication Error
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
TNM	: Tumor/Node/Metastasis
TS	: <i>Thymidylate Synthase</i>
	: Tumor Suppressor Gene



BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah

Kanker kolorektal (KKR) merupakan keganasan yang berasal dari jaringan usus besar, terdiri dari kolon yang merupakan bagian terpanjang dari usus besar dan/atau rektum sebagai bagian kecil terakhir dari usus besar sebelum anus (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2021). Kanker kolorektal dapat disebut kanker kolon atau kanker rektum saja tergantung dimana berawalnya lokasi kanker. Kanker kolon dan kanker rektum sering dijadikan satu dikarenakan memiliki beberapa ciri atau karakteristik yang sama. Umumnya kanker kolorektal dimulai karena adanya pertumbuhan lapisan dalam pada kolon atau rektum yang biasa disebut polip. Risiko mengalami kanker ini juga terkait dengan kebiasaan mengonsumsi makanan yang tidak sehat, merokok, penyakit radang usus, faktor genetik dan penuaan. Sekitar 90% dari pasien yang terdiagnosa kanker kolorektal berada pada usia diatas 50 tahun dengan rata - rata usia 64 tahun (Lubis *et al.*, 2015).

KKR adalah keganasan keempat yang paling sering terjadi pada pria dan ketiga yang paling sering terjadi pada wanita di seluruh dunia. Faktor risiko untuk karsinoma kolorektal termasuk obesitas, pola makan rendah serat, aktivitas fisik, dan merokok, dan karenanya pernah menjadi penyakit yang paling sering diamati di negara-negara maju yang populasinya biasanya menunjukkan faktor-faktor ini (Chao *et al.*, 2005). KKR memiliki insiden di seluruh dunia 1 juta



ahun dan merenggut nyawa setengah juta orang setiap tahun. Di Indonesia KKR asan yang sering terjadi baik pada pria dan wanita setelah kanker prostat dan

kanker payudara dengan persentase 11,5% dari jumlah penderita. Kekambuhan lokal setelah terapi dilaporkan mencapai 3-32% penderita. Beberapa faktor seperti letak tumor, penetrasi dinding usus, keterlibatan kelenjar limfe, perforasi rektum pada saat diseksi dan diferensiasi tumor diduga sebagai faktor yang mempengaruhi rekurensi lokal. Kanker kolorektal merupakan jenis kanker dengan jumlah kasus 1,8 per 100.000 penduduk dan jumlah ini semakin meningkat seiring dengan perubahan pola hidup penduduk Indonesia (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2021).

Kanker kolorektal familial (KKR familial) adalah KKR dengan riwayat anggota keluarga menderita KKR. Dari 100 keluarga secara statistik didapatkan 20 keluarga mempunyai riwayat anggota keluarga yang menderita kanker kolon. KKR ini tidak selalu terjadi pada usia muda serta tidak selalu terdapat pada satu pihak dari keluarga. Kelompok ini dikatakan sebagai keluarga dengan kecenderungan KKR dibandingkan keluarga pada umumnya. Sampai saat ini, KKR jenis ini belum dapat dihubungkan secara spesifik dengan mutasi gen tertentu. Juga terdapat bukti adanya risiko mutasi gen ini tidak otomatis menyebabkan KKR (Hemminki *et al.*, 2004; Ahsan *et al.*, 1998).

Diagnosis dan pengelolaan KKR telah dipengaruhi oleh penemuan dan validasi berbagai biomarker yang dirancang sebagai fasilitas untuk pengobatan penyakit. Baru-baru ini KKR telah diklasifikasi ulang berdasarkan analisis molekuler dari berbagai variasi gen dan protein yang dapat memisahkan jenis morfologi tumor ke dalam kategori molekuler. Pada waktu bersamaan, sejumlah gen tunggal dan protein baru sebagai prognostik dan prediktif, telah ditemukan yang dirancang untuk menggambarkan sensitivitas dan / atau resistensi terhadap terapi yang ada.



n juga telah dikembangkan untuk memprediksi risiko kekambuhan terhadap diet yang telah dioperasi (Jeffrey *et al.*, 2010).

Baru-baru ini, sejumlah biomarker yang diuji dengan berbagai metode telah diusulkan sebagai prediktor spesifik dari respons kemoterapi dan radioterapi. Penanda lain telah berhasil digunakan untuk memprediksi efek toksik dari terapi standar. Dalam ulasan ini, serangkaian penanda biomarker baru dipertimbangkan dan dibandingkan dengan penanda standar perawatan untuk potensi penggunaannya sebagai prediktor farmakogenomik dan farmakogenetik dari penyakit (Jass J, 2007; Ogino *et al.*, 2008).

Selama lebih dari lima dekade, 5-fluorouracil (5-FU) telah menjadi komponen penting dari banyak pengobatan standar dalam terapi multimodal kanker kolorektal (KKR). Ini berlaku untuk pengobatan penyakit lanjut dan sebagai terapi tambahan. Sayangnya, 5-FU menginduksi grade III–IV. Varian gen pada DPYD, MTHFR, dan TYMS memprediksi toksisitas terkait 5-FU, efek samping toksik pada 20 – 30% dan kematian terkait toksisitas pada 0,5% pasien. Banyak dari efek samping ini terjadi pada pasien yang pengaturan tambahan, pada pasien yang penyakitnya berpotensi sembuh setelah operasi (Kristensen *et al.*, 2010).

Reaksi obat yang merugikan kemoterapi berbasis 5-fluorouracil (5-FU) telah dilaporkan disebabkan, oleh varian genetik dari gen enzim *thymidylate synthase (TS; TYMS gene)*, *methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR gene)* dan *dihydropyrimidinedehydrogenase (DPD; DPYD)* yang terkait dengan obat. gen). Penelitian ini menyelidiki apakah varian genetik terpilih dari gen TYMS, MTHFR, dan DPYD memprediksi toksisitas awal terkait 5-FU. Prevalensi varian genetik ditentukan pada 122 pasien kanker kolorektal dan pada populasi referensi sebanyak 320 donor darah. Analisis sub kelompok terhadap 68 pasien kanker kolorektal dilakukan untuk menentukan hubungan antara varian gen terpilih yang terdeteksi dalam sel inti mono perifer dan

dalam siklus pertama atau kedua pengobatan berbasis 5-FU (Kristensen *et al.*,



Dari penelitian yang dilakukan di RSUP. H. Adam Malik tahun 2015 – 2017 oleh Pulungan didapati hasil tumor marker yang paling banyak terdeteksi adalah *Carcinoembryonic Antigen (CEA)* sebanyak 39 kasus (95,1%) pada pasien kanker kolorektal (Pulungan, 2019). Penanganan KKR meliputi chemotherapy dan operasi. Namun pada stadium lanjut, kemoterapi memegang peranan yang sangat penting. Pembedahan kuratif dicoba pada saat diagnosis untuk 75% pasien, tetapi hingga 50% dari semua pasien akan mengalami kekambuhan yang tidak dapat disembuhkan membuat tingkat kelangsungan hidup 5 tahunnya 50%. Selama 30 tahun, terapi ajuvan andalan adalah 5- fluorourasil (5-FU). Namun 5-FU ini mempunyai respon kemoterapi yang beragam masing masing individu. Dan sampai saat ini belum ada prediktor yang reliable yang digunakan untuk memprediksi respon kemoterapi berbasis 5FU ini (Dennis *et al.*, 2000).

Meskipun menjadi salah satu obat anti kanker tertua, *fluorouracil (FU)* masih banyak digunakan dalam kemoterapi kanker. Studi klinis menunjukkan bahwa rezim yang mengandung 5-FU memiliki efek menguntungkan pada kelangsungan hidup, kemudian kombinasi 5-FU dengan leucovorin (*LV, [6R,S]5-formyltetrahydrofolate*) terbukti lebih unggul daripada rezim 5-FU lainnya. Sumber variabilitas untuk sensitivitas FU pada pasien mungkin kompleks, meskipun kelebihan produksi *thymidylate synthase (TS)* adalah satu-satunya mekanisme resistensi yang diidentifikasi pada tumor dari pasien yang resisten terhadap FU (Ortega *et al.*, 2010; Walther *et al.*, 2009).

Thymidylate synthase adalah target penting untuk obat kemoterapi, seperti *5-fluorouracil (5-FU)* dan methotrexate. Ekspresi TS yang berlebihan terkait dengan resistensi terhadap obat kemoterapi yang ditargetkan. Saat ini tidak ada protokol untuk memilih pasien kanker yang obat sebelum pengobatan kemoterapi. Data menunjukkan bahwa genotip untuk



polimorfisme TS mungkin memiliki potensi untuk mengidentifikasi pasien yang lebih mungkin merespons kemoterapi berbasis 5-FU. (Lurje et al., 2009; Popat et al., 2004).

Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) adalah enzim katabolisme FU pertama dan yang membatasi kecepatan. Dengan demikian, aktivitas DPD dapat menjadi faktor potensial untuk mengendalikan responsivitas FU. Sebuah sel dari 19 garis sel tumor manusia, termasuk saluran pencernaan, sel kanker payudara dan kepala dan leher, diselidiki, baik aktivitas TS maupun DPD diukur secara paralel dengan responsivitas FU. Tak satu pun dari sel terpapar FU, dan dengan demikian mengekspresikan sensitivitas spontan terhadap FU. (Schmoll H., 2003; van Kuilenburg., 2004).

