

DISERTASI

Hubungan Ekspresi mRNA *Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1)*, *Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4)*, dan *Cyclin B* dengan Derajat Meningioma

Relationship between mRNA *Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1)*, *Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4)* and *Cyclin B* Expression with Meningioma Grade

ANDI IHWAN

C013171022



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

DISERTASI

HUBUNGAN EKSPRESI mRNA CYCLIN DEPENDENT KINASE 1 (CDK1), CYCLIN DEPENDENT KINASE 4 (CDK4) DAN CYCLIN B DENGAN DERAJAT MENINGIOMA


Relationship between mRNA Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1), Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) and Cyclin B with Grading Meningioma

Disusun dan diajukan
Oleh

Andi Ihwan
C013171022

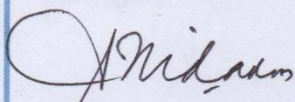
Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 28 Januari 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

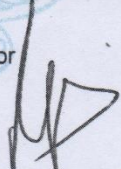
Menyetujui
Promotor,


Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)- FICS
Nip. 19551019 198203 1 001

Co. Promotor

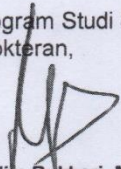
Co. Promotor

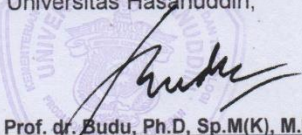

Dr. dr. Djoko Widodo, Sp.BS(K)
Nip. 19620123 198911 1 001


dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199903 1 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199903 1 001


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

ABSTRAK

ANDI IHWAN. Hubungan Ekspresi mRNA Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1), Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) dan Cyclin B dengan Derajat Meningioma (dibimbing oleh : Andi Asadul Islam, Djoko Widodo, Agussalim Bukhari)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan ekspresi mRNA cyclin B, CDK 1, dan CDK 4 dengan derajat meningioma. Meningioma merupakan tumor tersering dari tumor primer susunan saraf pusat (SSP) yang meliputi sepertiga atau 36,4 % dari seluruh tumor SSP. Meskipun insiden meningioma cukup tinggi, namun mekanisme tumorigenesis, serta faktor yang mempengaruhi penyebab progresifitas masih belum diketahui pasti. Jalur siklus sel menjadi perhatian para peneliti didasarkan pada kondisi bahwa proliferasi yang tidak terkendali, memegang peranan kunci dalam inisiasi dan perkembangan kanker.

Metode : Pemeriksaan menggunakan metode *real-time reverse transcription-PCR* (RT-PCR) untuk menilai ekspresi mRNA CDK 1, CDK 4 dan Cyclin B. Sampel diperoleh dari jaringan tumor yang terdiagnosis meningioma berdasarkan pemeriksaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Untuk Analisa data digunakan sampel untuk meningioma derajat 1, 2 dan 3 masing-masing 35, 34 dan 26 sampel.

Hasil penelitian menunjukkan usia pasien meningioma berada pada rentang 38-70 tahun dengan usia rata-rata 52,5 tahun. Insiden meningioma semakin meningkat sesuai dengan pertambahan umur. Kasus pada perempuan di temukan sebesar 71,6% atau tiga kali lebih banyak dibanding pada laki-laki. Hasil uji korelasi Spearman's antara CDK 1, CDK 4 dan Cyclin B dengan derajat meningioma di temukan hasil yang bermagna dengan *sig.(2 tailed)* berada kurang dari 0,01 dengan kekuatan korelasi sebesar : 0,516, 0,384 dan 0,484. Hasil uji Kruskal-Wallis ekspresi CDK1, CDK4, dan Cyclin B dengan derajat meningioma menunjukkan *Asymp. Sig <0,05*. Hasil tersebut menunjukkan overekspresi CDK 1, CDK 4 dan Cyclin B sesuai dengan peningkatan derajat meningioma.

Kata Kunci : *Cyclin Dependent Kinase1, Cyclin Dependent Kinase 4, Cyclin B, Meningioma*



ABSTRACT

ANDI IHWAN. Relationship between mRNA Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1), Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) and Cyclin B Expression with Meningioma Grade (supervised by : Andi Asadul Islam, Djoko Widodo, Agussalim Bukhari)

The purpose of this study was to determine the relationship between CDK 1, CDK 4 and cyclin B, mRNA expression with the grade of meningioma. Meningiomas are the most common primary tumors of the central nervous system (CNS) which account for one-third or 36.4% of all CNS tumors. Although the incidence of meningiomas is quite high, the mechanism of tumorigenesis, as well as the factors that influence the cause of its progression are still unknown. Cell cycle pathways of interest to researchers are based on the condition that uncontrolled proliferation plays a key role in the initiation and development of cancer.

Methods: A real-time reverse transcription-PCR (RT-PCR) assay was used to quantitate mRNA expression of CDK 1, CDK 4 and Cyclin B using fresh tumors sample meningioma diagnosed from Hematoxylin-Eosin (HE) staining were analyzed. For data analysis, samples were used for meningiomas grade 1, 2 and 3 respectively 35, 34 and 26 samples.

