PERBANDINGAN KADAR 8-HYDROXY-DEOXYGUANOSINE PADA KANKER SERVIKS STADIUM LANJUT SEBELUM DAN SETELAH KEMOTERAPI

LEVELS OF 8-HYDROXY-DEOXYGUANOSINE ON CERVICAL CANCER ADVANCED STAGES BEFORE AND AFTER CHEMOTHERAPY

SARDINA



KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP.1)
PROGRAM STUDI ILMU OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020

PERBANDINGAN KADAR 8-HYDROXY-DEOXYGUANOSINE PADA KANKER SERVIKS STADIUM LANJUT SEBELUM DAN SETELAH KEMOTERAPI

COMPARISON OF 8-HYDROXY-DEOXYGUANOSINE LEVELS IN CERVICAL CANCER ADVANCED STAGES BEFORE AND AFTER CHEMOTHERAPY

Tesis

Sebagai salah satu syarat menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Spesialis dan mencapai sebutan
Spesialis Obstetri dan Ginekologi

Disusun oleh

SARDINA

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI ILMU OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020

TESIS

PERBANDINGAN KADAR 8-HYDROXY-DEOXYGUANOSINE PADA KANKER SERVIKS STADIUM LANJUT SEBELUM DAN SETELAH **KEMOTERAPI**

Disusun dan diajukan oleh :

SARDINA

Nomor Pokok: C105215107

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis Pada tanggal 06 April 2020 Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

MENYETUJUI

KOMISI PENASEHAT

Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, SpOG(K)

Pembimbing Utama

Dr. dr. Rina Previana A, SpOG(K)

Pembimbing Anggota

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Dekan

Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi

dr. Uleng Bahrun, Sp.PK(K).,Ph.D

NIP. 19680518 199802 2 001

Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes

Kakutta NIP. 19671103 199802 1 001

4

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama

: Sardina

Nomor Pokok

: C105215107

Program Studi

: Obstetri Dan Ginekologi

Konsentrasi

: Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu

Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

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

Makassar, 06 April 2020

Yang menyatakan,

ETERAL

Sardina

PRAKATA

Dengan memanjatkan puji syukur ke khadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan perlindungan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini sebagaimana mestinya sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan spesialis pada Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis bermaksud memberikan informasi ilmiah tentang perbandingan kadar 8-hydroxyguanosine (8-OHdG) pada kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi yang dapat menjadi bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, SpOG(K) sebagai pembimbing I dan Dr. dr. Rina Previana, SpOG(K) sebagai pembimbing II dan atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dr. dr. St. Nur Asni, SpOG sebagai pembimbing statistik yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam bidang statistik dan pengolahan data dalam penelitian ini. Terima kasih penulis juga sampaikan kepada Dr. dr. St. Maisuri T. Chalid, SpOG(K) dan Dr. dr. Sharvianty Arifuddin, SpOG(K) sebagai penyanggah yang memberikan kritik dan saran dalam penelitian ini.

Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesarbesarnya kepada :

- Ketua Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, SpOG(K), Ketua Program Studi Dr. dr. Deviana S. Riu, SpOG(K), Sekretaris Program Studi Dr. dr. Nugraha UP, SpOG(K) dan seluruh staf pengajar beserta pegawai yang memberikan arahan, dukungan dan motivasi selama pendidikan.
- 2. Penasihat akademik dr. Nuraini Abidin, SpOG(K) yang telah mendidik dan memberikan arahan selama mengikuti proses pendidikan.
- Teman sejawat peserta PPDS-1 Obstetri dan Ginekologi atas bantuan dan kerjasamanya selama proses pendidikan
- 4. Paramedis Departemen Obstetri dan Ginekologi di seluruh rumah sakit jejaring atas kerjasamanya selama penulis mengikuti pendidikan.
- Pasien yang telah bersedia mengikuti penelitian ini sehingga penelitian dapat berjalan sebagaimana mestinya.
- 6. Terima kasih yang tulus kepada ibunda Hj. Samimma, SKM, M.Kes, mertua Epy Heriyus, suami tercinta dr Romy Hefta Mulya, anakanakku (Aqilah Aphrodite M, Aathifah Callysta M dan Ayasya Adinda M), dan keluarga besar yang telah memberikan kasih sayang yang tulus, dukungan, doa serta pengertiannya selama penulis mengikuti pendidikan.

7

7. Semua pihak yang namanya tidak tercantum namun telah banyak

membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Semoga tesis memberikan manfaat dalam perkembangan Ilmu

Obstetri dan Ginekologi di masa mendatang.

Makassar, 06 April 2020

Sardina

ABSTRAK

SARDINA. Perbandingan kadar 8-hydroxyguanosine pada kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi (dibimbing oleh Syahrul Rauf, Rina Previana, St. Nur Asni).

Latar belakang: Kanker serviks merupakan kanker yang paling sering terdiagnosis dan penyebab ketiga pada kematian wanita di negara-negara miskin dan berkembang. Kadar 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) telah banyak digunakan sebagai biomarker kerusakan DNA oksidatif termasuk pada kanker serviks. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kadar 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) sebagai penanda stress oksidatif pada kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi.

Metode: Penelitian *prospektif* ini melibatkan 18 pasien stadium IIB, 8 pasien stadium IIIA, 9 pasien stadium IIIB dan 2 pasien stadium IIIC. Kadar 8-OHdG diukur dengan metode ELISA.

Hasil: Hasil pengukuran diperoleh rerata kadar 8-OHdG sebelum kemoterapi pada stadium II 8,14±9,14 ng/ml dan pada stadium III 8,07±8,79 ng/ml, Rerata kadar 8-OHdG setelah kemoterapi pada stadium II 24,24±12,46 ng/ml dan pada stadium III 24,67±13,85 ng/ml. Kadar 8-OhdG meningkat bermakna (*p*<0,05) pada stadium IIA, IIIA dan IIIB. Kadar 8-OhdG berbeda bermakna antara SCC dan adenocarcinoma. Demikian juga pada tipe diferensiasi baik, sedang dan non klasifikasi.

Kesimpulan: Kadar 8-OHdG meningkat signifikan pada stadium IIB, IIIA, dan IIIB setelah kemoterapi.

Kata kunci: 8-hydroxy-deoxyguanosine, kanker serviks, stadium lanjut

ABSTRACT

SARDINA. Comparison of 8-hydroxyguanosine levels in advanced cervical cancer before and after chemotherapy (supervised by Syahrul Rauf, Rina Previana, St. Nur Asni).

Background: Cervical cancer is the most commonly diagnosed cancer and the third cause of death of women in poor and developing countries. The 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) levels have been widely used as biomarkers of oxidative DNA damage including cervical cancer. This study aims to assess the levels of 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) as a marker of oxidative stress in advanced cervical cancer before and after chemotherapy.

Methods: This prospective study involved 18 stage IIB patients, 8 stage IIIA patients, 9 stage IIIB patients and 2 stage IIIC patients. 8-OHdG levels were measured by the ELISA method.

Results: The measurement results obtained a mean level of 8-OHdG before chemotherapy at stage II 8.14 \pm 9.14 ng / ml and at stage III 8.07 \pm 8.79 ng / ml, the average level of 8-OHdG after chemotherapy at stage II 24.24 \pm 12.46 ng / ml and at stage III 24.67 \pm 13.85 ng / ml. 8-OhdG levels increased significantly (p <0.05) in stage IIA, IIIA and IIIB. 8-OhdG levels were significantly different between SCC and adenocarcinoma. Likewise, the type of differentiation is good, moderate and non-classification.

Conclusion: 8-OHdG levels increased significantly in stage IIB, IIIA, and IIIB after chemotherapy.