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) adalah enzim penting dalam metabolisme folat dan sitotoksitas 5-fluorouracil (5-FU). Telah dihipotesiskan bahwa penurunan aktivitas *methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)* dapat menyebabkan peningkatan intraseluler konsentrasi 5,10-MTHF dan meningkatkan sitotoksitas 5-FU. MTHFR adalah enzim penting dalam metabolisme folat yang mengkatalisis konversi ireversibel 5,10-MTHF menjadi 5-*metiltetrahidrofolat*, yang terakhir digunakan dalam sintesis metionin (dan akibatnya dalam metilasi DNA) dan yang pertama digunakan dalam sintesis nukleotida. MTHFR saja mungkin memiliki efek yang lemah pada toksisitas tetapi polimorfisme MTHFR berpotensi memprediksi toksisitas pada pasien yang diobati dengan 5-FU sebagai obat kemoterapi tunggal. (Zintzaras et al., 2009; Braun et al., 2009).

Fluorouracil atau *5-fluorourasil* merupakan agen kemoterapi, yang termasuk dalam golongan antimetabolit atau antineoplastik. Fluorouracil adalah regimen standar yang digunakan dalam



multipel, baik sebagai adjuvan dalam terapi kuratif maupun terapi paliatif untuk stasis.

Fluorouracil bekerja antagonis dengan timin terhadap aktivitas enzim *thymidylate synthase*, sehingga menghambat pembentukan DNA dari sel-sel kanker, dan diharapkan dapat membunuh sel-sel tersebut. Obat ini dapat digunakan untuk penanganan kanker payudara dan keganasan pada saluran pencernaan, seperti karsinoma nasofaring, kanker lambung, kanker kolon, kanker rektum, dan kanker pankreas.

Efek samping fluorouracil di antaranya supresi sumsum tulang belakang, mukositis, stomatitis, diare, mual, muntah, *hand-foot syndrome*, gangguan fungsi neurologi (ataxia cerebellar, somnolen, kejang), serta gangguan fungsi jantung (*angina pectoris*, *iskemia miokard*). Fluorouracil dikaitkan dengan rendahnya peningkatan serum aminotransferase selama terapi dan jarang ditemukan kasus cedera liver akut.

Oleh karena pentingnya menemukan prediktor kemoterapi dan adanya 3 biomarker yang potensial sebagai prediktor kemoterapi tadi, serta menilai efek samping dari kemoterapi 5-FU maka penulis tertarik melakukan penelitian ini.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Bagaimana hubungan ekspresi gen TS sebagai prediktor kemoterapi 5FU pada KKR.
2. Bagaimana hubungan ekspresi gen DPD sebagai prediktor kemoterapi 5FU pada KKR.
3. Bagaimana hubungan ekspresi gen MTHFR sebagai prediktor kemoterapi 5FU pada KKR.

I.3. Tujuan Penelitian

1. **Tujuan umum :**



Mengetahui peran ekspresi *thymidilate sintase (TS)*, *dihidropirimidine dehydrogenase* (*DPD*), dan *methylene tetrafolate reductase (MTHFR)* sebagai prediktor respon kemoterapi pada KKR.

2. Tujuan khusus :

- a. Diketuainya hubungan ekspresi mRNA gen TS dengan peningkatan efektifitas kemoterapi 5-FU pada KKR.
- b. Diketuainya hubungan ekspresi mRNA gen DPD dengan respon kemoterapi 5-FU pada KKR.
- c. Diketuainya hubungan ekspresi mRNA MTHFR dengan respon kemoterapi 5-FU pada KKR.
- d. Mengetahui hubungan ekspresi mRNA TS, DPD dan MTHFR terhadap ukuran tumor pada pemberian kemoterapi 5-FU.

I.4. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademik

- a. Dari segi akademik, penelitian ini dapat menambah referensi mengenai peran ekspresi *mRNA thymidylate synthase (TS)*, *mRNA dihidropirimidine dehydrogenase (DPD)*, *mRNA methylene tetrafolate reductase (MTHFR)* pada KKR.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan peran ekspresi *mRNA Thymidylate Synthase (TS)*, *mRNA Dihidropirimidine dehydrogenase (DPD)*, *mRNA methylene tetrafolate reductase MTHFR*) dalam mekanisme kemoresistensi KKR.

2. Manfaat Klinis

Bila diketahui bahwa ekspresi *mRNA thymidylate sintas (TS)*, *mRNA opyrimidine dehydrogenase (DPD)*, *mRNA methylene tetrafolate reductase* ungan dengan respons kemoterapi KKR, serta efek samping yang diberikan



dengan pemberian kemoterapi 5-FU, maka dapat membantu menentukan mana yang perlu diberikan kemoterapi regimen 5-FU. Sehingga dapat dihindari terapi yang tidak bermanfaat dan menghemat biaya kemoterapi yang relatif mahal.

3. Manfaat bagi pengembangan Ilmu

- a. Berdasarkan data hasil penelitian ini, dapat dikembangkan penelitian dengan biomarker lainnya untuk lebih memperkuat daya prediksi keberhasilan kemoterapi KKR.
- b. Dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu kedokteran di Indonesia.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Kanker Kolorektal

a. Definisi

Kanker kolorektal adalah penyakit keganasan yang paling sering terjadi pada saluran pencernaan dan kanker paling sering urutan ketiga pada pria (746.000 kasus, meliputi 10% dari semua kanker), serta kanker paling sering urutan kedua pada wanita (614.000 kasus, meliputi 9,2% dari semua kanker), dan menjadi penyebab 600.000 kematian setiap tahun di seluruh dunia. Kanker kolorektal merupakan kanker tersering urutan keempat dan penyebab utama kedua kematian akibat kanker di Amerika Serikat. (Benson *et al.*, 2021)

Pada tahun 2020, diperkirakan terdapat 104.610 kasus baru kanker kolon dan 43.340 kasus kanker rektal akan terjadi. (Benson *et al.*, 2021) Pada tahun yang sama, diperkirakan 53.200 orang akan meninggal karena kanker kolorektal. Meskipun angka ini tinggi, insiden kanker kolorektal per 100.000 orang sudah mengalami penurunan dari 60,5% pada tahun 1976 menjadi 46,4% pada tahun 2005 dan yang terbaru 38,7% pada tahun 2016. (Glynne-Jones *et al.*, 2017; Benson *et al.*, 2021) Selain itu, kematian akibat KKR telah menurun selama beberapa dekade (sejak 1947 pada wanita dan sejak 1980 pada pria) dan saat ini turun lebih dari 50% dari angka mortalitas tertinggi. Hal ini dianggap sebagai keberhasilan dari pencegahan kanker dan diagnosis dini kanker melalui skrining dan modalitas pengobatan yang lebih baik. Data terbaru



penurunan yang cepat dan berkelanjutan dari insiden pasien yang berusia 65 h, dengan penurunan sebanyak 3,3% per tahun dari 2011 hingga 2016. (Glynne-17; Benson *et al.*, 2021).

b. Biologi molekuler kanker saluran cerna

Secara umum dinyatakan bahwa untuk perkembangan KKR merupakan interaksi antara faktor lingkungan dan faktor genetik. Faktor lingkungan multipel beraksi terhadap predisposisi genetik atau defek yang didapat dan berkembang menjadi KKR. Terdapat 3 kelompok KKR berdasarkan perkembangannya yaitu kelompok yang diturunkan (*inherited*) yang mencakup kurang dari 10% dari kasus KKR; kelompok sporadik, yang mencakup sekitar 70%; dan kelompok familial, mencakup 20%. (Puig-La Calle and Guillem, 2001)

Kelompok diturunkan adalah mereka yang dilahirkan sudah dengan mutasi germline (germline mutation) pada salah satu allele dan terjadi mutasi somatik pada allele yang lain. Contohnya adalah HNPCC dan FAP. HNPCC ditemukan pada sekitar 5% dari KKR. Kelompok sporadik membutuhkan dua mutasi somatik, satu pada masing masing allele-nya. Kelompok familial tidak sesuai kedalam salah satu dari *dominantly inherited syndromes* di atas (FAP & HNPCC) dan lebih dari 35% terjadi pada usia muda. Meskipun kelompok familial dari KKR dapat terjadi karena kebetulan saja, akan tetapi faktor lingkungan, penetrasi mutasi yang lemah atau *currently germline mutations* dapat berperan. (Puig-La Calle and Guillem, 2001)

Dikenal ada tiga kelompok utama gen yang terlibat dalam regulasi pertumbuhan sel yaitu proto-onkogen, gen supresi tumor (*tumor suppressor gene* = TSG), dan gen gatekeeper. Proto-onkogen akan menstimulasi serta meregulasi pertumbuhan dan pembelahan sel. TSG akan menghambat pertumbuhan sel atau menginduksi apoptosis (kematian sel yang terprogram). Kelompok gen ini dikenal sebagai anti-onkogen, karena berfungsi melakukan kontrol negative (tekanan) pada pertumbuhan sel. Gen p53 merupakan salah satu dari TSG yang menyandi



berat molekul 53 kDa. Gen p53 juga berfungsi mendeteksi kerusakan DNA, reparasi DNA. Gen gatekeeper berfungsi untuk mempertahankan integritas

genomik dengan mendeteksi kesalahan pada genom dan memperbaikinya. Mutasi pada gen-gen ini karena berbagai faktor membuka peluang terbentuknya kanker. (Puig-La Calle and Guillem, 2001)