The results showed that the age of meningioma patients was in the range of 38-70 years with an average age of 52.5 years. The incidence of meningiomas increases with age. Cases in women were found to be 71.6% or three times more than in men. We demonstrate that CDK 1, CDK 4 and cyclin B mRNA expression are positively correlated with meningioma grade (sig. (2 tailed) < 0,01). Spearman's test correlation result: CDK 1: 0,516, CDK 4: 0,384, and Cyclin B : 0,484. The results of the Kruskal-Wallis test for expression of CDK1, CDK4, and Cyclin B with the grade of meningioma showed Asymp. Sig<0.05

These results indicate that high CDK1, CDK 4 and cyclin B expression is associated with increasing of meningioma grading.

Keywords: Cyclin Dependent Kinase1, Cyclin Dependent Kinase 4, Cyclin B, Meningioma





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Andi Ihwan
NIM : C013171022
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Ekspresi mRNA Cdk 1, Cdk 4 dan Cy β pada Meningioma

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, 15 Desember 2021

Yang menyatakan,



Andi Ihwan

PRAKATA

Bismillahirrohmanirrohim. Perkenankanlah penulis memanjatkan puji dan syukur ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis menyadari sepenuhnya disertasi ini dapat diselesaikan berkat bantuan, bimbingan, arahan, saran, koreksi dan dukungan dari berbagai pihak. Terhusus untuk keluarga tercinta: Orang tua A. Syamsuddin Tiro (Alm) dan Hidayah atas doa dan perhatian yang selalu menyertai, Drs. Naharuddin Tinulu dan Hj Hasnah Djabier atas dukungan serta doanya. Istri tercinta: dr. Rini Yusriany Sp.PA serta anak-anak: A. Qyesha Fathia Ihwan, A. Furqan Qushai Ihwan, A. Fairel Ahza Ihwan atas doa, dukungan dan perhatian, selama menjalani pendidikan dan penelitian. Serta seluruh keluarga tercinta.

Dengan hati yang tulus perkenankan penulis menghaturkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin atas berkenan dan diterimanya penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Doktorat Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin
2. Bapak Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan bapak Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran periode sebelumnya yang telah memberikan izin mengikuti pendidikan ini.
3. Bapak dr. Agussalim Bukhari, M.Clin,Med, Ph.D, Sp.GK(K) selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Prof. dr. Muhammad Hatta, Ph.D, Sp.MK (K) selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin periode sebelumnya, yang telah memberi kesempatan melanjutkan Program

Pendidikan Doktor. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau.

4. Bapak Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS (K) selaku Promotor yang selalu memberikan perhatian dan penuh kesabaran membimbing, memotivasi, membantu memperluas wawasan keilmuan, serta memberikan saran dan dukungan moril secara terus-menerus sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau.
5. Bapak Dr. dr. Djoko Widodo, SpBS (K) selaku Ko-Promotor. Terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan dorongan dan kepercayaan serta kesempatan untuk melaksanakan penelitian dan menyelesaikan pendidikan in. Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.
6. Bapak dr. Agussalim Bukhari, M.Clin,Med, Ph.D, Sp.GK(K) selaku Ko-Promotor. Terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan dorongan dan kepercayaan serta kesempatan untuk melaksanakan penelitian dan menyelesaikan pendidikan in. Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.
7. Tim penguji : Prof. dr. Muhammad Thohar Arifin, PhD, SpBS(K) selaku penguji eksternal, Dr. dr. Warsinggih, SpB (K)BD, Dr. dr. Prihatono, Sp B(K)Onk, dr. Cahyono, PhD, Sp.PA(K), Sp.S(K), Dr. dr. Nasrullah, SpBS (K), dr. Joko Hendarto, PhD, selaku penguji yang sangat kompeten di bidangnya dan tidak lelah memberikan masukan, saran dan nasihat yang sangat berguna bagi penyempurnaan disertasi ini. Semoga selalu dalam lindungan dan rahmat-Nya.
8. Kepada seluruh staf Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Unhas, dan Divisi Bedah Saraf FK Unhas, dan seluruh Staf Pengajar yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu saya mengucapkan

banyak terimakasih atas motivasi yang sangat membantu penulis dalam penyelesaian Disertasi ini.

9. Peserta PPDS Bedah Saraf dan Bedah atas dukungan serta bantuan dalam pelaksanaan penelitian
10. Tim Laboran HUMRC RS PTN Unhas atas bantuanya dalam pemeriksaan RT PCR.
11. Kepada teman seperjuangan mahasiswa Prodi Dokter FK Unhas angkatan 2017, terima kasih atas dukungan dan kerjasama yang tidak terlupakan.
12. Seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu saya menyelesaikan Pendidikan ini. Saya juga menghaturkan maaf sebesar-besarnya apabila terdapat kesalahan dalam penyusunan disertasi. Semoga Allah Subhanahu wa ta'ala selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan disertasi ini bermanfaat.

Makassar, 28 Januari 2022

Andi Ihwan

ABSTRACT

ANDI IHWAN. Relationship between mRNA Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1), Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) and Cyclin B Expression with Meningioma Grade (supervised by : Andi Asadul Islam, Djoko Widodo, Agussalim Bukhari)

The purpose of this study was to determine the relationship between CDK 1, CDK 4 and cyclin B, mRNA expression with the grade of meningioma. Meningiomas are the most common primary tumors of the central nervous system (CNS) which account for one-third or 36.4% of all CNS tumors. Although the incidence of meningiomas is quite high, the mechanism of tumorigenesis, as well as the factors that influence the cause of its progression are still unknown. Cell cycle pathways of interest to researchers are based on the condition that uncontrolled proliferation plays a key role in the initiation and development of cancer.