Keywords: 8-hydroxy-deoxyguanosine, cervical cancer, advanced stage

DAFTAR ISI

| | | | Halaman |
|-------------------------|---------|---------------------|---------|
| HALAMAN | I JUDUI | L | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | | | iii |
| PERNYAT | AAN KI | EASLIAN TESIS | iv |
| PRAKATA | | | V |
| ABSTRAK | | | viii |
| ABSTRAC | т | | ix |
| DAFTAR ISI | | | x |
| DAFTAR 1 | ΓABEL | | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | | | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | | | XV |
| DAFTAR A | ARTI LA | MBANG DAN SINGKATAN | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN | | | |
| | A. | Latar Belakang | 1 |
| | B. | Rumusan Masalah | 3 |
| | C. | Tujuan Penelitian | 3 |
| | D. | Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | | | |
| | A. | Kanker serviks | 5 |
| | В | Stres oksidatif | 22 |

| | C. | 8-Hydroxy-Deoxyguanosine (8-OHdG) | 28 |
|----------------|------|---|----|
| | D. | Stres oksidatif dan karsinogenesis | 30 |
| | E. | Kerangka teori | 34 |
| | F. | Kerangka konsep | 35 |
| | G. | Defenisi operasional | 36 |
| BAB III | METO | DDE PENELITIAN | |
| | A. | Rancangan penelitian | 38 |
| | B. | Tempat dan waktu penelitian | 38 |
| | C. | Populasi dan sampel penelitian | 38 |
| | D. | Kriteria penelitian | 39 |
| | E. | Metode pengumpulan data | 40 |
| | F. | Alur penelitian | 43 |
| | G. | Izin penelitian dan kelayakan etik penelitian | 43 |
| | H. | Waktu penelitian | 44 |
| | l. | Personalia penelitian | 44 |
| BAB IV HASI | | L DAN PEMBAHASAN | |
| | A. | Hasil | 45 |
| | B. | Pembahasan | 49 |
| BAB V | KESI | MPULAN DAN SARAN | |
| | A. | Kesimpulan | 60 |
| | B. | Saran | 60 |
| DAFTAR PUSTAKA | | A | 61 |

| LAMPIRAN | 71 |
|-------------------------------------|----|
| REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK | 77 |
| KETERANGAN MENYELESAIKAN PENELITIAN | 78 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | | | | | Halaman |
|-------|-----------------|--------------|---------------|---------------|--------|---------|
| 1 | Karakte | eristik samp | el penelitian | | | 46 |
| 2 | Kadar kanker | | berdasarkan | karakteristik | pasien | 47 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | | Halaman |
|--------|--|---------|
| 1 | Struktur genom HPV (Munoz, 2006) | 10 |
| 2 | Aktifitas onkogenik protein E6 dan E7 pada HPV (McLaughin- Drubin, 2009) | 13 |
| 3 | Infeksi HPV pada epitel skuamosa serviks (Mnunoz, 2006) | 15 |
| 4 | Stadium kanker serviks berdasarkan FIGO 2018 (Bhatla, 2018) | 20 |
| 5 | Produksi ROS dan RNS (Wong, 2011). | 23 |
| 6 | Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar ROS intraseluler (Rodic, 2018). | 27 |
| 7 | Struktur kimia 8-OHdG dan analognya | 28 |
| 8 | Hubungan antara pembentukan ROS / RNS dan kanker | 31 |
| 9 | Hubungan antara kadar ROS dan kanker | 33 |
| 10 | Kerangka teori | 34 |
| 11 | Kerangka konsep | 35 |
| 12 | Kurva standar kadar 8-OHdG | 42 |
| 13 | Alur penelitian | 43 |
| 14 | Kadar 8-OHdG sebelum dan setelah kemoterapi | 48 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor | | Halaman |
|-------|---|---------|
| 1 | Naskah penjelasan untuk responden (subyek) | 84 |
| 2 | Formulir persetujuan mengikuti penelitian setelah mendapat penjelasan (informed consent)) | 86 |
| 3 | Formulir penelitian | 88 |
| 4 | Rekomendasi persetujuan etik | 90 |
| 5 | Surat keterangan selesai melakukan penelitian | 91 |

DAFTAR ARTI LAMBANG/SINGKATAN

Arti dan keterangan

| Lambang/Singkatan | Arti dan keterangan |
|-------------------|---|
| AP | Activator protein |
| DNA | Deoxyribonucleid acid |
| CIN | Cervical intraepithelial neoplasia |
| CTLs | Cytotoxictlymphocytes |
| DISC | Death-inducing signaling complex |
| DMPA | Depo-medroxyprogesterone acetate |
| EDAR | Ectodysplasin A receptor |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| FIGO | The International Federation of Gynecology and Obstetrics |
| GPX | Glutathione peroxidase |
| GSR | Glutathione reductase |
| GST | Glutathione S-transferase |
| HPLC-MS | High performance liquid chromatography - mass spectrophotometry |
| HPV | Human papillomavirus |
| HSIL | High-grade squamous intraepithelial lesion |
| ICAD | Inhibitor of Caspase activateddnase |
| ICAM | Intercellular adhesion protein |
| ICESCC | The International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer |
| IgG | Immunoglobulin G |
| Keap | Kelch like ECH associated protein |
| LSIL | Low-grade squamous intraepithelial lesion |
| MMP | Matrix metalloproteinases |
| MPT | Mitochondrial permeability transition |
| | |

NF Nuclear factor

NAD(P)H

Lambang/singkatan

NGFR Nerve growth factor receptor

Nrf Nuclear factor erythroid 2-related factor

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NSCLCs Nonsmall cell lung carcinomas

PBS Phosphate buffer saline

PPAR Peroxisome proliferator-activated receptor

RNS Reactive nitrogen species

RONS Reactive oxygen nitrogen spescies

ROS Reactive oxygen species
SCC Squamous cell carcinoma
SOD Superoksida dismutase
TLR4 Toll-like receptor 4

TNF Tumor necrosis factor

TRAIL TNF-related apoptosis inducing ligand receptor

TSP Trombospondin XO Xanthine oxidase

BABI

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker serviks merupakan kanker yang paling sering terdiagnosis dan penyebab ketiga pada kematian wanita di negara-negara miskin dan berkembang (Torre et al., 2012). Pada tahun 2015, diperkirakan terjadi 607.402 kasus kanker serviks invasif baru yang mempengauhi 493.668 wanita berusia <65 tahun dengan 320.832 kasus kematian (Ferlay, 2010). Estimasi insiden dan mortalitas kanker serviks telah menurun di negara-negara yang telah mengembangkan program skrining dengan baik (Forman et al., 2012). Bukti-bukti ilmiah dari studi virologi, molekuler, klinis dan epidemiologis telah mengidentifikasi Human Papillomavirus (HPV) sebagai agen etiologi utama pada kanker serviks (Woodman, 2007; zur Hausen, 2009).

Penelitian pada karsinogenesis menunjukkan stres oksidatif berdampak buruk terhadap sel dan *reactive oxygen species* (ROS) berimplikasi terhadap patogenesis kanker (Klaunig, 2004). Stres oksidatif menggambarkan perubahan terhadap pro-oksidan dalam keseimbangan pro-oksidan/antioksidan yang dapat terjadi sebagai hasil peningkatan metabolisme oksidatif. Peningkatan stres oksidatif pada tingkat seluler dapat

timbul sebagai konsekuensi banyak faktor, termasuk paparan alkohol, obatobatan, trauma, suhu dingin, infeksi, diet yang buruk, toksin, radiasi, atau aktivitas fisik yang berat (Kolanjiappan, 2002). Penelitian oleh Looi dkk menunjukkan tingginya tingkat kerusakan oksidatif pada pasien-pasien *Cervical intraepithelial neoplasia (CIN)* dan karsinoma serviks (Looi et al., 2008). Penelitian lainnya juga menunjukkan peningkatan lipid peroksidasi sebagai indikator *stres* oksidatif pada pasien *cervical squamous cell carcinoma* (Beevi, 2007).

Kemoterapi dan terapi radiasi adalah strategi pengobatan yang paling umum digunakan dalam kanker serviks. Namun, pengobatan dengan strategi ini menyebabkan kemoterapi/radioresisten dan kelangsungan hidup keseluruhan rata-rata selama 5 tahun untuk kasus kanker serviks tetap tidak menguntungkan. Oleh karena itu, identifikasi mekanisme molekuler yang terlibat dalam patogenesis kanker serviks dapat meningkatkan pendekatan diagnostik dan terapeutik. Beberapa faktor telah yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan penyakit termasuk merokok, kontrasepsi oral, imunosupresi, serta infeksi dengan *Chlamydia trachomatis* dan HPV (Andersson et al., 2001).