Pada keadaan normal, pertumbuhan sel akan terjadi sesuai dengan kebutuhan melalui suatu siklus sel normal dan dikendalikan secara terpadu oleh proto-onkogen, TSG, dan gen gatekeeper secara seimbang. Jika terjadi ketidakseimbangan fungsi ketiga gen ini, atau salah satu tidak berfungsi dengan baik karena mutasi, maka akan terjadi penyimpangan siklus sel. Pertumbuhan sel tidak normal pada proses terbentuknya kanker dapat terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu perpendekan waktu siklus sel sehingga akan menghasilkan lebih banyak sel dalam satuan waktu, penurunan jumlah kematian sel akibat gangguan proses apoptosis, dan masuknya kembali populasi sel yang tidak aktif berproliferasi ke dalam siklus proliferasi. Gabungan mutasi dari ketiga kelompok gen ini akan menyebabkan kelainan siklus sel. Yang sering terjadi adalah mutasi gen yang berperan dalam mekanisme kontrol sehingga mekanisme pengontrol tidak berfungsi baik, akibatnya sel akan berkembang tanpa kontrol (yang sering terjadi pada manusia adalah mutasi gen p53). Akhirnya akan terjadi pertumbuhan sel yang tidak diperlukan, tanpa kendali dan karsinogenesis dimulai. (Puig-La Calle and Guillem, 2001; Benson *et al.*, 2021)

Ada dua jalur utama inisiasi dan progresi tumor yaitu melalui LOH *pathway* dan *replication error* (RER). LOH *pathway* ditandai dengan adanya delesi kromosom dan aneuploidi tumor. RER *pathway* ditandai dengan terjadi kesalahan pada proses replikasi DNA (*errors in mismatch repair*). Sejumlah gen sudah diketahui sangat krusial pada proses perbaikan replikasi

g DNA replication error). Gen-gen mismatch repair (MMR) tersebut yaitu



hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2 dan hMSH6/GTBP. (Puig-La Calle and Guillem, 2001; Benson *et al.*, 2021)

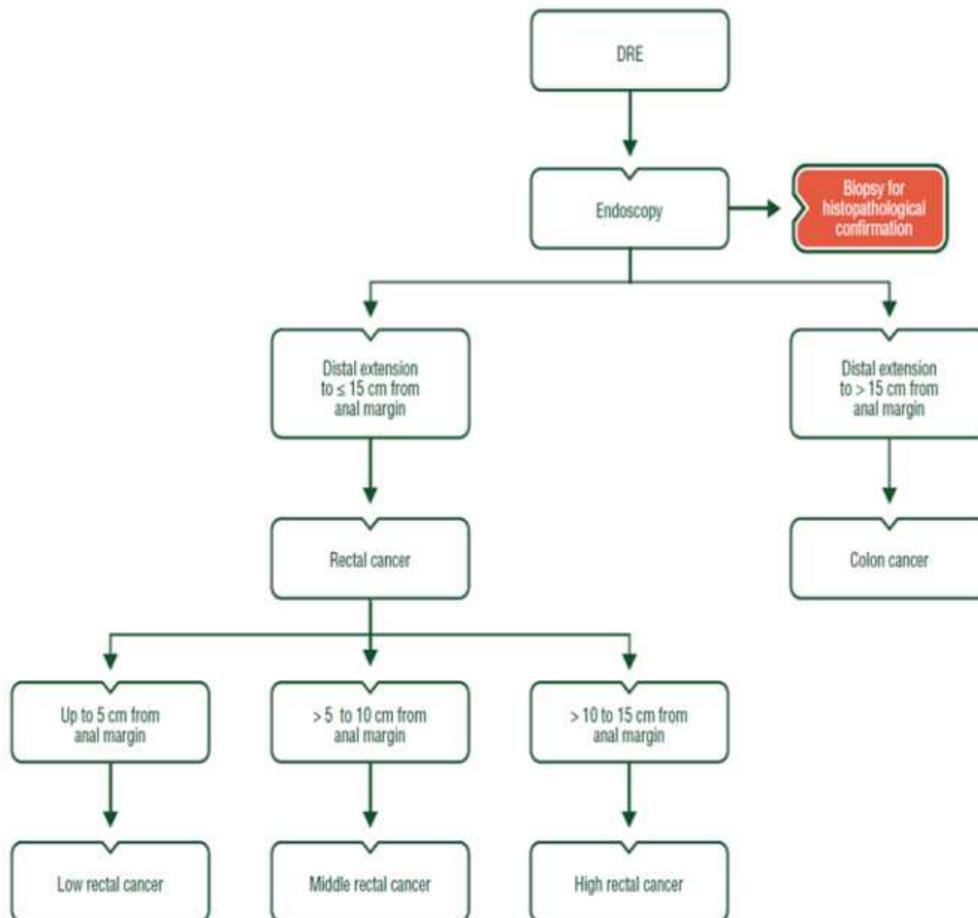
Terjadinya mutasi pada salah satu gen-gen tersebut akan mempengaruhi sel untuk bermutasi. Akumulasi dari kesalahan-kesalahan replikasi tersebut akan menyebabkan terjadinya instabilitas genom (*genomic instability*) dan akhirnya memicu proses karsinogenesis. RER pathway biasanya disertai dengan terjadinya *microsatellite instability (MSI)*. *Microsatellite* adalah daerah pada genom dimana terjadi pengulangan beberapa kali dari segmen pasangan basa pendek (*short base-pair segment*). Area tersebut biasanya akan mengalami kesalahan replikasi (*replication error*). Akibatnya pada *mutase gen mismatch repair (MMR)* akan terbentuk sequent pengulangan (*repetitive sequences*) dengan panjang yang bervariasi, yang digambarkan sebagai *microsatellite instability (MSI)*. Tumor-tumor yang disertai dengan MSI biasanya memiliki karakteristik biologi yang berbeda dari tumor-tumor yang terbentuk melalui jalur LOH. Tumor-tumor dengan MSI lebih sering berlokasi pada kolon bagian kanan, memiliki DNA diploid dan disertai dengan prognosis yang baik dibanding tumor-tumor yang berkembang dari jalur LOH atau *microsatellite stable (MSS)*. Tumor-tumor yang berkembang dari jalur LOH cenderung pada kolon lebih distal disertai dengan prognosis yang buruk. (Puig-La Calle and Guillem, 2001; Benson *et al.*, 2021)

c. Diagnosis & Patologi

Diagnosis didasarkan pada pemeriksaan rektal digital dan endoskopi dengan biopsi untuk konfirmasi histopatologi. Tumor dengan ekstensi distal hingga 15 cm dari margin anal (yang diukur dengan sigmoidoskopi rigid) diklasifikasikan sebagai tumor rektal dan tumor yang lebih tinggi sebagai kolon. KKR dikategorikan sebagai rendah (hingga 5 cm), sedang (dari > 5 cm hingga > 10 cm) atau tinggi (dari > 10 hingga 15 cm). Analisis Jaringan Atlas Genom Kanker



menunjukkan kesamaan profil genomik untuk kanker kolon dan rektum non-hipermutasi. Subtipe unik dicirikan oleh akumulasi perubahan genetik dan epigenetik yang berbeda (metilasi DNA), sedikit berbeda dari kanker kolon. Sebuah subtipe transkripsi dengan sinyal WNT tinggi, stem cell dan mesenkimal terjadi pada kanker rektum dan memiliki prognosis yang buruk. Pasien tersebut juga umumnya kurang respon terhadap kemoterapi adjuvan. (Glynne-



Gambar 1. Alur diagnosis kanker rectum. (Glynne-Jones *et al.*, 2017)



Penilaian Risiko

ging yang digunakan adalah sistem Dukes yang dimodifikasi oleh Astler-Coller 54 dan kemudian direvisi pada tahun 1978 berdasarkan pada kedalaman invasi

tumor, keterlibatan kelenjar getah bening dan adanya metastasis jauh yaitu (Akkoca *et al.*, 2014; Benson *et al.*, 2021):

Stadium A : Tumor terbatas pada mukosa.

Stadium B : Tumor menginvasi sampai ke lapisan muskularis propria (B1), tumor menginvasi ke lapisan subserosa (B2) dan tumor menginvasi sampai ke struktur-struktur yang berdekatan (B3)

Stadium C : bila sudah ada keterlibatan kelenjar getah bening (C1 – C3)

Stadium D : Tumor metastasis jauh.

Selain sistem Dukes, *staging* KKR juga dapat menggunakan klasifikasi dan sistem stadium tumor/node/metastasis (TNM) dari *American Joint Committee on Cancer* (AJCC). Dalam sistem ini, stadium ditentukan berdasarkan karakteristik tumor primer (T) dan tingkat keterlibatan kelenjar getah bening regional (N) dan metastasis jauh (M). Selain itu, metastasis dapat didefinisikan secara klinis atau patologis, berdasarkan penilaian klinis praoperasi (c) atau evaluasi patologis jaringan metastasis. (Akkoca *et al.*, 2014; Benson *et al.*, 2021)

Tumor Primer (T)

Tx : tumor primer tidak dapat dinilai

To : tidak ada tumor primer yang dapat ditemukan

Tis : karsinoma in situ (mukosa), intra epitel atau ditemukan sebatas lapisan mukosa saja.

T1: tumor menginvasi submukosa.

T2: tumor menginvasi lapisan muskularis propria.

T3; tumor menembus muskularis propria hingga lapisan serosa atau jaringan perirektal belum mencapai peritoneum.



T4: tumor menginvasi organ atau struktur di sekitarnya atau menginvasi sampai peritoneum visceral.

Kelenjar limfe regional (N)

Nx : kelenjar limfe regional tidak dapat dinilai.

No : tidak ada metastasis ke kelenjar regional.

N1 : ditemukan metastasis ke 1 – 3 kelenjar getah bening regional.

N2 : ditemukan metastasis ke 4 atau lebih kelenjar getah bening.

N3 : metastasis ke kelenjar limfe sepanjang percabangan vaskuler

Metastasis jauh (M)

Mx : metastasis tidak dapat dinilai.

M0 : tidak ada metastasis jauh.

M1 : ditemukan metastasis jauh.