Methods: A real-time reverse transcription-PCR (RT-PCR) assay was used to quantitate mRNA expression of CDK 1, CDK 4 and Cyclin B using fresh tumors sample meningioma diagnosed from Hematoxylin-Eosin (HE) staining were analyzed. For data analysis, samples were used for meningiomas grade 1, 2 and 3 respectively 35, 34 and 26 samples.

The results showed that the age of meningioma patients was in the range of 38-70 years with an average age of 52.5 years. The incidence of meningiomas increases with age. Cases in women were found to be 71.6% or three times more than in men. We demonstrate that CDK 1, CDK 4 and cyclin Cyclin B mRNA expression are positively correlated with meningioma grade (sig. (2 tailed) < 0,01). Spearman's test correlation result: CDK 1: 0,516, CDK 4: 0,384, and Cyclin B : 0,484. The results of the Kruskal-Wallis test for expression of CDK1, CDK4, and Cyclin B with the grade of meningioma showed Asymp. Sig<0.05

These results indicate that high CDK1, CDK 4 and cyclin B expression is associated with increasing of meningioma grading.

Keywords: *Cyclin Dependent Kinase1, Cyclin Dependent Kinase 4, Cyclin B, Meningioma*

ABSTRAK

ANDI IHWAN. Hubungan Ekspresi mRNA Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1), Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) dan Cyclin B dengan Derajat Meningioma (dibimbing oleh : Andi Asadul Islam, Djoko Widodo, Agussalim Bukhari)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan ekspresi mRNA cyclin B, CDK 1, dan CDK 4 dengan derajat meningioma. Meningioma merupakan tumor tersering dari tumor primer susunan saraf pusat (SSP) yang meliputi sepertiga atau 36,4 % dari seluruh tumor SSP. Meskipun insiden meningioma cukup tinggi, namun mekanisme tumorigenesis, serta faktor yang mempengaruhi penyebab progresifitas masih belum diketahui pasti. Jalur siklus sel menjadi perhatian para peneliti didasarkan pada kondisi bahwa proliferasi yang tidak terkendali, memegang peranan kunci dalam inisiasi dan perkembangan kanker.

Metode : Pemeriksaan menggunakan metode *real-time reverse transcription-PCR* (RT-PCR) untuk menilai ekspresi mRNA CDK 1, CDK 4 dan Cyclin B. Sampel diperoleh dari jaringan tumor yang terdiagnosis meningioma berdasarkan pemeriksaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Untuk Analisa data digunakan sampel untuk meningioma derajat 1, 2 dan 3 masing-masing 35, 34 dan 26 sampel. Hasil penelitian menunjukkan usia pasien meningioma berada pada rentang 38-70 tahun dengan usia rata-rata 52,5 tahun. Insiden meningioma semakin meningkat sesuai dengan pertambahan umur. Kasus pada perempuan di temukan sebesar 71,6% atau tiga kali lebih banyak dibanding pada laki-laki. Hasil uji korelasi Spearman's antara CDK 1, CDK 4 dan Cyclin B dengan derajat meningioma di temukan hasil yang bermagna dengan *sig.(2 tailed)* berada kurang dari 0,01 dengan kekuatan korelasi sebesar : 0,516, 0,384 dan 0,484. Hasil uji Kruskal-Wallis ekspresi CDK1, CDK4, dan Cyclin B dengan derajat meningioma menunjukkan *Asymp. Sig <0,05*. Hasil tersebut menunjukkan overekspresi CDK 1, CDK 4 dan Cyclin B sesuai dengan peningkatan derajat meningioma.

Kata Kunci : *Cyclin Dependent Kinase1, Cyclin Dependent Kinase 4, Cyclin B, Meningioma*

DAFTAR ISI

SURAT PERNYATAAN	i
PRAKATA	ii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL & GRAFIK	ix
DAFTAR GAMBAR	x
SINGKATAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Meningioma	6
2.1.1 Epidemiologi	6
2.1.2 Etiologi dan Faktor Resiko	8
2.1.3 Diagnosis dan Penatalaksanaan	11
2.1.4 Patogenesis Meningioma Intrakranial	12
2.1.5 Klasifikasi Meningioma	17
2.1.6 Penatalaksanaan dan Prognosis	18
2.2 Cyclin dan CDK	21
2.2.1 Siklus Sel	21
2.2.2 Cyclin dan CDK	28
2.2.3 CDK1 dan Cyclin B	39
2.2.4 CDK 4- Cyclin D	47
BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP	57
Kerangka Teori	58
Kerangka Konsep	59

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	60
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	60
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	60
4.3 Populasi dan sampel	60
a. Populasi	60
b. Sampel dan Kriteria inklusi	60
c. Cara pengumpulan sampel	60
4.4 Besar sampel	60
4.5 Pengumpulan sampel	61
4.6 Definisi operasional	61
4.7 Metode Pemeriksaan Ekspresi mRNA Cylin B dengan qRT-PCR	63
4.8 Pengolahan dan analisis data	65
4.9 Alur penelitian	66
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	67
5.1 Hasil Penelitian	67
5.2 Pembahasan	75
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	86
6.1 Kesimpulan	86
6.2 Saran	87
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN	96