Pengukuran kadar 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) telah banyak digunakan sebagai biomarker kerusakan DNA oksidatif dan pengukuran kadar 8-OHdG diaplikasikan untuk mengevaluasi beban stres oksidatif (Gao et al. 2004; Hwang dan Bowen 2007). Residu 8-OHdG dapat dikeluarkan dari

DNA oleh sistem perbaikan enzimatik sehingga dapat memasuki sirkulasi darah dan ekskresi selanjutnya dalam urin (Ock et al., 2012). Oleh karena itu, kadar 8-OHdG dalam darah dan/atau urin pasien dapat diukur sebagai penanda kerusakan DNA oksidatif. Penelitian menunjukkan bahwa kadar 8-OHdG meningkat pada berbagai tipe kanker (Miyake et al. 2004; Weiss et al. 2005; Diakowska et al. 2007; Tanaka et al. 2008). Penelitian tentang kadar 8-OHdG pada kanker serviks dilakukan pada sampel urin penderitanya yang belum melakukan kemoterapi sehingga efek kemoterapi terhadap kadar 8-OHdG belum diketahui (Romano et al., 2000, Sgambato, 2004; Looi et al., 2008; Jelic et al., 2018). Penelitian yang mengukur kadar serum 8-OHdG pada kanker serviks di Makassar belum pernah dilakukan.

B. Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan antara kadar stres oksidatif pada kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui perbandingan kadar stres oksidatif pada penderita kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi

- 2. Tujuan Khusus
- a. Mengukur kadar 8-OHdG pada penderita kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi.
- b. Membandingkan kadar 8-OHdG pada kanker serviks stadium lanjut sebelum dan setelah kemoterapi.

D. Manfaat Penelitian

- Memberikan informasi ilmiah tentang kadar 8-OHdG pada kanker serviks stadium lanjut.
- 2. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya untuk analisis faktor-faktor yang terlibat dalam karsinogenesis pada kanker serviks stadium lanjut .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. KANKER SERVIKS

Kanker serviks didefinisikan sebagai kanker pada mulut rahim/serviks (Müller-Schiffmann, 2006). Di seluruh dunia, kanker serviks adalah kanker kedua setelah kanker payudara sebagai keganasan yang paling banyak diderita wanita baik insiden maupun mortalitasnya dan menyebabkan 275.000 kasus kematian per tahun. Lebih dari 85% dari kasus baru terdiagnosis pada wanita di negara-negara berkembang dan miskin.

Serviks terletak di bagian bawah rahim, berbentuk silindris, mengarah superior-anterior dinding vagina, dan berhubungan dengan vagina melalui kanal endoservikalis yang berakhir di os eksternal yang terletak di bagian atas vagina. Kanker serviks dapat berasal dari mukosa dari permukaan leher rahim atau dari dalam kanalis. Karsinoma serviks uterus tumbuh secara lokal dan dapat mengalami perluasan ke uterus dan dan jaringan paraservikal serta organ panggul. Kanker serviks dapat menyebar ke area kelenjar getah bening dan kemudian hanya bermetastasis secara hematogen ke struktur yang jauh. Area penyebaran/metastasis kanker serviks yang paling umum

adalah nodus paraaorta, mediastinal dan supraklavikular, paru-paru, hati dan tulang.

1. Epidemiologi

Kasus baru kanker serviks diperkirakan 527.600 dan menyebabkan 265.700 kematian di seluruh dunia pada tahun 2012. Kanker serviks merupakan kanker yang paling sering terdiagnosis dan penyebab ketiga pada kematian wanita di negara-negara miskin dan berkembang. Tingkat insiden tertinggi terdapat di sub-Sahara Afrika, Amerika latin, Karibia dan Melanesia sedang insiden terendah terdapat di Asia Barat, Australia/Selandia Baru dan Amerika Utara. Hampir 90% kematian karena kanker serviks terdapat di negara-negara berkembang: 60.100 kasus kematian di Afrika, 28.600 kasus di Amerika Latin dan Karibia serta 144.400 kasus di Asia. India sebagai negara kedua dengan penduduk terbanyak di dunia mengalami 25% kasus kematian karena kanker serviks (67.500 kasus). Di Afrika bagian Timur, Tengah dan Selatan kanker serviks merupakan penyebab utama kematian pada wanita seperti di Melanesia. Variasi geografis yang luas pada insiden kanker serviks menunjukkan perbedaan pada ketersediaan metode skrining yang memungkinkan deteksi dan pengangkatan lesi-lesi prakanker serta prevalensi infeksi HPV (Torre et al., 2015; Vaccarella et al., 2013; Bruni et al., 2010; Forman et al., 2012).

Prevalensi infeksi HPV (semua tipe) sangat bervariasi; prevalensi tertinggi (21%) di Afrika, 16% di Amerika Latin dan Karibia, 9% di Asia dan terendah (5%) di Amerika Utara (Bruni et al., 2010). Di beberapa negara Eropa, prevalensi kanker serviks menurun sebanyak 65% selama 40 tahun terakhir karena program skrining telah lama dilakukan. Contohnya, prevalensi kanker serviks menurun dari 18,7 per 100.000 pada tahun 1970 menjadi 9,6 per 100.000 tahun 2011 di Norwegia. Sebaliknya, prevalensi kanker serviks dilaporkan meningkat di Uganda dan beberapa negara di Eropa Timur (Estonia, Lithuania dan Bulgaria) (Forman et al., 2012). Kanker serviks sebagian besar diderita oleh wanita usia muda di beberapa negara meliputi Eropa, Asia Tengah, Jepang dan Cina (Vaccarella et al., 2013). Penelitian ini menunjukkan peningkatan prevalensi HPV risiko tinggi karena perubahan perilaku seksual (Forman et al., 2012).

2. Etiologi dan faktor risiko

Bukti-bukti ilmiah dari studi virologi, molekuler, klinis dan epidemiologis telah mengidentifikasi HPV sebagai penyebab utama pada kanker serviks (Woodman, 2007; zur Hausen, 2009). Infeksi persisten tipe risiko tinggi HPV pada serviks uteri merupakan penyebab utama kanker serviks invasif dan prekursornya (Bosch, 2003). Infeksi HPV tipe 16 dan 18 berkorelasi dengan tingginya risiko *cervical intraepithelial neoplasia* (CIN) 2 atau lebih berat (≥CIN2). HPV tipe 16 dan 18 merupakan penyebab pada 70% dari semua

kanker serviks invasif kemudian HPV tipe 45, 31 dan 33 (Bosch, 2003; Huh et al., 2015). Penelitian menunjukkan HPV-16 lebih sering terdiagnosis pada CIN3 pada wanita berusia muda dibandingkan sebaliknya (Castle et al., 2010).

Meskipun banyak wanita terinfeksi HPV servikal, sebagian besar tidak berkembang menjadi kanker serviks. Beberapa faktor penyerta lainnya juga terlibat dalam perkembangan kanker serviks. Faktor-faktor penyerta tersebut yaitu faktor eksogen atau lingkungan seperti penggunaan kontrasepsi hormonal, merokok, paritas dan infeksi yang menyertai again-agen penyakit menular seksual; faktor viral seperti infeksi tipe spesifik, ko-infeksi dengan HPV tipe lain, varian HPV, *viral load* dan integrasi virus; dan faktor *host* meliputi hormon endogen, faktor genetik dan faktor lainnya yang berhubungan dengan respon imun (Munoz et al., 2006).

Usia merupakan faktor utama infeksi HPV pada kanker serviks. Prevalensi wanita usia 20-an tahun terinfeksi HPV risiko tinggi maupun rendah antara 20% - 40% (Herrero et al., 2005). Insiden kumulatif infeksi HPV pada wanita aktif seksual usia 15-19 tahun selama 3 tahun yaitu >40 %. Penelitian juga membuktikan infeksi HPV tipe 16 paling tinggi terjadi pada usia 25-40 tahun dibandingkan HPV tipe 18 untuk kelompok usia yang sama kemudian risiko infeksi menurun seiring pertambahan usia (Tiggelaar et al., 2012; de Sanjose et al., 2013).

Infeksi HIV adalah kofaktor risiko kanker serviks pada wanita dengan infeksi HPV dan seperti dalam semua populasi, perlu dilakukan promosi skrining kanker serviks pada populasi dengan prevalensi infeksi HIV tinggi (Adjorlolo-Johnson et al., 2006). The International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer (ICESCC) menunjukkan paritas meningkatkan risiko karsinoma servikal invasif selain jumlah pasangan seksual dan usia pada hubungan seks pertama kali. Usia dini pada kehamilan pertama aterm berkorelasi dengan karsinoma serviks invasive dan CIN3 in situ. Kanker serviks lebih sering terjadi pada kehamilan awal. Paritas meningkatkan risiko kanker serviks melalui mekanisme mempertahankan zona transformasi pada eksoserviks selama beberapa tahun yang membantu paparan terhadap HPV juga karena adanya faktor hormonal dan imunitas selama kehamilan. IgG memmicu proliferasi sel kanker serviks melalui peningkatan persinyalan TLR4 (toll-like receptor 4). Persinyalan TLR4 berperan dalam memicu perkembangan sebagian besar inflamasi pada kanker seperti kanker serviks (Wang et al., 2014).