Tabel 1. Perbandingan stadium klinik berdasarkan TNM (AJCC) dan Dukes Modifikasi Astler

Coller

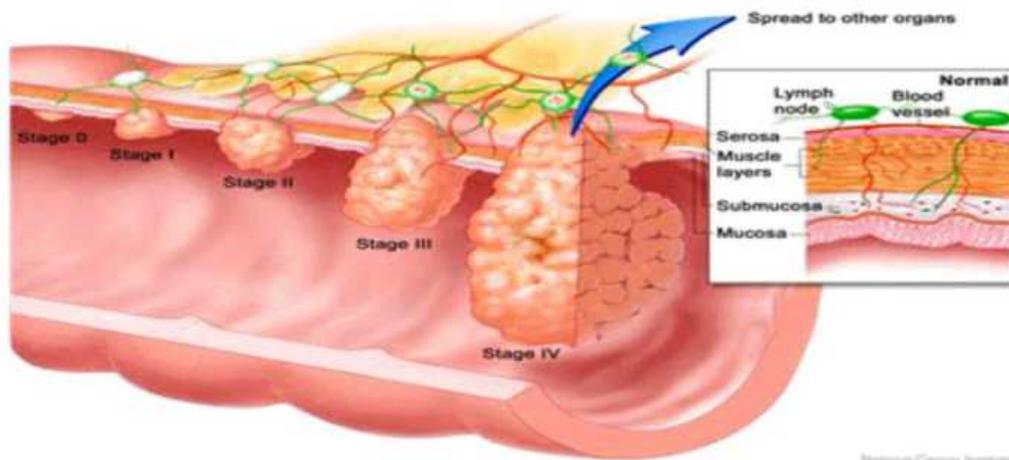
Stadium	T	N	M	Duke's	MAC
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1/T2	N0	M0	A	A
IIA	T3	N0	M0	B	B1
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
	T1-T2	N1/N1c/N2a	M0	C	C1
	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2



	T1-T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
IVA	tiap T	Tiap N	M1a	-	-
IVB	tiap T	Tiap N	M1b	-	-

Pembagian derajat keganasan berdasarkan kriteria yang dianjurkan WHO:

- Gr I : tumor berdiferensiasi baik, mengandung komponen glandular >95%
- Gr II : tumor berdiferensiasi sedang, mengandung komponen glandular 50–95 %
- Gr III : tumor berdiferensiasi buruk, mengandung komponen glandular 5–50 %
- Gr IV : tumor tidak berdeferensiasi, kandungan komponen glandular < 5 %. (Benson *et al.*, 2021)



Gambar 2. Pembagian derajat keganasan KKR

e. Manifestasi Klinis

Usus besar secara klinis dibagi menjadi belahan kiri dan kanan sejalan dengan suplai darah yang diterima. Arteri mesenterika superior memperdarahi belahan bagian kanan (caecum, kolon ascendens dan dua per tiga proksimal kolon transversum), dan arteri mesenterika inferior yang memperdarahi belahan kiri (sepertiga distal kolon transversum, kolon descendens dan sigmoid, dan bagian proksimal rektum). Tanda dan gejala dari kanker kolon sangat bervariasi dan tidak spesifik. Keluhan utama pasien dengan kanker kolorektal berhubungan dengan besar dan lokasi dari tumor. Tumor yang berada pada kolon kanan, dimana isi kolon berupa cairan, cenderung tetap tersamar hingga lanjut sekali. Sedikit kecenderungan menyebabkan obstruksi karena lumen usus lebih besar dan feses masih encer. Gejala klinis sering berupa rasa penuh, nyeri abdomen, perdarahan dan anemia (menyebabkan kelemahan, pusing dan penurunan berat badan). Tumor yang berada pada kolon kiri cenderung mengakibatkan perubahan pola defekasi sebagai akibat iritasi dan respon refleks, perdarahan, mengecilnya ukuran feses, dan konstipasi karena lesi kolon kiri yang cenderung melingkar mengakibatkan obstruksi. (Giralt, 2015; Clarke *et al.*, 2016)

f. Terapi

Penatalaksanaan kanker kolorektal bersifat multi disiplin yang melibatkan beberapa spesialisasi / sub spesialisasi antara lain gastroenterologi, bedah digestif, onkologi medik, dan radioterapi. Pilihan dan rekomendasi terapi tergantung pada beberapa faktor, seperti stadium tologi, kemungkinan efek samping, kondisi pasien dan preferensi pasien. Terapi kan modalitas utama untuk kanker stadium dini dengan tujuan kuratif. lalah pilihan pertama pada kanker stadium lanjut dengan tujuan paliatif.



Radioterapi juga merupakan salah satu modalitas utama terapi kanker rektum. Saat ini, terapi biologis (*targeted therapy*) dengan antibodi monoklonal telah berkembang pesat dan dapat diberikan dalam berbagai situasi klinis, baik sebagai obat tunggal maupun kombinasi dengan modalitas terapi lainnya.

1. Terapi endoskopi

Terapi endoskopik dilakukan untuk polip kolorektal, yaitu lesi mukosa kolorektal yang menonjol ke dalam lumen. Polip merupakan istilah nonspesifik yang makna klinisnya ditentukan dari hasil pemeriksaan histopatologi yang dibedakan menjadi polip neoplastik (adenoma dan kanker) serta polip non-neoplastik. (Kemenkes RI, 2016; Benson *et al.*, 2021)

2. Terapi bedah

a. Kolektomi dan reseksi (KGB) regional *en-bloc*

Teknik ini diindikasikan untuk kanker kolon yang masih dapat direseksi (*resectable*) dan tidak ada metastasis jauh. Luas kolektomi sesuai lokasi tumor, jalan arteri yang berisi kelenjar getah bening, serta kelenjar lainnya yang berasal dari pembuluh darah yang ke arah tumor dengan batas sayatan yang bebas tumor (R0). Pada reseksi KGB minimal harus ada 12 KGB yang diperiksa untuk menegakkan stadium N. (Kemenkes RI, 2016)

b. Reseksi transabdominal

Reseksi abdominoperineal dan reseksi *sphincter-saving* anterior atau anterior rendah merupakan tindakan bedah untuk kanker rektum. Batas reseksi distal telah beberapa kali mengalami revisi, dari 5 sampai 2 cm. Bila dihubungkan dengan kekambuhan lokal dan ketahanan hidup, tidak ada perbedaan mulai batas reseksi distal 2

cm. (Kemenkes RI, 2016; Benson *et al.*, 2021)



c. Bedah laparoscopi

Bukti - bukti yang diperoleh dari beberapa uji acak terkontrol dan penelitian kohort memperlihatkan bahwa bedah laparoskopik untuk kanker kolorektal dapat dilakukan secara onkologis dan memiliki kelebihan dibandingkan dengan bedah konvensional seperti berkurangnya nyeri pasca operasi, penggunaan analgetika, lama rawat di rumah sakit, dan perdarahan. (Kemenkes RI, 2016)

3. Kemoterapi

Kemoterapi untuk kanker kolorektal dilakukan dengan berbagai pertimbangan, antara lain adalah stadium penyakit, risiko kekambuhan dan *performance status (PS)*. Berdasarkan pertimbangan tersebut kemoterapi pada kanker kolorektal dapat dilakukan sebagai terapi adjuvan, neoadjuvan atau paliatif. Terapi adjuvan direkomendasikan untuk KKR stadium III dan stadium II yang memiliki risiko tinggi. Yang termasuk risiko tinggi adalah: jumlah KGB yang terambil <12 buah, tumor berdiferensiasi buruk, invasi vascular atau limfatik atau perineural; tumor dengan obstruksi atau perforasi; dan pT4. Contoh regimen kemoterapi : CapeOX, mFOLFOX6, dan FOLFIRI. (Kemenkes RI, 2016; Benson *et al.*, 2021)

4. Terapi radiasi

Modalitas radioterapi hanya berlaku untuk kanker rektum. Kekambuhan lokoregional pada kasus keganasan rektum terutama dipengaruhi oleh keterlibatan tumor pada batas reseksi sirkumferensial, kelenjar getah bening positif, dan invasi pembuluh darah ekstramural. Secara umum, radiasi pada kanker rekti dapat diberikan baik pada tumor yang *resectable* maupun yang *non-resectable*, dengan tujuan untuk mengurangi risiko lokal, terutama pada pasien dengan histopatologi yang berprognosis buruk; dan kemungkinan prosedur preservasi *sfincter*; meningkatkan tingkat



resektabilitas pada tumor yang lokal jauh atau tidak *resectable*; dan mengurangi jumlah sel tumor yang *viable* sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi sel tumor dan penyebaran melalui aliran darah pada saat operasi. (Kemenkes RI, 2016)

II.2. Mekanisme Kerja 5-Fluorouracil & Metabolism Pirimidine

Mekanisme *5-Fluorouracil (5-FU)* dan metabolisme pirimidin dimulai ketika 5-FU diubah menjadi *fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP)* yang bersifat penghambat enzim *thymidylate synthase (TS)*. Mekanisme aksi sitotoksik lain dari 5-FU termasuk konversi *fluorouridine diphosphate (FUDP)* dan *fluorodeoxyuridine diphosphate (FdUDP)* menjadi *fluorouridine triphosphate (FUTP)* dan *fluorodeoxyuridine triphosphate (FdUTP)* yang masing-masing dimasukkan ke dalam RNA dan DNA. Mekanisme ini dikenal sebagai rangkaian sitotoksik sehingga mekanisme ini mengalahkan mekanisme perbaikan DNA dan akhirnya menyebabkan kematian sel. Katabolisme 5-FU terdiri dari tiga langkah berurutan. Pertama, 5-FU dikatalisis menjadi *5,6 dihydrofluorouracil (DHFU)* oleh *dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)*. Kedua, DHFU dikatalisis menjadi *fluoro B-ureidopropionat* oleh *dihidropirimidinase*. Ketiga, kemudian *fluoro B-ureidopropionat* dikatalisis menjadi *fluoro B-alanin* oleh *ureidopropionase*. Gambar 2. (Hodroj *et al.*, 2021)