DAFTAR TABEL & GRAFIK

	Hal.
Tabel 5.1 Karakteristik pasien berdasarkan umur, jenis kelamin dan hasil pemeriksaan histopatologi	67
Tabel 5.2 Tabel hasil uji Spearman hubungan ekspresi CDK 1, CDK 4, Cyclin B dengan umur dan jenis kelamin	68
Tabel 5.3 Jumlah mitosis sel berdasarkan derajat meningioma	68
Tabel 5.4. Ekspresi CDK1 berdasarkan derajat meningioma	69
Grafik 5.1 Histogram nilai ekspresi CDK1 pada meningioma derajat 1, 2 dan 3	70
Tabel 5.5. Hasil uji korelasi Spearman's antara CDK1 dengan jumlah mitosis pada meningioma	70
Tabel 5.6. Hasil uji korelasi Spearman's antara CDK1 dengan derajat meningioma	70
Tabel 5.7. Ekspresi CDK4 berdasarkan derajat meningioma	70
Grafik 5.2 Histogram nilai ekspresi CDK4 pada meningioma derajat 1,2, 3	71
Tabel 5.8. Hasil uji korelasi Spearman's antara CDK4 dengan jumlah mitosis pada meningioma	71
Tabel 5.9. Hasil uji korelasi Spearman's antara CDK4 dengan derajat meningioma	71
Tabel 5.10. Ekspresi Cyclin B berdasarkan derajat meningioma	72
Grafik 5.3. Histogram nilai ekspresi Cyclin B pada meningioma	72
Tabel 5.11. Hasil uji korelasi Spearman's antara Cyclin B dengan jumlah mitosis pada meningioma	73
Tabel 5.12. Hasil uji korelasi Spearman's antara Cyclin B dengan derajat meningioma	73
Tabel. 5.13 Hasil Uji statistik perbedaan CDK1, CDK4, Cyclin B dengan derajat menggunakan Uji Kruskal-Wallis	73
Grafik 5. 4 Perbandingan ekspresi CDK 1, CDK 4, Cyclin B berdasarkan derajat meningioma dibandingkan dengan kontrol.	74
Tabel 5.14. Ekspresi CDK1, CDK 4 dan Cyclin B berdasarkan derajat meningioma dibandingkan dengan sampel kontrol	74

DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 2.1 Persentase tumor susunan saraf pusat. Meningioma merupakan tumor terbanyak dengan frekwensi 36,4%.	6
Grafik 2.1. Insiden meningioma semakin meningkat sesuai dengan penambahan umur	7
Gambar 2.2. Kelainan genetic yang mendasari terjadinya meningioma	10
Gambar 2.3 Gambaran MRI meningioma	12
Gambar 2.4 Model genetic Tumorigenesis dan Progresi Meningioma	13
Gambar 2.5 Meningioma intrakranial berdasarkan lokasinya	17
Gambar 2.6 Rekomendasi Terapi Meningioma WHO Derajat 1, 2 dan 3	19
Gambar 2.7 Angka rekurensi 5 tahun setelah pembedahan berdasarkan derajat meningioma	20
Gambar 2.8 Angka rekurensi 5 tahun setelah pembedahan berdasarkan besarnya reseksi tumor	21
Gambar 2.9 Fase siklus sel	27
Gambar 2.10 Mekanisme inaktivasi Cyclin-CDK selama proses siklus sel	30
Gambar 2.11. Keragaman Fungsi CDK-Cyclin	31
Gambar. 2.12. Proses perkembangan siklus sel serta protein dan cyclin yang terlibat	32
Gambar. 2.13 Peran kompleks Cdk-Cyclin dalam regulasi Rb/E2F dan FoxM1 memediasi terjadinya transkripsi	35
Gambar 2.14 Peran Cyclin-Cdk sebagai regulator siklus sel dalam pengaturan stem sel	36
Gambar 2.15 Berbagai fungsi Cyclin-CDK	39
Gambar 2.16 Struktur CDK 1	40
Gambar 2.17 Mekanisme yang terjadi pada fase G2-M	44
Gambar. 2.18 Struktur ikatan CDK4-Cyclin D1	48
Gambar 2.19. Model regulasi G1 – S dan relevansinya dengan kanker	50
Gambar 2.20. Regulasi transisi G1 / S oleh cyclins dan CDKs.	53
Gambar 5.1. Gambaran patologi meningioma derajat 1, 2 dan 3 dengan pewarnaan HE, pembesaran 40X	78
Gambar 5.2 Aktivitas tumorigenik CDK1	79

Gambar 5.3 Peran CDK1 dalam induksi apoptosis selama fase G2 dan M.	80
Gambar 5.4 Ekspresi berlebih CDK1 menginduksi sifat sel induk kanker	81
Gambar 5.5. Mekanisme gangguan regulasi CDK4/6-Cyclin D	83
Gambar 5.6. Peran biologis CDK4/6 pada sel kanker	84

SINGKATAN

Singkatan/symbol	Keterangan
APC	<i>Anaphase-Promoting Complex</i>
ATM	<i>Ataxia Telangiectasia Mutated</i>
CDK	<i>Cyclin-dependent kinases</i>
CDKI	<i>Cyclin-dependent kinase Inhibitor</i>
CBTRUS	<i>the Central Brain Tumor Registry of the United States</i>
COX-2	<i>Cyclooxygenase-2</i>
CSF	<i>Cytostatic Factor</i>
CT Scan	<i>CT (computed tomography) scan</i>
FOXM1	<i>Forkhead Box protein M1</i>
HE	<i>Hematoxylin-Eosin</i>
LPB	Lapangan Pandang Besar
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MPF	<i>Maturation/ Meiosis/ Mitosis-Promoting Factor</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
mTOR	<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
NF2	<i>Neurofibromatosis type 2</i>
NEBD	<i>Nuclear Envelope Breakdown</i>
PGE2	<i>Prostaglandin</i>
PI3K	<i>Phosphatidy linositol 3-Kinase)</i>
pRB	<i>protein Retinoblastoma</i>
SSP	Susunan Saraf Pusat