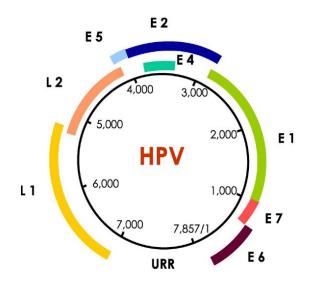
Data penelitian epidemiologi menunjukkan hormon seks endogen dan eksogen juga menyebabkan wanita lebih rentan terhadap kanker serviks disertai infeksi HPV. Estrogen meningkatkan ekpresi protein onkogenik E6 dan E7 pada HPV yang merupakan pemicu utama kanker serviks (Chung, 2010). Hormon-hormon steroid (estrogen dan progesteron) berperan dalam inisiasi dan progresi kanker serviks dalam proses karsinogenesisnya. Wanita

yang mengkonsumsi estradiol dilaporkan mengalami lesi HSIL dan berkembang menjadi kanker serviks (de Villier, 2003; Elson et al., 2000).

Faktor risiko kanker serviks juga meningkat karena penggunaan kontrasepsi hormonal. Penggunaan kontrasepsi oral (progestagen-only pill) dan injeksi (DMPA) selama lebih dari 5 tahun meningkatkan risiko kanker serviks (Urban, 2012).

3. Human Papilloma Virus (HPV)

Infeksi dari HPV tipe tertentu sebagai penyebab kanker serviks telah diketahui dengan jelas. Dalam skala global, kanker serviks merupakan jenis kanker kedua yang paling banyak diidap oleh wanita. Dengan demikian, HPV tipe tertentu merupakan salah satu karsinogen infeksius penting pada manusia (zur Hausen, 2009).



Gambar 1. Struktur genom HPV (Munoz, 2006).

Struktur DNA HPV (gambar 2.1) mengandung 8000 pasangan basa (bp) molekul pada untai ganda sirkuler yang terdiri dari tiga area yaitu (Munoz, 2006; Sahasrabuddhe, 2011; Rautava, 2012) :

- a. *Upper regulatory region* (URR) mengandung 1000 bp yang tidak mengkode protein tetapi mengandung cis-elemen untuk regulasi ekspresi gen, replikasi genom dan pembentukan partikel virus
- b. 'Early' region yang mengandung protein penyandi (E1, E2, E4, E5, E6,
 E7) untuk replikasi DNA virus dan perakitan partikel virus baru yang dihasilkan dalam sel yang terinfeksi
- c. *'Late' region* yang menyandi protein kapsid virus (L1 dan L2)

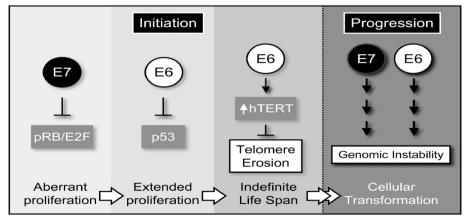
Human papillomavirus (HPV) merupakan karsinogen penting pada manusia. Terdapat 5 genus utama HPV yaitu Alpha-papillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus dan Nupapillomavirus. Berdasarkan situs targetnya, terdapat 2 kelompok HPV yaitu HPV yang menginfeksi sel-sel epitel dari mukosa genital (hanya genus Alpha-papillomavirus) dan HPV yang menginfeksi mukosa oral atau kulit/kutaneus (semua genus) (Tabel 1) (de Villiers et al., 2004).

HPV kutaneus memicu proliferasi bersifat jinak (kutil dan papilloma) yang menurun secara spontan dalam 1 sampai 5 tahun. Keganasan lesi hanya dijumpai pada penderita epidermodysplasia verruciformis (EV) yang terinfeksi oleh HPV risiko tinggi yaitu HPV-5 dan 8. Kelompok HPV mukosa

merupakan penyebab paling sering pada infeksi menular seksual di dunia. Diperkirakan 291 juta wanita mengalami infeksi HPV pada serviks (adanya DNA HPV). Sebagian besar wanita diprediksikan terinfeksi paling tidak 1 kali dari salah satu jenis HPV dan bersama dengan HPV 16 dan 18 menyebabkan 70% kasus kanker serviks. HPV mukosa dikelompokkan atas HPV risiko rendah (low-risk) dan HPV risiko tinggi (high-risk) berdasarkan kemampuan onkogeniknya. HPV risiko rendah (HPV 6 dan 11) menyebabkan kutil genitalia atau kondiloma dan CIN low grade sedangkan HPV risiko tinggi (HPV 16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58 dan -59) menyebabkan kanker anogenital dan precursor lesi neoplastik (Tabel 1). Lesi persisten yang diinduksi oleh HPV risiko tinggi (terutama HPV 16 dan 18) pada kasus tertentu berkembang menjadi karsinoma serviks invasif. Selain itu, DNA HPV sebagian besar terdeteksi pada adenokarsinoma, karsinoma adenoskuamosa dan sel skuamosa karsinoma yang didahului dengan lesi-lesi displastik yang sama dengan lesi dari CIN2 dan CIN3 (de Villiers et al., 2004; Lazarczyk et al., 2009; Bzalava et al., 2013; Groves, 2015).

Faktor etiologik utama pada perkembangan kanker serviks adalah infeksi persisten HPV onkogenik tipe risiko tinggi (zur Hausen , 2009). Kejadian penting pada progresi neoplastik karena infeksi HPV adalah deregulasi ekpresi pola gen normal dari HPV. Peningkatan ekpresi protein E6 dan E7 sebagai protein onkogenik HPV pada epitel basal (gambar 2) menyebabkan efek pro-malignansi dalam kompartemen sel yang

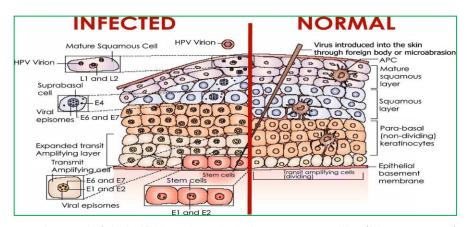
berproliferasi sehingga meningkatkan jumlah virus yang berpenetrasi dan hilangnya diferensiasi epitel (Groves, 2015).



Gambar 2 Aktifitas onkogenik protein E6 dan E7 pada HPV (McLaughlin-Drubin,2009).

Protein E6 dan E7 berbeda pada HPV risiko tinggi dan risiko rendah. Protein E6 bersama dengan protein lainnya yang terikat pada E6 mengubah spektrum luaran biologis yang luas meliputi memodulasi survival sel, transkripsi seluler, diferensiasi sel host, faktor pertumbuhan dependen, respon terhadap kerusakan DNA dan progresi siklus sel. Protein E7 protein berperan sentral dalam siklus hidup papillomavirus pada manusia, pemrograman ulang lingkungan selular sehingga kondusif untuk replikasi virus. Protein E7 dikodekan oleh kanker yang disebabkan oleh HPV yang memiliki aktifitas transformasi kuat bersama dengan protein E6 (Pol, 2013; Roman, 2013).

Siklus hidup HPV diawali dengan infeksi partikel-partikel virus pada lamina basalis epitel, partikel virus melekat dan berpenetrasi ke dalam sel menyebabkan mikro-trauma. Siklus replikasi virus di dalam epitel terdiri dari 2 bagian; bagian pertama genom virus bereplikasi menghasilkan kira-kira 100 kopi partikel virus dan dipertahankan dalam sel yang baru terinfeksi selama waktu yang bervariasi tetapi sel-sel yang tidak terinfeksi masih bereplikasi. Replikasi DNA virus ini diatur oleh protein E1 dan E2. Bagian kedua adalah apabila sel-sel epitel memasuki kompartemen suprabasalis, sel-sel epitel tidak dapat memperbanyak diri sehingga diferensiasi sel tidak terjadi. Papillomavirus bereplikasi dalam kompartemen ini dan pelepasan partikel virus baru terjadi karena disintegrasi sel-sel epitel sebagi konsekuensi dari perubahan lapisan superfisial. Protein virus E6 dan E7 adalah molekul penting dalam proses replikasi HPV. Penelitian menunjukkan interaksi kedua protein ini menginduksi proliferasi dan akhirnya sel-sel virus hidup dan bertransformasi menjadi sel-sel keganasan. E6 dan E7 berikatan dengan pRB dan p53 yaitu molekul utama dalam kontrol siklus sel yang mengalami mutasi pada banyak jenis kanker. E7 yang terikat pada pRB mengaktifkan faktor transkripsi E2F yang memicu ekpresi protein yang penting untuk replikasi DNA. Fase sintesis (S) yang tidak terjadwal secara normal menyebabkan apoptosis sel karena aksi p53; akan tetapi, pada sel-sel terinfeksi HPV, proses ini dinetralkan oleh E6 yang menargetkan p53 untuk degradasi proteolitik. Hal ini mengakibatkan siklus sel kehilangan kontrol dan diferensiasi keratinosit normal mengalami retardasi. Sebagai penyimpangan dari infeksi virus, aktifitas konstan dari protein E6 dan E7 virus menyebabkan instabilitas genomik, akumulasi mutasi onkogen, lebih lanjut hilangnya kontrol pertumbuhan sel dan akhirnya menyebabkan kanker (**Gambar 3**) (Munoz, 2006).