Mekanisme sitotoksik ini hanya melibatkan sampai 3% dari dosis asli 5-FU yang diberikan dan mekanisme mana yang lebih dominan dalam sel tumor masih belum jelas. Namun, aktivitas sitotoksik 5-FU sangat tergantung pada waktu penghambatan TS oleh FdUMP



ya terjadi ketika 5-FU diberikan sebagai infus kontinu dan penggabungan triphosphate ke dalam RNA dianggap sebagai mekanisme aksi utama ketika 5-FU diberikan sebagai bolus. (Hodroj *et al.*, 2021)

pada pasien setelah 5-FU mungkin termasuk diare, mual/muntah, mukositis, fotofobia, dan penekanan sumsum tulang, terutama neutropenia. (Saif *et al.*, 2021)

II.3. *Carcinoembryonic antigen (CEA)*

Penanda tumor yang paling banyak digunakan untuk keganasan kolorektal ialah *Carcinoembryonic antigen (CEA)* merupakan suatu oncofetal antigen, secara normal diproduksi pada masa perkembangan fetus dan berhenti sebelum janin lahir. Antigen ini juga diproduksi oleh epitel tumor pada usus besar yang masuk ke dalam peredaran darah. CEA merupakan suatu *Glycosyl Phosphatidyl Inositol (GPI) – cell surface* yang berperan dalam adhesi sel. CEA digunakan sebagai *marker* serologi untuk memonitor status kanker kolorektal dan untuk mendeteksi rekurensi dini dan metastase ke hati. CEA dapat terdeteksi di berbagai cairan tubuh, urin dan feses (Raehaan, et al 2014).

Peningkatan serum CEA tidak spesifik berhubungan dengan kanker kolorektal. Kadar CEA tinggi pada 75% pasien dengan kanker usus besar. CEA tidak dapat digunakan sebagai prosedur *screening* tetapi akurat sebagai diagnosis kanker kolorektal yang rekuren. *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)* merekomendasikan pemeriksaan CEA adalah 4-6 minggu setelah pembedahan dengan pemeriksaan lanjutan setiap 3 bulan untuk 2 tahun pertama dan setiap 6 bulan untuk 5 tahun berikutnya (IKABDI, 2014).

The American Society of Clinical Oncology Tumor Marker Expert Panel merekomendasikan pemeriksaan pemeriksaan postoperative CEA setiap 3 bulan untuk stage II dan III selama 3 tahun. Pemeriksaan postoperative CEA penting dilakukan karena sebagai *factor prognostik independent* terhadap *disease-free survival (DFS)* kanker kolorektal. Pada angka relevansi CEA sebesar 5



5 ; CEA adalah 37% untuk mendiagnosis kanker kolorektal sebesar 37% untuk kes stage B, 66,6% untuk pasien dengan stage C, dan 75% untuk pasien stage D.

Spesifitas CEA untuk kanker kolorektal pada angka 5 ng/ml adalah 76,98% dan pada angka 10 ng/ml sebesar 86% (*American Cancer Society, 2017*).

Faktor yang mempengaruhi konsentrasi CEA pada pasien dengan Kanker Kolorektal, yaitu: (NCCN Guideline, 2018)

- Stadium tumor

Seperti penanda tumor pada umumnya, konsentrasi dan proporsi pasien dengan peningkatan nilai CEA cenderung meningkat, dengan meningkatnya stadium penyakit. Dengan demikian, dalam satu studi awal proporsi pasien dengan peningkatan konsentrasi CEA ($> 2,5$ mg / L) adalah sebagai berikut:

Dukes A, 28%, Dukes' B, 45%, Dukes 'C, 75 %, dan Dukes 'D, 84%. Menggunakan titik *cut off* dari 5 mg/L, pasien dengan nilai peningkatan adalah 3%, 25%, 45%, dan 65% untuk pasien dengan Dukes 'A, B, C, D dan penyakit masing-masing.

- Histopatologi tumor

Beberapa studi telah menunjukkan bahwa kanker kolorektal *well differentiated* menghasilkan lebih CEA per gram protein total dari pada specimen *poor differentiated*. (Setianingrum, 2014). Hal ini yang menjelaskan mengapa pasien kanker kolorektal dengan stadium lanjut (stadium 3 atau 4) tidak mengalami peningkatan kadar CEA yang berarti (Gunawan, 2016; Buchari, 2018).

- Keterlibatan *Hepar*

Hati adalah tempat utama untuk metabolisme CEA. Awalnya, penyerapan terjadi pada sel Kupffer, yang memodifikasi CEA dengan menghapus residu asam sialat. Asialo CEA kemudian diendositosis oleh sel parenkim hati yang selanjutnya terdegradasi. Penyakit hati jinak tertentu



fungsi hati dan pembersihan CEA. Akibatnya, CEA dapat ditingkatkan dalam darah terutama dengan penyakit hati non malignan.

- Lokasi tumor dalam usus besar

Pasien dengan tumor pada sisi kiri usus besar umumnya memiliki insiden yang lebih tinggi dari peningkatan konsentrasi CEA dibandingkan dengan keganasan di sisi kanan dari usus besar.

- Ada atau tidak adanya obstruksi usus

Sugar baker menunjukkan bahwa obstruksi usus mengakibatkan konsentrasi CEA tinggi pada pasien dengan keganasan kolorektal.

II.4. Capecitabine

Capecitabine adalah suatu fluoropyrimidine carbamate oral, pertama kali didesain untuk menghantarkan FU ke sel tumor secara predominan. Dalam 2 buah randomized trial oleh Van Cutsem et al serta Hoff et al tahun 2001 menunjukkan efikasi dan toksisitas dari capecitabine sebagai terapi lini pertama pada pasien Kanker kolorektal sudah dievaluasi. Percobaan itu menunjukkan bahwa capecitabine mempunyai efikasi yang sama dengan 5FU/LV. *Hand and foot syndrome* banyak dilaporkan pada penggunaan capecitabine walaupun dengan kondisi dosis yang sudah diturunkan. Berdasarkan data ini, capecitabine disetujui oleh *US Food and Drug* sebagai terapi lini pertama untuk pasien kanker kolorektal tahun 2002 (Venook, 2005).

5-FU tidak dapat diberikan secara oral oleh karena variasi yang signifikan pada bioavailabilitasnya. Hasil dari fluoropirimidin karbamat yang menurunkan konsentrasi serum seperti Capecitabine apabila dikonsumsi per *oral* memiliki bioavailabilitas hampir 100%. Capecitabine direkomendasikan untuk dikonsumsi bersama makanan karena efikasi dan keamanannya berdasarkan pada penelitian ketika diberikan dalam 30 menit setelah makan Dosis standar 1250 mg per hari 1–14 setiap 3 minggu selama 24 minggu (8 siklus), konsentrasi puncak terdapat pada 1,5 – 2 jam setelah pemberian. Capecitabine diekskresikan melalui urin.

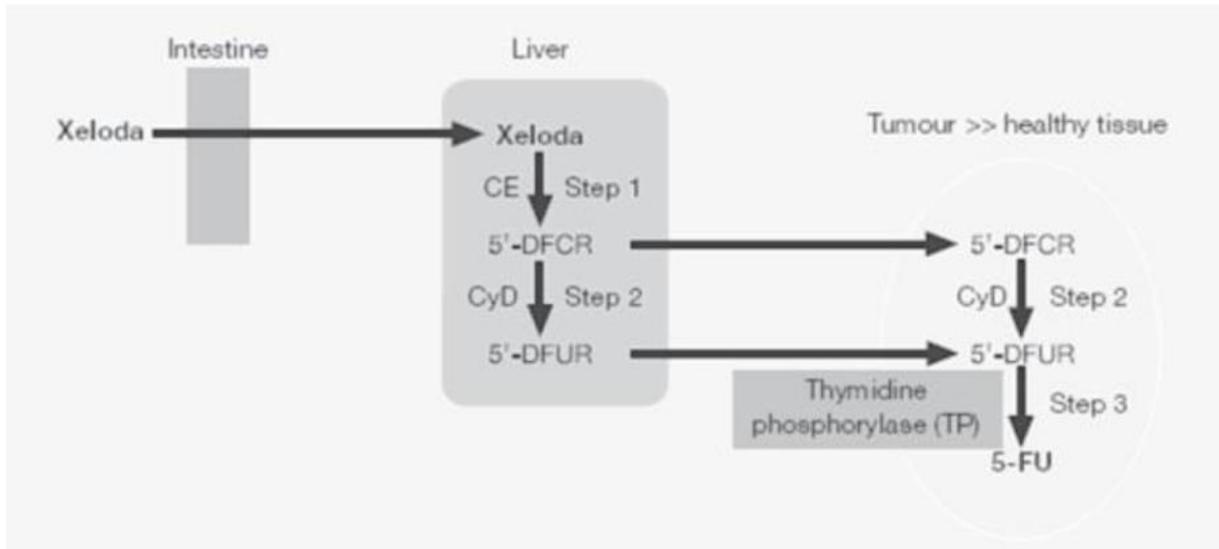


84% dalam 24 jam pertama dan 96% dalam 7 hari berikutnya. Absorpsi obat melalui traktus gastrointestinal dan dikonversi menjadi

5-FU dalam tahapan reaksi enzimatik, yaitu:

1. Karboksilesterase hepar mengubah capecitabine menjadi *5'-deoxy-5- fluorocytidine (5'-DFCR)* yang kemudian akan diubah menjadi *5'-deoxy-5- fluorouridine (5'-DFUR)* oleh *cytidine deaminase*, yang pada prinsipnya terdapat konsentrasi tinggi pada hepar, plasma dan jaringan tumor. Walaupun dua tahapan pertama berlangsung di hepar, konversi akhir dari *5'-DFUR* menjadi 5-FU terjadi pada jaringan neoplasma oleh karena timidin fosforilase yang mempunyai konsentrasi tinggi pada jaringan neoplasma. Sebagai tambahan, beberapa penelitian menunjukkan bahwa timidin fosforilase mengalami upregulasi pada jaringan tumor setelah terapi dengan radioterapi atau agen sitotoksik lainnya selain 5-FU, menyajikan penjelasan yang memungkinkan terhadap cara kerja obat, termasuk sinergitas dalam terapi kombinasi (Bradford, et al., 2011).
2. Fluorouracil (FU) dikatabolisme dihati menjadi dua metabolit aktif dengan menggunakan folat sebagai kofaktor, yaitu *5-fluoro-2-deoxyuridine monophosphate (FdUMP)* dan *5-fluorouridine triphosphate (FUTP)*. FdUMP menghambat sintesis DNA dengan cara mengurangi produksi normal timidin, sedangkan FUTP menghambat sintesis RNA dan protein dengan cara bersaing dengan uridin trifosfat. Kemudian menjadi metabolit tidak aktif yaitu *α -fluoro- β -alanine (FBAL)* oleh *dihydropyrimidine dehydrogenase* yang kesemuanya ini tidak memiliki aktivitas antiproliferatif (IKABDI, 2014).