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Meningioma merupakan tumor tersering dari tumor primer susunan saraf pusat (SSP) yang meliputi sepertiga atau 36,4 % dari seluruh tumor SSP. Prevalensi diperkirakan sebesar 97,5/100.000 populasi di USA, dengan lebih dari 170.000 individu telah terdiagnosis meningioma. Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS). Insiden pada wanita lebih tinggi dibanding pria dengan perbandingan 2:1 pada meningioma intrakranial dan 10:1 pada meningioma spinal. Tumor ini sering terdiagnosis pada usia pertengahan. (Ostrom *et al.*, 2019)

Sistem klasifikasi meningioma berdasarkan klasifikasi WHO tahun 2021, meningioma dibagi menjadi 3 tingkatan: derajat 1, derajat 2 (*atypical meningioma*) dan derajat 3 (*anaplastic/malignant meningioma*). Penentuan klasifikasi berdasarkan gambaran histologi antara lain mitosis, nekrosis, *sheeting*, invasi ke dan otak. (Louis *et al.*, 2021). Meningioma derajat 1 merupakan tumor dengan insiden tertinggi, terbatas tegas dan tumbuh lambat. Beberapa tipe meningioma dapat tumbuh progresif dan secara klinis dapat menimbulkan komplikasi dan kematian. Tumor yang tumbuh progresif tersering dari tumor derajat 2 dan 3. (Deborah *et al.*, 2007).

Dua faktor penting penentuan prognosis meningioma adalah persentase reseksi tumor serta derajat histopatologi tumor. Tumor dengan derajat tinggi, yang tidak mencapai reseksi total memiliki angka rekurensi tinggi. Derajat WHO merupakan prediktor rekurensi yang paling bermanfaat, di mana masing-masing tipe *benign*, *atypical* dan *anaplastic meningioma* memiliki rekurensi 7-25%, 29-

52% dan 50-94% dalam 20 tahun. (Perry *et al.*, 2016). Hasil penelitian Deborah, dkk (2007) setelah evaluasi 5 tahun pasca operasi, menemukan angka rekurensi pada meningioma derajat 2, sebesar 12%, sedangkan pada derajat 3, sebesar 41%. Mitosis merupakan faktor prognostik rekurensi meningioma. (Adriana *et al.*, 2015). Hal tersebut yang menjadi pertimbangan klasifikasi WHO ke dalam tiga tingkatan berdasarkan gambaran histologi dan peningkatan resiko rekurensi.

Kontantinos, dkk (2016) melaporkan hasil operasi eksisi meningioma berdasarkan kategori Simpson derajat I (eksisi total tumor beserta duramater) dapat dikerjakan pada 63,5% kasus, derajat II (eksisi total tumor dengan koagulasi duramater) sebesar 22,1%, grade 3 (eksisi tumor tanpa koagulasi duramater): 10,3% dan grade IV (eksisi parsial) sebesar 4,1 %. Hasil tersebut menunjukkan eksisi tumor total tumor beserta duramater yang merupakan target utama penatalaksanaan tumor tidak dapat di kerjakan pada semua meningioma. Adanya residu tumor, merupakan faktor resiko rekurensi meningioma. Angka rekurensi semakin meningkat sesuai dengan kategori Simpson, pada derajat I memiliki angka rekurensi sekitar 10%, meningkat sampai 40% pada grade IV. (Giulia *et al.*, 2016)

Adanya residu tumor tumor membutuhkan observasi serta penatalaksanaan lanjut untuk mencegah kekambuhan. Pada beberapa kasus, tindakan reseksi tidak dapat dilakukan karena lokasi anatomis atau kondisi medis pasien. Atau reseksi tidak total, sehingga membutuhkan tindakan radiasi atau terapi medikamentosa untuk menekan pertumbuhan tumor. Penilaian faktor prediktor kekambuhan tumor merupakan tantangan bagi ahli bedah dalam penatalaksanaan lanjut meningioma setelah pembedahan. Beberapa terapi medikamentosa telah di kembangkan untuk penatalaksanaan meningioma berupa

regimen antiestrogen, antiprogesterone, antiangiogenik, regimen anti *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), namun belum menunjukkan hasil yang memuaskan.