Gambar 3. Infeksi HPV pada epitel skuamosa serviks (Munoz, 2006).

4. Karsinogenesis

Proses karsinogenesis terjadi secara bertahap dan hampir selalu disebabkan oleh infeksi presisten HPV tipe risiko tinggi. HPV tipe onkogenik ini akan menyebabkan infeksi presisten dan mengganggu proses apoptosis sel-sel epitel serviks (Mosckiki et al., 2012). Infeksi HPV persisten menyebabkan lebih dari 500.000 kasus kanker serviks invasif per tahun di seluruh dunia (Ferlay et al., 2010). Gangguan ini akan menyebabkan terjadinya proliferasi sel yang tidak terkontrol dan hilangnya maturasi sel normal dan perkembangannya mengarah ke lapisan permukaan epitel.

Proses displasia yang terjadi secara histopatologi disebut dengan Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN). Nomenklatur CIN didasarkan pada derajat displasia yaitu CIN1, CIN2 dan CIN3. Lesi disebut invasif apabila sel-sel epitelial telah menembus membran basal. Tipe histologi dari kanker serviks yang sering dijumpai adalah 80% squamous cell carcinoma (SSC), 15% adenocarcinoma dan 3-5% adenosquamous carcinoma (Warren et al., 2009).

Tipe 16 dan 18 merupakan HPV tipe risiko tinggi yang menginfeksi 70% kasus kanker serviks. Prevalensi HPV tipe risiko tinggi lebih tinggi pada negara-negara berkembang dibandingkan dengan negara-negara maju. Masa inkubasi sekitar 3-4 minggu hingga beberapa tahun dan infeksi yang terjadi tidak bergejala. Rerata lama infeksi HPV sekitar 4-10 bulan. Sebagian kecil infeksi HPV ini akan persisten dan wanita dengan infeksi persisten HPV tipe risiko tinggi berisiko besar untuk mengalami lesi prakanker derajat tinggi (CIN2/3). Lesi prakanker derajat tinggi merupakan target dari program skrining karena sepertiga lesi prakanker derajat tinggi akan berkembang menjadi kanker serviks invasif dalam kurun waktu 10-20 tahun (Mosckiki et al., 2012).

Kanker serviks terjadi terutama pada zona transformasi serviks. Zona transformasi adalah jaringan melingkar yang terletak pada epitel skuamosa vagina yang mengalami kerusakan dan menggantikan epitel kelenjar dari kanalis endoservikalis. Progresi kanker serviks melalui tahapan berikut : infeksi akut HPV karsinogenik, diikuti dengan adanya virus persisten (bukan

clearance) yang berhubungan dengan perkembangan lesi pra-kanker serviks dan terakhir invasi yang menyebabkan kanker serviks (Schiffman et al., 2011)

Sebagian besar kanker serviks adalah karsinoma sel skuamosa meskipun juga terdapat adenokarsinoma dan karsinoma adenoskuamosa. Karsinoma sel skuamosa yang berasal dari prekursor lesi dikelompokkan atas sistem cervical intra-epithelial neoplasia (CIN) atau squamous intraepithelial lesion (SIL). Low-grade SIL (LSIL) secara luas sama dengan CIN1 dan umumnya mewakili infeksi HPV produktif non-neoplastik yang progresi keganasannya rendah. Sebaliknya, high-grade SIL (HSIL) sama dengan CIN2/3 mengandung infeksi virus abortif yang mengalami deregulasi awal ekpresi gen-gen HPV dalam sel-sel epitel basal dan risiko progresi yang besar menjadi penyakit invasif (Groves, 2015). Berdasarkan urutan prevalensi dari tertinggi ke terendah, tipe HPV yang sering teridentifikasi pada HSIL vaitu HPV-16, 31, 58, 18, 33, 52, 35, 51, 56, 45, 39, 66 and 6 sedangkan pada LSIL terdapat HPV-16 (26%), 31 (12%), 51 (11%), 53 (10%), 56 (10%), 52 (9%), 18 (9%), 66 (9%) dan 58 (8%) (Clifford et al., 2006).

5. Diagnosis

Lesi tumor yang semakin besar akan semakin mudah pula untuk menegakkan diagnosis pada stadium lanjut, karena lesi yang besar mudah dilakukan biopsi. Hasil patologi anatomi biopsi ini merupakan diagnosis pasti.

Pada lesi tumor yang hanya dapat dilihat secara mikroskopis perlu dilakukan tes apusan pap yang dilanjutkan dengan kolposkopi dan biopsi terarah. Tes apusan pap dengan hasil mencurigakan atau ditemukan sel ganas serta jika kolposkopi memuaskan dilakukan biopsi hasil maka konus menegakkan diagnosis. Pemeriksaan lain sebagai penunjang adalah darah rutin, fungsi ginjal, fungsi hati, foto paru atau tulang, pielografi intravena, sistoskopi dan/atau rektoskopi harus dilakukan pada stadium lanjut. Apabila terdapat kecurigaan penyebaran ke vesica urinaria dan rektum maka harus ditegakkan secara biopsi histopatologi. Pemeriksaan lain yang dapat dilakukan jika diduga terdapat metastasis dapat dilakukan enema barium, CT scan, MRI dan limfangiografi (Abbas, 1997; Benedet, 2006).

6. Histopatologi

Tipe-tipe histopatologik yang ditemukan pada kanker serviks dibedakan sebagai berikut (Scully et al., 1994):

- a. Squamous cell carcinoma, terdiri dari :
 - Keratinizing
 - Nonkeratinizing
 - Verrucous
 - Warty
 - Papillary
 - Lymphoepithelioma-like carcinoma

b. Adenocarcinoma

- Mucinous adenocarcinoma
- Endocervical type
- Intestinal type
- Endometrioid adenocarcinoma
- Clear cell adenocarcinoma
- Mesonephric adenocarcinoma

c. Tumor epithelial lainnya

- Adenosquamous carcinoma
- Glassy cell carcinoma
- Adenoid cystic carcinoma
- Adenoid basal carcinoma
- Carcinoid tumour
- Small cell carcinoma
- Undifferentiated carcinoma

Penggolongan derajat diferensiasi histopatologi karsinoma epidermoid serviks uteri berdasarkan modifikasi sistem Broder sebagai berikut (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2002):

- a. Gx-jenis histopatologi tidak dapat ditentukan atau tidak dapat dikalsifikasikan.
- G1-berdiferensiasi baik: sebagian besar berbentuk sel dewasa dengan aktivitas mitosis minimal dan sedikit pleiomorfik.

- c. G2-berdiferensiasi moderat; ditemukan sedikit sel dengan sitoplasma berlebihan, aktivitas mitosis dan sel pleiomorfik lebih banyak dan batas antar sel kabur.
- d. G3-berdiferensiasi jelek atau tidak berdiferensiasi, sebagian besar berbentuk sel muda yang pleiomorfik dengan aktivitas mitosis tinggi serta rasio inti sitoplasma sangat meningkat.