Gambar 4. Perubahan Enzimatik Capecitabine menjadi 5FU

Capecitabine mempunyai efek pada nilai laboratorium, paling sering terjadi adalah peningkatan total bilirubin. Namun Disfungsi hati ringan sampai sedang tidak memiliki pengaruh klinis yang signifikan terhadap farmakokinetik capecitabine dan metabolitnya. Efek samping yang lebih sering timbul adalah sindrom *palmar plantar erythrodysesthesia* atau *hand-foot syndrome*. Manifestasi sindrom ini adalah sensasi baal pada tangan dan kaki, hiperpigmentasi, yang berkembang menjadi nyeri saat memegang benda atau berjalan. Telapak tangan menjadi bengkak dan kemerahan, dan mungkin disertai dengan deskuamasi (IKABDI, 2014).

Fakta bahwa capecitabine pada umumnya ditoleransi dengan baik membuatnya cocok untuk dikombinasikan dengan sitotoksik lainnya (terutama oxaliplatin). Namun Capecitabine tidak memiliki efek dengan pemberian bersama leucovorin. Uji coba fase III sedang berlangsung di Prancis, AS, dan Australia. Ada beberapa saran bahwa toksisitas mungkin berbeda pada satu daerah dengan yang lain, dan keahlian diperlukan dalam manajemennya. Kebutuhan untuk



s mungkin lebih besar dengan capecitabine dibandingkan dengan infusional 5-
4).

II.5. Respon kanker kolorektal berdasarkan tumor marker *Carcinoembryonic antigen* (CEA) setelah mendapatkan terapi Capecitabine

Pada analisa multivariat terhadap efikasi dan toleransi pemberian capecitabine dengan menggunakan penanda tumor yang penting, yaitu CEA. Capecitabine menunjukkan respon yang bermakna yaitu 18,9% (Van custem, 2001). Median follow up 6,9 tahun, disimpulkan survival selama 5 tahun untuk *capecitabine* 60,8%, periode kekambuhan penyakit selama 5 tahun 63,2% dan Survival Secara keseluruhan 71,4% (Twelves, 2005).

Pembagian respon tumor menurut WHO yaitu (Labianca, 2010) (Gangmi, 2011):

1. *Complete respon*

Tumor menghilang pada daerah yang terkena, nilai CEA dibawah dari batas normal (<3,0 ng/mL)

2. *Parsial respon*

Penurunan nilai CEA paling tidak 30% dari nilai CEA awal.

3. *Progresive disease*

Terdapat lesi baru atau meningkat 25% dari besar awal dan peningkatan CEA paling tidak 20% dari nilai CEA normal.

4. *Stable disease* adalah tidak terdapat perubahan setelah tatalaksana tumor

Pada penggunaan kemoterapi dengan kandungan 5-FU biasanya akan didapatkan peningkatan CEA sebesar 15-20% (*CEA flare*) setelah pemberian kemoterapi, hal tersebut menunjukkan respon yang baik terhadap kemoterapi. Beberapa teori dikaitkan dengan *CEA flare* tersebut yaitu peningkatan ini oleh karena lisisnya tumor, atau merupakan efek sekunder akibat



par. Setelah terjadi *CEA flare*, biasanya akan didapatkan penurunan kadar CEA.

ataupun kadar CEA tetap pada batas normal yang menunjukkan perbaikan dalam hal periode bebas penyakit, rata-rata harapan hidup dan tidak adanya rekurensi (Strimpakos, et al., 2009).

II.6. Hubungan Ekspresi Thymidylate Sintase dengan Respon Kemoterapi 5-Fluorourasil

Saat ini, 5-fluorouracil (5-FU) adalah agen kemoterapi yang paling sering digunakan dalam pengobatan kanker kolorektal baik sebagai adjuvant maupun dalam terapi paliatif. Thymidylate synthase (TS) adalah enzim yang mengkatalisis transformasi dUMP yang penting untuk replikasi DNA. TS dianggap sebagai target intraseluler utama fluoropyrimidines. Metabolit aktif fluorodeoxyuridylate (5-FdUMP) mencegah sintesis DNA dengan membentuk kompleks yang stabil dengan TS dan folat sebagai kofaktor, sehingga menghalangi konversi dUMP menjadi dTMP. Informasi mengenai kadar jaringan tumor TS penting karena tingkat ekspresi tumor TS yang rendah pada pasien kolorektal yang menerima kemoterapi berbasis 5-FU terkait dengan respons klinis serta kelangsungan hidup yang lebih lama (2-8). Wilayah penambah promotor TS bersifat polimorfik dan salah satu polimorfisme memengaruhi efisiensi translasi mRNA TS. (Lecomte *et al.*, 2004)

Setelah pemberian 5-FU, sekitar 80% dikatabolisme oleh dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), enzim pembatas laju untuk metabolisme 5-FU. (Amstutz *et al.*, 2018; Henricks *et al.*, 2018; Innocenti *et al.*, 2020) Bagian 5-FU yang tersisa selanjutnya dianabolisme menjadi bentuk aktif yang menghambat sintesis kedua DNA dengan penghambatan kompetitif enzim thymidylate synthase (TS) atau RNA dengan penggabungan langsung metabolit



dalam asam nukleat. Enzim TS menyediakan satu-satunya sumber de novo sintesis DNA. (Wang, Walsh and Saif, 2016; Wilks and Saif, 2017) Meskipun lah terlibat dalam toksisitas dan kemanjuran terkait 5-FU, ada data yang muncul

yang menunjukkan bahwa TS diekspresikan secara berlebihan dalam sel kanker, menjadikannya penanda prediktif potensial untuk menilai respons terhadap kemoterapi, seperti 5-FU. (Jennings *et al.*, 2012; Loganayagam *et al.*, 2013)

Promotor TS terdiri dari urutan 28-bp, biasanya disajikan sebagai pengulangan tandem ganda (2R) atau pengulangan tiga tandem (3R), dan ditunjukkan bahwa sel 3R/3R homozigot mengekspresi TS mRNA secara berlebihan dibandingkan dengan sel 2R/2R homozigot. Baru-baru ini, polimorfisme nukleotida tunggal GC telah dijelaskan pada nukleotida kedua belas dari pengulangan kedua alel 3R, yang mengarah ke lokus tri-alel (2R, 3RG, dan 3RC). Polimorfisme ini mengubah residu kritis dalam elemen konsensus E-box USF. Alel 3RC menunjukkan aktivitas transkripsi yang mirip dengan alel 2R. Selanjutnya, polimorfisme genetik di wilayah *3-untranslated region* (3'-UTR) dari gen TS telah diidentifikasi, biasanya disajikan sebagai penghapusan 6-bp pada posisi 1494. Beberapa studi menunjukkan hubungan yang signifikan antara penghapusan 6-bp dan ekspresi mRNA TS yang rendah dalam jaringan tumor kolorektal. (Lecomte *et al.*, 2004)

Di sisi lain, data yang terkait gen TS masih langka dan jarang. (Saif *et al.*, 2021 Gen TS manusia adalah polimorfik, dengan pengulangan tandem ganda atau tiga dari 28 urutan pasangan basa hilir dari cap-site di wilayah regulasi 59-terminal. (Wang, Walsh and Saif, 2016; Wilks and Saif, 2017) Studi sebelumnya telah menyarankan bahwa genotipe TS memprediksi ekspresi mRNA TS pada tumor usus besar yang bermetastasis dan berfungsi sebagai pengganti prediksi respons, serta toksisitas, terhadap 5-FU. (Sharma *et al.*, 2008)



n oleh Wasif *et al.* 2021 pada 21 sampel dengan KKR diberikan 5-FU 1000 cara intravena kontinu, mitomycin-C 10 mg/m²/hari, dan radioterapi dinilai as ≥ 3 termasuk panasitopenia, neutropenia, trombositopenia, mucositis, mausea,

ruam, dan nefritis ditemukan terjadi mutasi baik gen TS maupun DPD. Mutasi pada gen TS terjadi pada 6 sampel dimana 2 sampel sebelum pemberian agen kemoterapi dan 4 sampel setelah pemberian. (Sharma *et al.*, 2008) Tentu telah banyak studi yang menganjurkan pemeriksaan genotype TS bukan hanya mampu memprediksi toksisitas, namun juga efektivitas agen 5-FU. Studi pada kanker kolorektal telah mengungkapkan bahwa pasien yang homozigot untuk alel 3R menunjukkan respons objektif yang lebih rendah terhadap terapi bertarget TS. (Sharma *et al.*, 2008; Wang, Walsh and Saif, 2016)