Meskipun insiden meningioma cukup tinggi, namun mekanisme tumorigenesis, serta faktor yang mempengaruhi penyebab progresifitas masih belum diketahui pasti. Beberapa mekanisme yang telah diteliti meliputi p53/pRB *pathway*, ekspresi berlebihan *growth factor*, serta jalur MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) dan PI3K/AKT (*Phosphatidylinositol 3-Kinase*) *signaling pathway*. Jalur siklus sel menjadi perhatian para peneliti didasarkan pada kondisi bahwa proliferasi yang tidak terkendali, sebagian karena hilangnya regulasi siklus sel, memegang peranan kunci dalam inisiasi dan perkembangan kanker. Proliferasi berkelanjutan melalui deregulasi kontrol siklus sel telah terbukti sebagai salah satu ciri utama kanker. *Cyclin-dependent kinases* (CDK) adalah kelompok serin/treonin kinase yang mengendalikan perkembangan melalui siklus sel. Ekspresi berlebihan dari gen cyclin D-CDK 4 ditemukan dalam lebih dari 50% kanker payudara dan menyebabkan kanker pada tikus transgenik. Disregulasi dari ekspresi atau fungsi gen D berperan dalam hilangnya kontrol siklus normal dalam tumorigenesis. Ekspresi berlebihan dari cyclin B telah dilaporkan di berbagai tumor manusia, seperti kanker kolorektal, kanker paru-paru, dan skuamosa kepala dan leher, dan terkait erat dengan prognosis buruk pada kanker payudara. Ekspresi berlebihan CDK1 telah didokumentasikan dalam limfoma, melanoma lanjut dan kanker paru-paru, dan hilangnya sitoplasma CDK1 memprediksi kelangsungan hidup yang buruk dan menyebabkan resistensi kemoterapi pada beberapa tumor.

Penelitian yang mengevaluasi peran CDK terhadap patogenesis serta agresifitas meningioma belum banyak diteliti. Belum ada penelitian yang menilai

CDK yang paling berperan terhadap patogenesis serta penatalaksanaan meningioma. Saat ini penelitian masih terbatas pada hubungan antara Cdk 4 dengan prognosis meningioma dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia. Penelitian Sanja dkk (2008) menemukan hubungan antara imunoreaktivitas Cyclin D dengan grade meningioma. Pada beberapa jenis tumor Cdk 4 telah menjadi target terapi dengan menggunakan Cdk 4 inhibitor seperti ribiciclib, abemaciclib.

Informasi tentang peran CDK, Cyclin dapat menjadi sumber informasi patogenesis meningioma, prediktor agresivitas serta kekambuhan dan menjadi untuk target terapi pada penatalaksanaan meningioma. Berdasarkan kegunaan dalam aplikasi klinis, maka perlu dilakukan penelitian untuk melihat hubungan antara ekspresi mRNA Cyclin B, CDK 1 dan CDK 4 dengan derajat histopatologi meningioma.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana hubungan ekspresi mRNA cyclin B, CDK 1, dan CDK 4 dengan derajat meningioma?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Diketuinya hubungan ekspresi mRNA cyclin B, CDK 1, dan CDK 4 dengan derajat meningioma

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Diketuinya ekspresi mRNA Cyclin B pada meningioma WHO derajat 1, 2 dan 3
2. Diketuinya ekspresi CDK 1 pada meningioma WHO derajat 1, 2 dan 3
3. Diketuinya ekspresi CDK 4 pada meningioma WHO derajat 1, 2 dan 3.

4. Diketuainya hubungan mRNA Cyclin B, CDK 1 dan CDK 4 dengan mitosis sel meningioma.
5. Diketuainya hubungan mRNA Cyclin B, CDK 1 dan CDK 4 dengan derajat meningioma.

1.4. Hipotesis Penelitian

Peningkatan ekspresi mRNA Cyclin B, CDK 1 dan CDK 4 sesuai dengan dengan peningkatan derajat meningioma.

1.5. Manfaat Penelitian

1. Diketuainya informasi ilmiah tentang ekspresi mRNA Cyclin B, CDK 1 dan CDK 4 pada meningioma, derajat 1, 2 dan 3
2. Diketuainya informasi ilmiah tentang patogenesis derajat meningioma
3. Berdasarkan data hasil penelitian ini, dapat menjadi dasar untuk evaluasi faktor prognostik meningioma
4. Hasil penelitian dapat menjadi dasar untuk penatalaksanaan meningioma dengan menggunakan penghambat CDK/Cyclin sebagai target terapi

BAB II

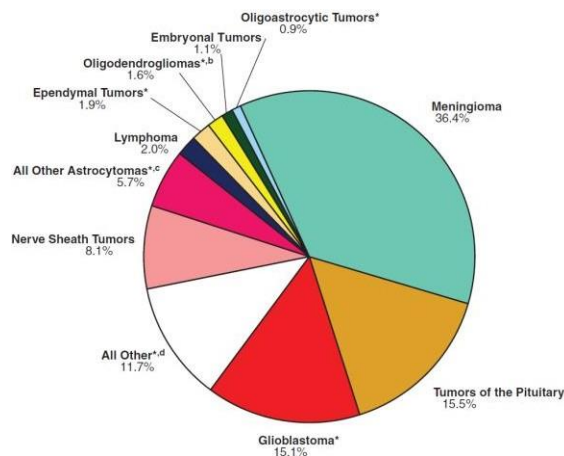
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Meningioma

2.1.1. Epidemiologi

Istilah meningioma pertama kali dipopulerkan oleh Harvey Cushing pada tahun 1922 yang memaparkan 85 kasus meningeal tumor dan memberikan istilah meningioma pada lesi tersebut. Meningioma merupakan tumor jinak ekstra-aksial yang tumbuh dari sel-sel *arachnoid cap* dengan pertumbuhan yang lambat. (Raj K.S *et al*, 2003)