7. Stadium

| Stage | Description | |
|-------|---|--|
| I | The carcinoma is strictly confined to the cervix (extension to the uterine corpus should be disregarded) | |
| IA | Invasive carcinoma that can be diagnosed only by microscopy, with maximum depth of invasion <5 mm ^a | |
| IA1 | Measured stromal invasion <3 mm in depth | |
| IA2 | Measured stromal invasion ≥3 mm and <5 mm in depth | |
| IB | Invasive carcinoma with measured deepest invasion \geq 5 mm (greater than Stage IA), lesion limited to the cervix uteri ^b | |
| IB1 | Invasive carcinoma ≥5 mm depth of stromal invasion, and <2 cm in greatest dimension | |
| IB2 | Invasive carcinoma ≥2 cm and <4 cm in greatest dimension | |
| IB3 | Invasive carcinoma ≥4 cm in greatest dimension | |
| II | The carcinoma invades beyond the uterus, but has not extended onto the lower third of the vagina or to the pelvic wall | |
| IIA | Involvement limited to the upper two-thirds of the vagina without parametrial involvement | |
| IIA1 | Invasive carcinoma <4 cm in greatest dimension | |
| IIA2 | Invasive carcinoma ≥4 cm in greatest dimension | |
| IIB | With parametrial involvement but not up to the pelvic wall | |
| Ш | The carcinoma involves the lower third of the vagina and/or extends to the pelvic wall and/or causes hydronephrosis or nonfunctioning kidney and/or involves pelvic and/or para-aortic lymph nodes $^{\rm c}$ | |
| IIIA | The carcinoma involves the lower third of the vagina, with no extension to the pelvic wall | |
| IIIB | Extension to the pelvic wall and/or hydronephrosis or nonfunctioning kidney (unless known to be due to another cause) | |
| IIIC | Involvement of pelvic and/or para-aortic lymph nodes, irrespective of tumor size and extent (with r and p notations) ^c | |
| IIIC1 | Pelvic lymph node metastasis only | |
| IIIC2 | Para-aortic lymph node metastasis | |
| IV | The carcinoma has extended beyond the true pelvis or has involved (biopsy proven) the mucosa of the bladder or rectum. (A bullous edema, as such, does not permit a case to be allotted to Stage IV) | |
| IVA | Spread to adjacent pelvic organs | |
| IVB | Spread to distant organs | |

Gambar 4. Stadium kanker serviks berdasarkan FIGO 2018 (Bhatla, 2018)

8. Terapi

Terapi kanker serviks dilakukan berdasarkan stadium penyakit. Terapi bervariasi mulai dari terapi ablasi sampai dengan terapi radiasi dan atau terapi kemoterapi/sitostatika (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2007):

a. Stadium IA1

Konisasi dapat dilakukan apabila kedalaman lesi diukur dari membrane basalis kurang dari 3 mm dan jika tidak ditemukan infiltrasi pada kelenjar limfe dan pembuluh darah dan batas eksisi konus terlihat. Dapat juga dilakukan histerektomi total.

b. Stadium IA2, IB dan IIA

Terapi utama dapat berupa histerektomi radikal dan limfadenektomi pelvis bilateral. Terapi radiasi eksterna dan brakitaerapi merupakan alternatif terapi pada stadium ini. Jika suatu infertilitas ingin dipertahankan maka dapat dilakukan trakelektomi radikal dan parametrektomi dengan limfadenektomi pelvis yang merupakan alternative terapi baru pada lesi yang kecil. Lesi stadium IB2 yang dalam dan lesi serviks yang berbentuk silinder dapat diterapi dengan radiasi saja atau dengan histerektomi radikal dan limfadenektomi radikal. Tumor umumnya meluas ke samping dan daerah di tengahnya mengalami hipoksia sehingga tidak memberikan respon terapi radiasi yang baik. Terapi pada stadium ini adalah terapi radiasi yang

dilanjutkan dengan limfadenektomi atau radiasi kelenjar limfe paraaorta pada saat operasi.

c. Stadium IIB, III dan IVA

Terapi yang utama adalah terapi radiasi eksterna dan brakiterapi serta dapat juga diberikan terapi kombinasi sitostatika Cisplatin dan radiasi yang menghasilkan hasil lebih baik sebesar 20% pada terapi karsinoma epidermoid serviks uteri dengan metastasis.

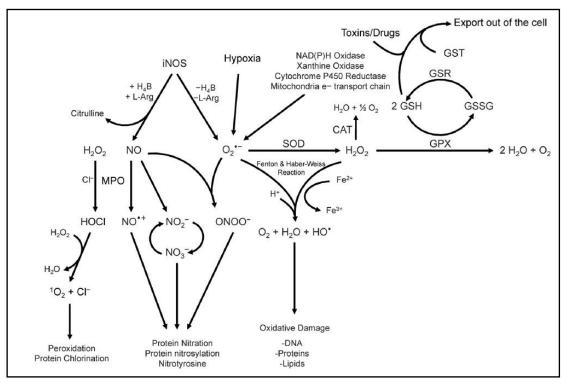
d. Stadium IVB

Pemberian terapi pada stadium ini hanya untuk mengurangi gejala yaitu terapi kombinasi kemoradiasi dan terapi paliatif.

B. STRES OKSIDATIF

Ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi radikal bebas dan metabolit reaktif menyebabkan kondisi *stres* oksidatif dan selanjutnya kerusakan biomolekul dan sel-sel penting yang mempengaruhi organisme secara keseluruhan (Hacker, 2000). *Reactive oxygen species* (ROS) adalah molekul dari derivat oksigen, meliputi radikal oksigen, seperti superoksida (O₂-), hidroksil (HO), peroksil (RO₂), dan alkoksil (RO), serta berbagai senyawa non-radikal yang dapat dikonversi menjadi radikal atau berfungsi sebagai agen pengoksidasi terdiri dari hidrogen peroksida (H₂O₂), asam hipoklorida (HOCl), ozone (O₃), dan oksigen singlet (1O2) (Hacker, 2000;

Saraste, 2000). Reactive nitrogen species (RNS) adalah oksidan yang mengandung nitrogen dan terbentuk dari oksida nitrat (NO) yang dihasilkan dari rantai transpor elektron proses respirasi mitokondria dalam kondisi hipoksia. Pembentukan ROS dan RNS (gambar 3) seluler yang terusmenerus merupakan konsekuensi dari berbagai faktor termasuk paparan terhadap karsinogen, infeksi, inflamasi, lingkungan toksik, nutrisi, dan respirasi mitokondria (Hacker, 2000; Saraste, 2000; Ziegler, 2004; Kroemer et al., 2005). Berbagai sistem enzim menghasilkan ROS dan RNS termasuk kompleks sitokrom P450, lipoksigenase, siklooksigenase, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NAD(P)H), xanthine oxidase (XO), dan peroksisom (Hacker, 2000; Ziegler, 2004; Manjo, 1995).



Gambar 5. Produksi ROS dan RNS (Wong, 2011).

a. Peroksimal β-oksidasi

Sumber utama lainnya dari reactive oxygen nitrogen species (RONs) adalah oksidasi asam lemak-β peroksisom beta yang menghasilkan H₂O₂ sebagai metabolit sekunder. Meskipun konsentrasi katalase yang tinggi pada peroksisom, kebocoran H_2O_2 merupakan kejadian fisiologis yang berkontribusi secara signifikan terhadap stres oksidatif seperti yang ditunjukkan oleh korelasi langsung antara jumlah peroksisom dan tingkat proliferasinya dengan tingkat total stres oksidatif dan kerusakan sel. Selain itu. katalase negatif peroksisom selama penelitian regenerasi menunjukkan kebocoran H₂O₂ dapat meningkat selama proliferasi sel yang cepat.

b. Aktifitas sitokrom P450

Enzim-enzim sitokrom p450 mikrosomal memetabolisme senyawa-senyawa xenobiotik, biasanya obat-obatan atau alkaloid tumbuhan dengan cara mengoksidasi atau mereduksi ikatan univalennya. Tergantung pada jenis isoenzim p450 yang terlibat, reaksi redoks ini meliputi reduksi langsung O_2 menjadi O_2 atau reduksi elektron tunggal senyawa organic intermediet atau selanjutnya mentransfer elektron ke O_2 disertai pembentukan O_2 dan penyimpanan senyawa organik intermediet.

c. Inflamasi

Peradangan meningkatkan risiko perkembangan kanker dan merupakan sifat konstitutif dari setiap jaringan kanker sehingga kanker itu

sendiri merupakan agen pemicu kanker. Selama inflamasi, kombinasi antara aksi hormon, sitokin dan pembawa pesan dengan molekul rendah, yang disebut sinyal "Go" menyebabkan perekrutan sel mast dan leukosit. Sel-sel ini pada saat konsumsi oksigen meningkat tajam, melepaskan RONS yang besar termasuk O₂, H₂O₂, NO dan asam hipoklorida (HCIO) di atas ambang toksik.

d. Aktivasi jalur persinyalan

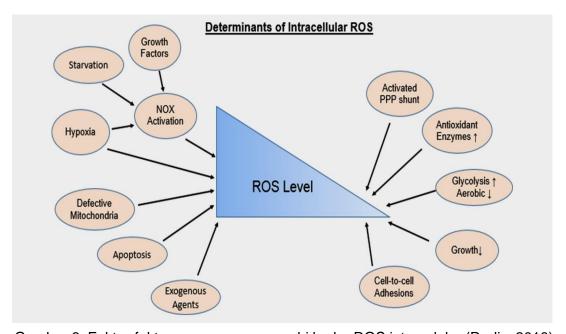
RONS juga dihasilkan selama aktivasi sejumlah besar jalur sinyal yang diinduksi oleh faktor-faktor pertumbuhan, sitokin dan promotor tumor seperti TGF alfa, TNF alfa, TGF Beta-1, dan lain-lain. Pada gilirannya, RONS dapat mengaktifkan atau meningkatkan aktifitas beberapa jalur persinyalan, sering melakukan rangkaian umpan balik positif yang selanjutnya meningkatkan pembentukan RONS (Wong, 2011).