II.7. Hubungan Ekspresi Dihidropirimidine Dehydrogenase dengan Respon Kemoterapi 5-Fluorourasil

Banyak faktor yang dapat memodulasi aktivitas dan katabolisme 5-FU. Parameter yang paling banyak dijelaskan yaitu defisiensi *dihidropirimidine dehidrogenase* (DPD). Sehingga mengobati pasien dengan aktivitas DPD yang sangat rendah dengan 5-FU dapat menyebabkan kematian. Menilai aktivitas DPD membantu memprediksi toksisitas 5-FU. Berbagai biomarker kemoterapi telah banyak digunakan untuk menilai toksisitas termasuk yang berbasis fluoropyrimidine. Aktivitas metabolik DPD dinilai secara langsung dengan mengukur jumlah dihydrouracil, carbamyl-Balanine, dan B-alanine yang dihasilkan dari paparan limfosit pasien terhadap 6-14 urasil. Studi in-vitro telah menunjukkan bahwa aktivitas DPD hadir di beberapa sel normal dan sel tumor (limfosit darah tepi dan hati). (Hodroj *et al.*, 2021)

Defisiensi *peripheral mononuclear cells*-DPD (PBMC-DPD) ditentukan oleh proporsi



dingkan dengan aktivitas PBMC-DPD rata-rata pada populasi referensi. Karena C-DPD dan hepar-DPD menunjukkan distribusi Gaussian yang serupa dalam asi untuk keseluruhan aktivitas DPD di hepar dan jaringan lain diekstrapolasi

dari estimasi aktivitas PBMC-DPD. Salah satu keterbatasan metode ini yaitu limfosit pada darah tepi dan mukosa usus yang normal, katabolisme urasil tidak dapat dideteksi di luar dihidrourasil, menunjukkan aktivitas dihidropirimidinase yang sangat rendah atau kurang. Secara *in vitro*, faktor lain dapat menghambat aktivitas DPD seperti urasil dalam jumlah tinggi dan/atau *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)* dalam jumlah tinggi sebelum reaksi pada hepar tikus atau manusia. (Hodroj *et al.*, 2021)

Pada tahun 2018, *Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé*, ANSM badan obat Prancis merekomendasikan genotipe DPD untuk semua pasien yang menerima pengobatan berbasis fluoropyrimidine untuk meningkatkan keamanannya. Pada bulan Desember 2018, pedoman baru dari *Institut National Du Cancer/INCa* lembaga kanker Prancis dan otoritas kesehatan Prancis/ *Haute Autorité de Santé/ HAS* merekomendasikan pengukuran tingkat darah urasil dan adaptasi dosis jika konsentrasi antara 16 dan 150 ng/ml. (Hodroj *et al.*, 2021) Bila kadar >150 ng/ml, rejimen alternatif tanpa 5-FU/capecitabine harus dipertimbangkan. Atas permintaan ANSM, *European Medicines Agency (EMA)* melakukan peninjauan bukti mengenai defisiensi DPD dan sekarang juga merekomendasikan pengujian DPD dengan menilai keberadaan empat varian utama. (EMA, 2020) *The Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG)* dan lainnya Asosiasi ilmiah Eropa telah menerbitkan rekomendasi yang sama ini. (Roncato, Cecchin and Toffoli, 2018; Martens *et al.*, 2020)

Aktivitas DPD yang tinggi juga harus dipertimbangkan, karena kelangsungan hidup dan mungkin lebih rendah pada pasien dengan aktivitas DPD yang lebih tinggi. Obat yang lebih rendah. (Chamorey *et al.*, 2020) Namun, penerapan metode ini an rutin sangat terbatas karena merupakan teknik yang memakan waktu dan



membutuhkan sejumlah besar darah dan bahan berlabel radio. (Hodroj *et al.*, 2021) Sindrom defisiensi DPD adalah sindrom farmakogenetik yang dikenal dengan baik yang biasanya bermanifestasi sebagai diare berat atau fatal, mukositis/stomatitis, mielosupresi, dan bahkan toksisitas langka, seperti hepatitis, ensefalopati, dan iskemia jantung akut setelah dosis pertama atau kedua 5-FU. (Amstutz *et al.*, 2018; Henricks *et al.*, 2018; Innocenti *et al.*, 2020)

II.8. Hubungan Ekspresi Methylene Tetrahydrofolate Reductase Dengan Respon Kemoterapi 5-Fluorourasil

Ekspresi triphosfat atau *ribonucleotide reductase* yang lebih rendah berkontribusi pada metabolit aktif yang lebih rendah dan berkorelasi dengan resistensi terhadap 5-FU.(Fukushima *et al.*, 2001; Petrioli *et al.*, 2010) Gen *Thymidylate Synthase* (TS) yang mengkode untuk TS dapat menyimpan polimorfisme di wilayah penambah promotor (rs34743033, rs45445694, atau rs11280056) yang mempengaruhi efisiensi terjemahan mRNA TS dan tingkat ekspresi mRNA TS yang lebih rendah dalam jaringan normal dan terkait dengan risiko yang lebih tinggi dari efek sitotoksik 5-FU.(Lecomte *et al.*, 2004) Banyak jalur lain yang dapat dijelaskan yang menekankan aktivitas kompleks 5-FU. *Methylene tetrahydrofolate reductase* (MTHFR) merupakan gen lain yang mengkatalisis konversi *5,10-metilenatetrahidrofolat* (5,10-metilen-THF) menjadi *5-metil-tetrahidrofolat* (5-metil-THF). Polimorfisme MTHFR c.C677T dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim sebesar 30% dan menyebabkan akumulasi 5,10-metilen-THF. Kelebihan 5,10-metilen-THF ini meningkatkan stabilitas kompleks terner dan

in terkait dengan peningkatan risiko pengembangan toksisitas derajat 3/4.(Nahid



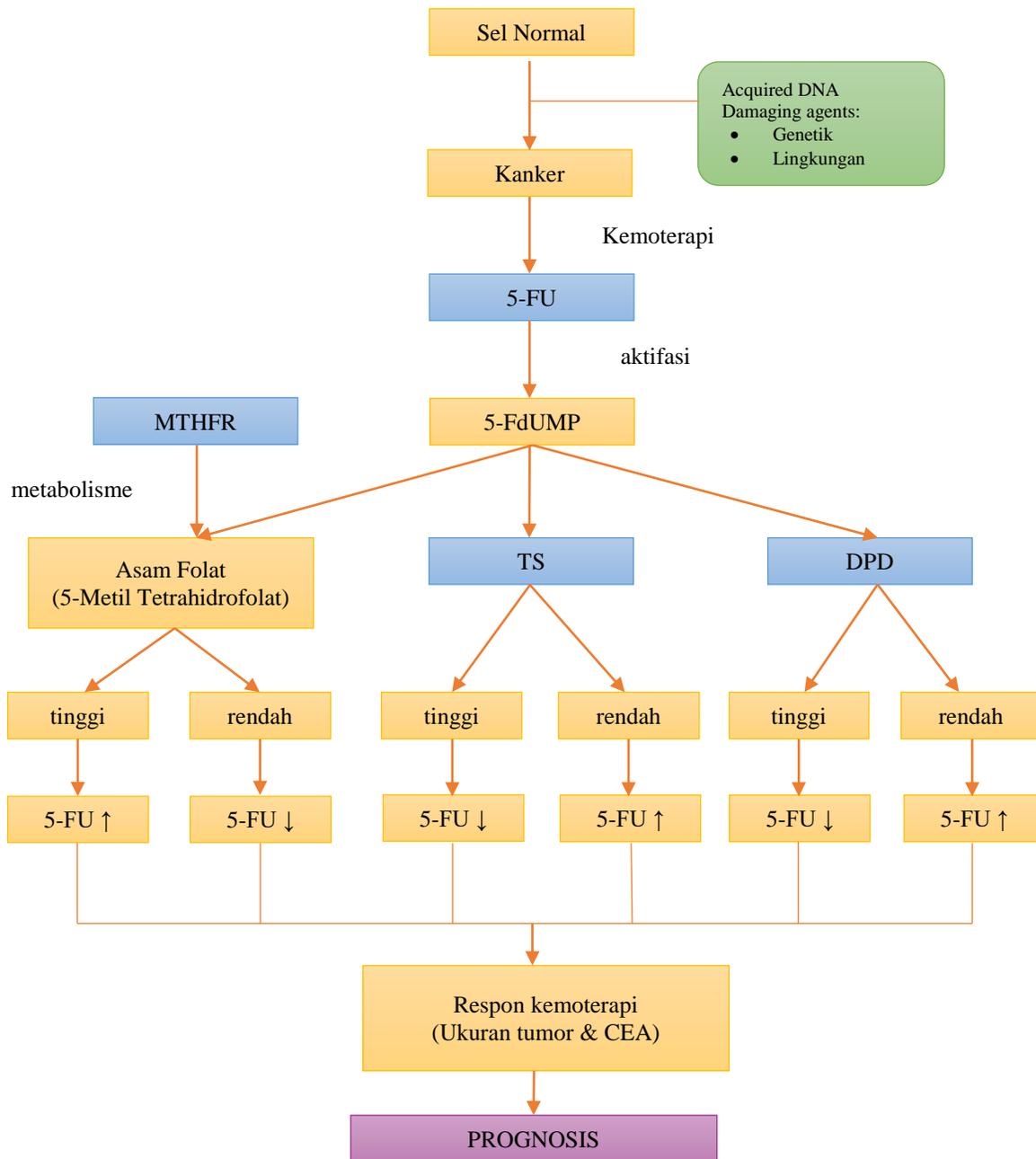
Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa variasi antar individu dalam metabolisme obat dapat mempengaruhi kemanjuran obat antikanker dengan mempengaruhi aktivitas enzim terkait. MTHFR yang telah ditemukan terkait dengan metabolisme 5-FU terbaru dijadikan sebagai enzim kunci dalam metabolisme asam folat-homocysteine yang mengkatalisis konversi *5,10-methylenetetrahydrofolate* menjadi *5-methylenetetrahydrofolate*. Gen yang mengekspresikan MTHFR terletak pada kromosom 1p dan beberapa lokus *single nucleotide polymorphism* (SNP) yang berasosiasi dengan aktivitas enzim terdapat pada gen tersebut. (Tang *et al.*, 2018) Di antara lokus SNP tersebut, polimorfisme pada *MTHFR C677T (rs1801133)* paling banyak diselidiki (Zhao, Li and Kong, 2015). Meskipun serangkaian penelitian telah dilakukan untuk menguji hubungan polimorfisme MTHFR C677T dengan hasil klinis pasien GC yang diobati dengan kemoterapi berbasis 5-FU, hasilnya tidak konsisten dan tidak meyakinkan. Oleh karena itu, kami melakukan metaanalisis untuk mengevaluasi hubungan polimorfisme MTHFR C677T dengan prognosis dan toksisitas pasien GC yang diobati dengan kemoterapi berbasis 5-FU. (Tang *et al.*, 2018)