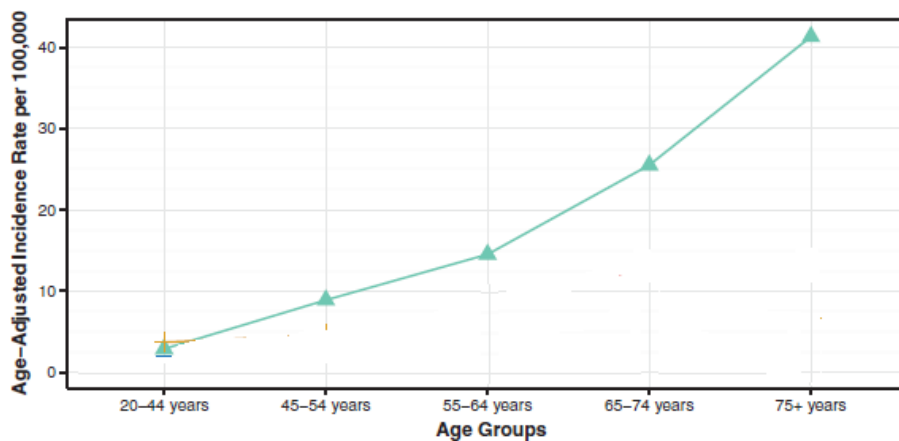
Berdasarkan data *the Central Brain Tumor Registry of the United States* (CBTRUS), meningioma merupakan tumor tersering pada tumor primer susunan saraf pusat meliputi sepertiga atau 36,7 % dari seluruh tumor sistim saraf pusat (SSP). Prevalensi diperkirakan sebesar 97,5/100.000 populasi di USA, dengan lebih dari 170.000 individu telah terdiagnosis meningioma.



Gambar 2.1 Persentase tumor susunan saraf pusat. Meningioma merupakan tumor terbanyak dengan frekwensi 36,4%. (Ostrom *et al.*, 2015)

Beberapa hal yang mempengaruhi insiden adalah usia, jenis kelamin dan ras. Insiden pada wanita lebih tinggi dibanding pria dengan perbandingan 2:1 pada meningioma intrakranial dan 10:1 pada meningioma spinal. Tumor ini sering terdiagnosis pada usia pertengahan kemudian dengan penambahan usia dan mencapai puncak pada usia di atas 60 tahun. Jarang dijumpai pada anak, namun jika ada, cenderung agresif. Ketika dijumpai pada anak, insidensi berkisar 0,4%-4,1% dari keseluruhan tumor otak pada anak dan sekitar 1,5%-1,8% dari keseluruhan meningioma intrakranial. Meningioma intrakranial anak cenderung terjadi pada anak laki-laki dibandingkan anak perempuan, dengan rasio 1,2-1,9:1 dan paling sering dijumpai pada ventrikuler (Ostrom *et al*, 2015).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa insiden meningioma intrakranial pada ras hitam *Non-Hispanics* sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan ras putih *Non-Hispanics* dan *Hispanics*. (Wiemels *et al.*, 2010).



Grafik 2.1. Insiden meningioma semakin meningkat sesuai dengan pertambahan umur. (Ostrom *et al.*, 2015)

Meningioma tidak hanya dijumpai pada intrakranial tetapi dapat juga dijumpai pada medulla spinalis, disebut juga spinal meningioma.

2.1.2. Etiologi dan Faktor Resiko

Beberapa faktor resiko yang diduga berhubungan dengan terjadinya meningioma meliputi radiasi ion, pola hidup, faktor genetik, trauma kepala, faktor hormon endogen dan penggunaan terapi hormonal, signal telepon, merokok, dan alergi. Dari semua faktor tersebut belum ada yang secara signifikan dan konsisten berhubungan langsung dengan terjadinya meningioma. (Wiemels *et al*, 2010)

a. Radiasi ionisasi

Radiasi ionisasi merupakan salah satu faktor resiko yang secara signifikan terbukti berhubungan dengan meningioma. Penelitian Munk, pertama kali melaporkan hubungan antara radiasi untuk tinea kapitis dengan insiden terjadinya meningioma, peneliti menunjukkan hasil individual yang telah mendapat radiasi 9.5 kali lebih berisiko mengalami meningioma dibanding individu yang tidak mendapat radiasi (95% CI 3.5–25.7). (Yigal S *et al*, 2009). Hasil penelitian Sadetzki (2005) menemukan variasi pada *the cell cycle control gene Ki-Ras and DNA repair gene ERCC2* dihubungkan dengan peningkatan resiko meningioma. Penelitian tersebut juga menunjukkan 2 gen pengontrol siklus sel, cyclin D1 and p16, memiliki efek perkembangan meningioma yang ditemukan pada pasien yang mendapat terapi radiasi.

b. Radiasi telepon genggam

Beberapa penelitian yang menilai hubungan antara radiasi telepon genggam dengan meningioma, menemukan bahwa tidak terdapat hubungan antara penggunaan telepon genggam dengan insiden meningioma. Penelitian metaanalisis yang melibatkan 13 negara : INTERPHONE menunjukkan hasil tidak dijumpai hubungan antara penggunaan telepon genggam dan insiden meningioma (Wiemels *et al.*, 2010).