Berbagai enzim yang menetralisir efek toksik dari ROS dan RNS ditunjukkan dalam gambar 4. Superoksida dismutase (SOD) mengkatalisis perubahan O2 menjadi H2O2 yang kemudian dikonversi menjadi H2O oleh katalase (CAT) atau *glutathione peroxidase* (GPX) berpasangan dengan *glutathione reductase* (GSR) (Saraste, 2000). Penetralisir ROS lainnya adalah *thioredoxin reductase* dan glutaredoxin yang menggunakan glutathione (GSH) sebagai substrat. Selain itu, *glutathione S-transferase* (GST) terlibat dalam detoksifikasi berbagai lingkungan karsinogen dan selanjutnya tereliminasi dari sel (Saraste, 2000). Glutathione berperan

penting dalam mempertahankan reoksidasi homeostasis dan rasio GSH terhadap GSH teroksidasi (GSH/GSSG) memberikan estimasi kapasitas buffer redoks seluler (Hengartner, 2000; Kumar, 2010). Selain itu, penelitian membuktikan peningkatan *stres* oksidatif yang dibantu oleh kompleks GSH/GSSG menyebabkan peningkatan aktifitas pompa efluks GS-X-MRP1 (Hengartner, 2000). Pompa efluks ini menurunkan efektifitas konsentrasi obat-obatan kemoterapi; oleh karena itu, mekanisme dipertimbangkan sebagai salah satu mekanisme resistensi obat multipel (Hengartner, 2000; Kumar, 2010). Produksi baik ROS maupun RNS menyebabkan perubahan biokimiawi pada sel meliputi kerusakan pada struktur DNA (kerusakan gen), kerusakan protein dan memodulasi fungsi protein (de Marco, 2013).

Pertumbuhan atau proliferasi sel-sel kanker lebih tinggi dibandingkan sel-sel normal dan akumulasi ROS dikaitkan dengan peningkatan pertumbuhan sel-sel kanker. Faktor-faktor yang mempengaruhi ROS ditunjukkan dalam gambar 6. Salah satu sumber intraseluler utama ROS adalah protein NADPH oksidase (NOX) yang menghasilkan ROS sitosolik sebagai respons terhadap berbagai rangsangan termasuk faktor pertumbuhan, RAS onkogenik dan hipoksia. Mitokondria adalah sumber utama ROS intraseluler lainnya. Fosforilasi oksidatif secara intrinsik menghasilkan ROS di berbagai titik di sepanjang rantai transpor electron ROS dasar yang diproduksi oleh mitokondria dapat ditingkatkan dengan hipoksia, p53 atau aktivasi RAS, dan apoptosis. Dalam lingkungan yang

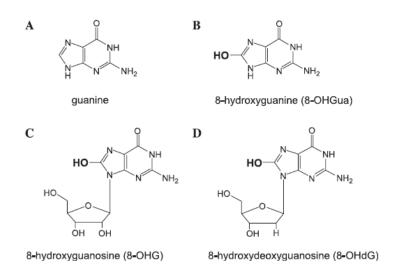
sangat hipoksia, fosforilasi oksidatif tidak dapat menghasilkan ATP sehingga kekurangan ATP dalam kondisi ini juga dapat merangsang kelebihan sekresi ROS oleh enzim NOX yang mengakibatkan apoptosis. Sebaliknya, pengaktifan pentose phosphate pathway (PPP) untuk meningkatkan glutathione (GSH) yang berperan menangkap radikal bebas termasuk ROS sehingga mencegah kerusakan sel, konsentrasi antioksidan tinggi untuk detoksifikais, dan peningkatan regulasi glikolisis untuk menurunkan fosforilasi oksidatif sehingga laju metabolisme menurun menyebabkan penurunan kadar ROS intraseluler (Rodic, 2018).



Gambar 6. Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar ROS intraseluler (Rodic, 2018).

C. 8-HYDROXY-DEOXYGUANOSINE (8-OHDG)

Radikal bebas oksigen yang paling penting menyebabkan kerusakan pada dasar biomolekul (protein, lipid membran, dan DNA) adalah gugus hidroksil (HO). Gugus radikal hidroksil dapat diproduksi oleh berbagai mekanisme, terutama oleh reaksi Fenton dari hidrogen peroksida (yang berdifusi ke dalam nukleus) dan logam dan ROS endogen dan eksogen lainnya. HO menyerang untaian DNA ketika diproduksi berdekatan dengan DNA seluler dan mitokondria menyebabkan penambahan basa DNA radikal baru, yang mengarah pada generasi dari berbagai produk oksidasi.



Gambar 7. Struktur kimia 8-OHdG dan analognya: (A) struktur basa guanine yang tidak termodifikasi, (B) struktur basa teroksidasi, (C) analog 8-OHdG berasal dari RNA; (D) analog 8-OHdG berasal dari DNA (Wu, 2004).

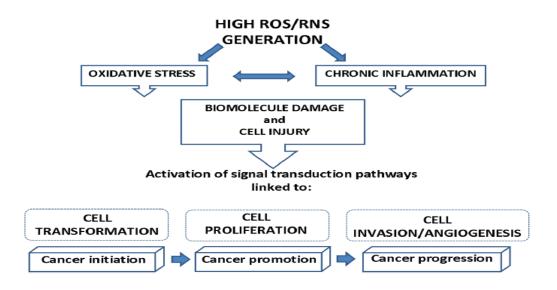
Interaksi HO dengan nukleobase dari untai DNA, seperti guanin, mengarah pada pembentukan C8-hydroxyguanine (8-OHGua) atau nukleosida-nya membentuk deoksiguanosin (8-hidroksi-2 -deoksiguanosin). Reaksi dari penambahan HO mengarah ke gugus radikal, kemudian abstraksi electron maka 8-hydroxy-2 -deoxyguanosine (8-OHdG). 8-OHdG mengalami tautomerisme keto-enol, yang mendukung oksidasi produk 8-oxo-7,8-dihydro-2 -deoxyguanosine (8-oxodG). Secara literature ilmiah, 8-OHdG dan 8-oxodG digunakan untuk senyawa yang sama (Valavanidis, 2009).

DNA nukleus dan mitokondria dari jaringan dan limfosit darah biasanya merupakan tempat oksidasi kerusakan. Di antara semua basa purin dan pirimidin, guanin paling rentan terhadap oksidasi. Setelah oksidasi, gugus hidroksil ditambahkan ke posisi 8 dari molekul guanin dan produk yang dimodifikasi secara oksidatif (gambar 7). 8-OHdG adalah salah satu bentuk utama lesi DNA yang diinduksi radikal bebas. DNA teroksidasi yang dimodifikasi dalam bentuk 8-OHdG dikuantifikasi untuk menunjukkan tingkat kerusakan DNA. Semakin meningkat jumlah DNA yang dimodifikasi secara oksidatif telah terdeteksi pada jaringan manusia, khususnya pada tumor (Wu, 2004).

D. STRES OKSIDATIF DAN KARSINOGENESIS

Stres oksidatif mempengaruhi semua fase onkogenik (gambar 8) meliputi inisiasi, promosi, dan progresi kanker (Reuter, 2010). *Stres* oksidatif diketahui mengaktifkan beberapa faktor transkripsi termasuk *nuclear factor* (NF)-kB, *activator protein* (AP)-1, p53, *hypoxia inducible factor* (HIF)-1α, *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR)-γ, β-catenin/Wnt, dan *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2), yang memodulasi ekspresi sebagian besar gen yang terlibat dalam banyak respon imun dan inflamasi, remodeling jaringan dan fibrosis, karsinogenesis, dan metastasis (Reuter, 2010). Ekspresi beberapa antioksidan dan enzim dikendalikan oleh faktor regulator transkripsi utama Nrf2. Aktivasi Nrf2 melibatkan supresi protein *Kelch like ECH associated protein 1* (Keap1) yang mengikat Nrf2 di sitoplasma, mencegah translokasinya ke dalam nukleus berikatan dengan promotor spesifik (Reuter, 2010; Schmidt, 2015).