5-FU terutama bekerja melalui FdUMP yang menghambat TS dan sintesis DNA berikutnya melalui pembentukan kompleks terner yang tidak aktif antara TS, FdUMP dan donor metil mereduksi folat 5-10 CH_2FH_4 . Stabilitas kompleks terner ini ditingkatkan dengan peningkatan konsentrasi CH_2FH_4 . Dalam berbagai studi eksperimental dan klinis telah menetapkan bahwa sitotoksitas 5-FU yang optimal membutuhkan konsentrasi tumor CH_2FH_4 yang meningkat. Oleh karena itu, studi klinis telah menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi

ketika 5-FU dikaitkan dengan asam folinat, prekursor CH_2FH_4 . (Etienne-Grimaldi *et al.*, 2007)



II. 9. KERANGKA TEORI



Sel normal yang terpapar berbagai rangsangan onkogenik yaitu faktor genetik maupun alami transformasi dan menjadi sel kanker. Sel imun tubuh tidak dapat lagi artinya untuk membunuh sel kanker, sehingga perlu dilakukan tindakan terapi yang merupakan penatalaksanaan utama bagi tumor.

Kemoterapi yang merupakan penggunaan obat-obatan atau zat kimia untuk mengobati kanker bertujuan untuk menghentikan pertumbuhan sel kanker atau membunuh sel kanker yang sudah ada. Obat kemoterapi berkerja menghambat pembelahan sel, merusak DNA, atau memicu kematian sel. Jenis kemoterapi yang diberikan salah satunya adalah *5-FU (5-Fluorouracil)*. 5-FU sendiri memiliki efek sitotoksisitas yang tinggi dan menyebabkan kematian sel normal.

5-FU diubah menjadi metabolit aktifnya yaitu *5-FdUMP (5-Fluorodeoxyuridine monophosphate)*, yang kemudian berikatan dengan *TS (Thymidilate Synthase)* dan membentuk kompleks yang tidak dapat dipecahkan. Hal ini menghambat fungsi normal TS, yang diperlukan untuk produksi dTMP. Akibatnya sel-sel kanker mengalami kekurangan dTMP yang diperlukan untuk sintesis DNA.

5-FU juga berikatan dengan *DPD (Dihydropyrimidine dehydrogenase)*. DPD merupakan enzim yang memainkan peran penting dalam metabolisme 5-FU. DPD bertanggungjawab untuk mengubah sebagian besar 5-FU menjadi *DHFU (Dihidrofluorouracil)* yang merupakan langkah awal dalam metabolisme 5-FU. Aktivitas DPD ini mempengaruhi tingkat dan kecepatan penghilangan 5-FU dari tubuh. Beberapa variasi genetik tertentu dapat menghasilkan tingkat DPD yang tinggi atau rendah. Tingkat DPD yang tinggi dapat menghasilkan metabolisme 5-FU yang lebih cepat, sementara tingkat DPD yang rendah dapat menyebabkan penumpukan 5-FU dalam tubuh.

MTHFR (Metilenetetrahidrofolat reductase) adalah enzim yang terlibat dalam metabolisme asam folat dan siklus metilase. Peran utamanya untuk mengonversi *5,10-metilenetetrahidrofolat* menjadi *5-metiltetrahidrofolat*, yang penting untuk pembentukan metionin



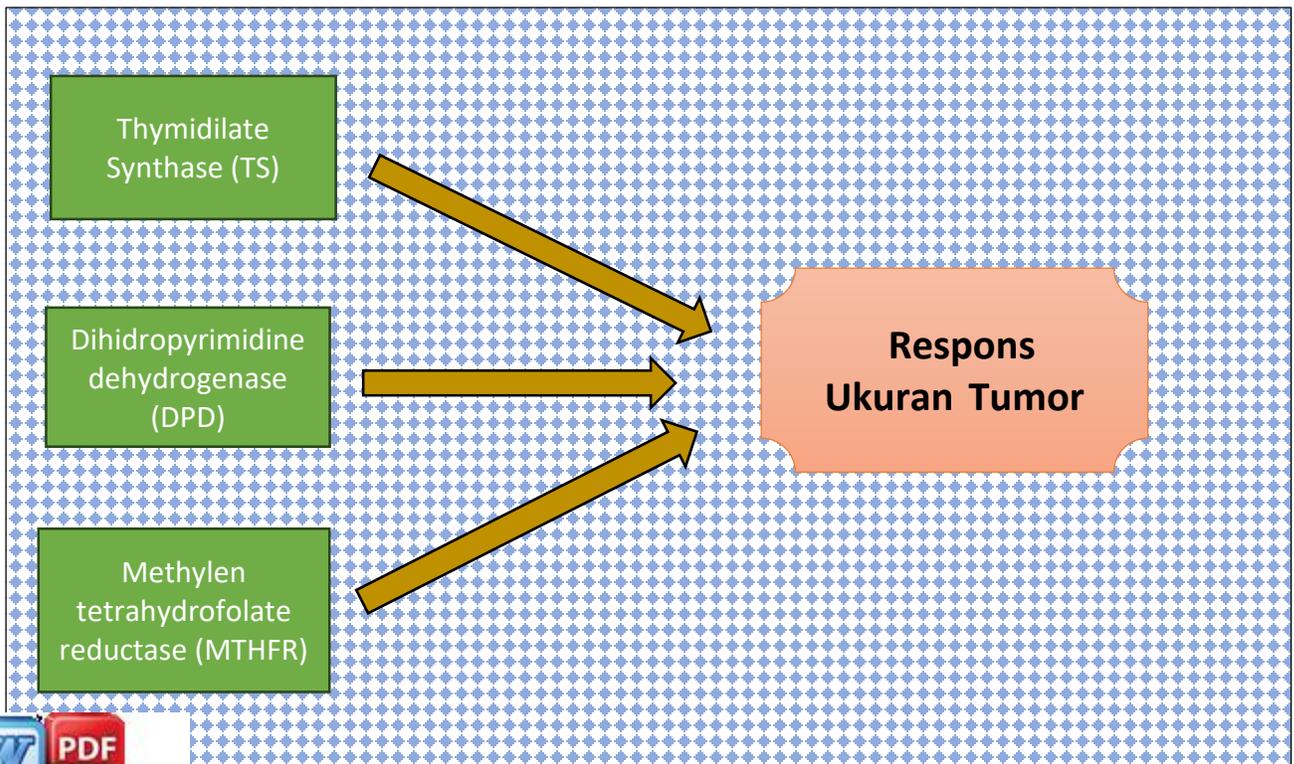
MTHFR memainkan peran penting dalam jalur asam folat dengan mengonversi at tertentu menjadi bentuk aktifnya yang dibutuhkan untuk sintesis DNA.

Gangguan dalam jalur asam folat dapat mempengaruhi respon terhadap 5-FU karena 5-FU memanfaatkan jalur asam folat untuk menghasilkan metabolit yang aktif.

Pada akhirnya aktivitas ekspresi TS maupun DPD yang tinggi cenderung memiliki respons yang lebih rendah terhadap 5-FU dan sebaliknya. Namun pada aktivitas ekspresi MTHFR yang tinggi cenderung memiliki respons yang lebih rendah terhadap 5-FU.

Dengan hasil respons terhadap 5-FU yang lebih rendah atau tinggi didalam sel kanker akan memberikan hasil keluaran berupa ukuran tumor yang mengecil atau tidak mengecil dan nilai CEA yang tinggi atau rendah, sehingga memberikan prognosis bagi keberhasilan dalam pemberian terapi.

II. 10. KERANGKA KONSEP



KETERANGAN



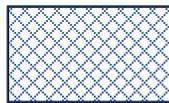
Variabel Prediktor (Variabel independent)



Variabel Outcome (Variabel dependent)



Hubungan antar variable



Pasien KKR dengan therapy XELOX

II.11. Hipotesis Penelitian

- Rendahnya ekspresi *thymidilate sintase (TS)*, meningkatkan efektifitas 5FU pada pasien KKR.
- Rendahnya ekspresi *dihidropyrimidine dehydrogenase (DPD)*, meningkatkan efektifitas 5FU pada pasien KKR.
- Tingginya ekspresi *methylenetetrafolate dehydrogenase (MTHFR)*, meningkatkan efektifitas 5FU pada pada pasien KKR.