ROS diketahui mengubah ekspresi beberapa gen melalui induksi mutasi genetik yang menyebabkan perubahan keseimbangan antara proliferasi sel dan apoptosis (Rojas, 2016; Reuter, 2010; Schmidt, 2015). Kerusakan DNA oleh ROS sekarang diterima sebagai penyebab utama kanker, dan telah ditunjukkan pada karsinoma payudara dan hepatoselular. Oksidasi pada basa-basa DNA, seperti *thymidine glycol, 5-hydroxymethyl-2'- deoxyuridine*, dan 8-OHdG saat ini sebagai penanda kerusakan DNA karena *stres* oksidatif (Roos, 2016). ROS juga dianggap sebagai faktor penting dalam mempertahankan fenotipe onkogenik dengan aktivasi jalur persinyalan tertentu, khususnya jalur MAPK/AP-1 dan jalur NF-kB (Waris, 2006). Selain itu, ROS juga dibutuhkan untuk induksi kematian sel dan dengan demikian dapat bertindak sebagai agen antitumor, dalam hal ini tergantung pada konsentrasi ROS di lingkungan seluler (Wang, 2008).

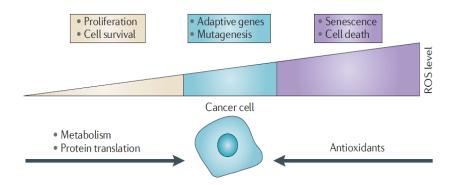


Gambar 8. Hubungan antara pembentukan ROS / RNS dan kanker. Konsentrasi ROS dan RNS yang tinggi, menyebabkan stres oksidatif dan peradangan kronis, dapat menyebabkan kerusakan makromolekul dan cedera sel yang mengaktifkan jalur transduksi sinyal yang terkait dengan fase progresif karsinogenesis (transformasi sel, proliferasi sel, invasi sel dan angiogenesis) (Benedetti, 2015).

ROS meningkatkan invasi dan metastasis juga tumor dengan meningkatkan laju migrasi sel (Rojas, 2016; Reuter, 2010). Famili enzim NAD(P)H oksidase sebagai sumber utama ROS seluler, berhubungan survival dan pertumbuhan sel tumor pada kanker pankreas dan paru-paru (Rojas, 2016; Reuter, 2010). ROS mengatur ekspresi Intercellular Adhesion Protein-1 (ICAM-1), protein pada permukaan sel-sel endothelial dan epitel, melalui aktivasi NF-kB. ICAM-1 dan IL-8 mengatur migrasi neutrofil di seluruh endotelium, yang membantu metastasis tumor. Faktor utama lainnya dalam proses invasi tumor adalah up-regulation Matrix Metalloproteinases (MMPs) tertentu, seperti MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-10, dan MMP-13 oleh H₂O₂ dan NO (Reuter, 2010). Mekanisme *up-regulation* MMP melibatkan aktivasi Ras, anggota dari famili MAPK ERK1/2, p38 dan JNK atau inaktivasi fosfatase. Matriks metaloproteinase adalah enzim penting dalam degradasi sebagian besar komponen membran dasar dan matriks ekstraselular, seperti kolagen tipe IV (Reuter, 2010; Westermack, 1999).

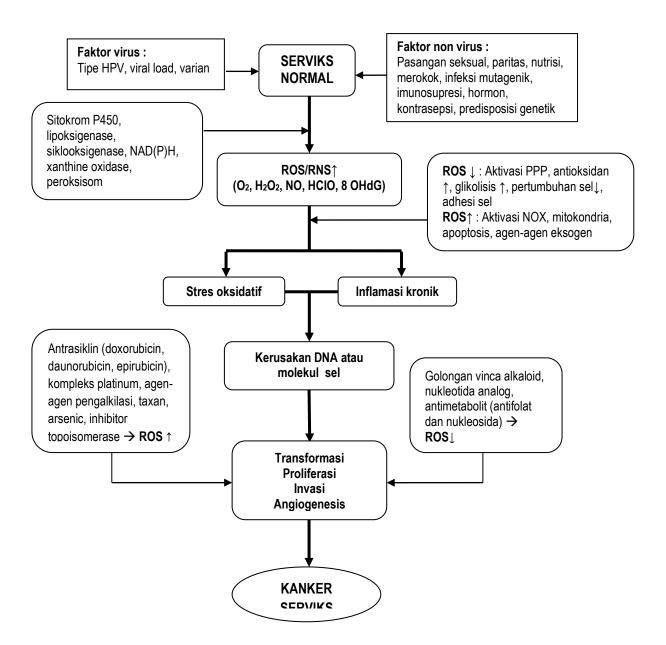
Angiogenesis sangat penting untuk survival tumor padat yang juga diatur oleh ROS. Angiogenesis diatur oleh onkogen dan gen-gen supresor tumor seperti Ras, c-Myc, c-Jun, p53 termutasi, *human epidermal growth factor receptor-2*, dan ko-aktivator reseptor steroid melalui *up-regulation* VEGF atau *down-regulation* trombospondin-1 (TSP-1).

Hubungan antara kadar ROS dan kanker ditunjukkan pada gambar 9.



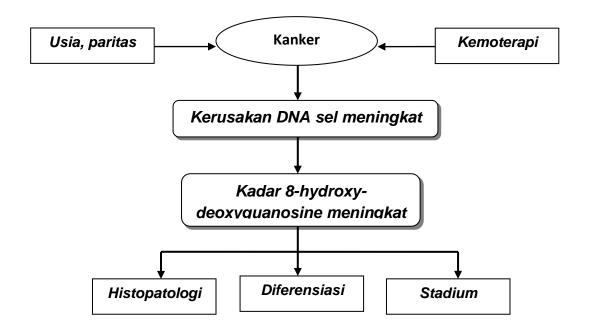
Gambar 9. Hubungan antara kadar ROS dan kanker. Dalam sel kanker, ROS pada level rendah hingga sedang menginduksi proliferasi sel dan kelangsungan hidup sel, pada kadar tinggi menginduksi kerusakan sel dan pada kadar yang berlebihan menginduksi kematian sel (Cairns, 2011).

E. Kerangka teori



Gambar 10. Kerangka teori

F. Kerangka Konsep



Gambar 11. Kerangka konsep

| Keterangan: | |
|------------------|---|
| Variabel bebas | : |
| Variabel antara | |
| Variabel terikat | : |

G. Definisi Operasional

- Kanker serviks adalah kanker pada daerah mulut rahim (serviks) yang didiagnosis dengan hasil pemeriksaan histopatologi karsinoma serviks.
- 2. Human Papilomavirus adalah virus genus famili Papilomaviridae sebagai faktor etiologi kanker serviks
- 3. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi radikal bebas dan metabolit reaktif. Pemeriksaan *stres* oksidatif dilakukan dengan mengukur kadar *8-hydroxy-deoxyguanosine* (8-OHdG) pada serum menggunakan *Human 8-hydroxy-deoxyguanosine* ELISA kit dengan satuan ng/mg.
- Umur ditentukan dari hasil perhitungan tanggal lahir dengan tanggal pengambilan data yang diperoleh dari wawancara langsung dengan responden atau kartu identitas responden.
- Paritas adalah jumlah persalinan dengan usia kehamilan >20 minggu yang pernah dialami oleh seorang wanita. Dikelompokkan menjadi >4 (grandemultipara) dan ≤4.
- Stadium kanker serviks adalah tahapan perkembangan kanker serviks sesuai dengan klasifikasi FIGO 2018 (Tabel 1; Bhatla, 2018).
- 7. Tipe histologi kanker serviks diambil berdasarkan hasil histopatologi biopsi serviks.

 Dikategorikan menjadi *squamous cell carcinoma* dan *adenocarcinoma*.
- 8. Tipe diferensiasi diambil berdasarkan hasil histopatologi biopsi serviks.

 Dikategorikan menjadi diferensiasi baik, sedang, jelek, dan non klasifikasi.