c. Cedera kepala

Sejak Harvey Cushing memaparkan kasus meningioma, cedera kepala merupakan salah satu resiko terjadinya meningioma, meskipun hasil penelitian-penelitian tidak konsisten. Penelitian kohort pada penderita cedera kepala dan fraktur tulang kepala menunjukkan adanya hubungan dengan terjadinya meningioma secara signifikan. Penelitian oleh Phillips dkk (2002) menemukan hasil adanya hubungan antara cedera kepala dengan resiko terjadinya meningioma, terutama riwayat cedera pada usia 10 hingga 19 tahun. Resiko meningioma berdasarkan banyaknya kejadian cedera kepala dan bukan dari tingkat keparahannya (Wiemels *et al.*, 2010)

d. Genetik

Umumnya meningioma terjadi secara sporadik yaitu timbul pada pasien yang tidak memiliki riwayat keluarga dengan penderita tumor otak jenis apapun. Sindroma genetik turunan yang memicu perkembangan meningioma hanya beberapa dan jarang. Meningioma sering dijumpai pada penderita dengan Neurofibromatosis type 2 (NF2), yaitu kelainan gen autosomal dominan yang disebabkan oleh mutasi *germline* pada kromosom 22q12 (insiden di US: 1 per 30.000-40.000 jiwa). Selain itu, pada meningioma sporadik dijumpai hilangnya kromosom, seperti 1p, 6q, 10, 14q dan 18q atau tambahan kromosom seperti 1q, 9q, 12q, 15q, 17q dan 20q.

Gambar 2.2. Kelainan genetic yang mendasari terjadinya meningioma. (Riemenschneider MJ, Perry A, Reifenberger G, 2006)

e. Hormon

Meningioma predominan terjadi pada wanita dibandingkan dengan laki-laki dengan rasio 2:1 serta adanya pengaruh ukuran tumor dengan kehamilan, siklus menstruasi, dan menopause memberi dugaan adanya pengaruh ekspresi hormon seks. Penelitian-penelitian pada pengguna hormon eksogen seperti kontrasepsi oral dan terapi hormon pengganti dengan resiko timbulnya meningioma memberikan hasil yang kontroversial. Dijumpai adanya estrogen, progesteron, dan reseptor androgen pada beberapa meningioma, adanya hubungan kanker payudara dengan risiko meningioma, perubahan ukuran meningioma yang semakin membesar pada fase luteal dari siklus menstruasi dan siklus kehamilan, dan adanya proliferasi in vitro pada sel meningioma yang di kultur setelah terpapar dengan estrogen, merupakan bukti meningioma dipengaruhi oleh hormon (Lee E *et al.*, 2006). Sebuah penelitian pada 31 sampel meningioma melaporkan munculnya ekspresi gen lebih kuat berkaitan dengan reseptor progesteron dibandingkan dengan reseptor estrogen (Claus EB *et al.*, 2008). Penelitian-penelitian pada paparan hormon endogen memperlihatkan bahwa risiko

meningioma berhubungan dengan status *menopause*, paritas, dan usia pertama saat menstruasi. Namun, hal-hal ini masih menjadi kontroversi

(Wiemels *et al*, 2010).

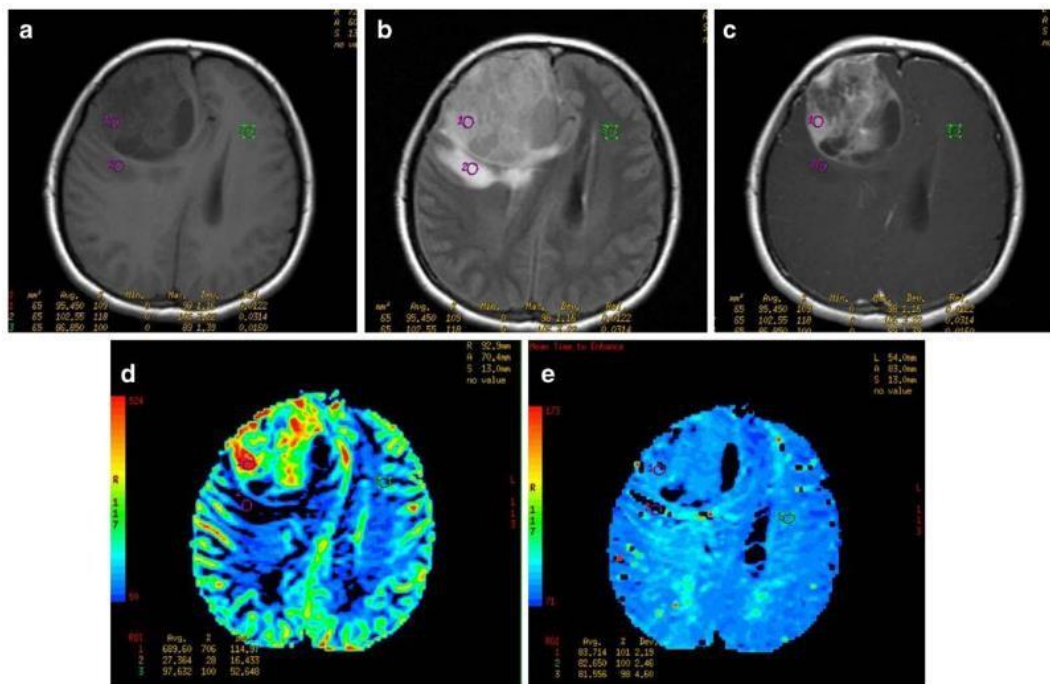
2.1.3. Diagnosis dan Penatalaksanaan

Penentuan diagnosis meningioma berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan radiologis serta pemeriksaan histologi jaringan. Gejala klinis meningioma tergantung lokasi, ukuran serta area fungsional yang tertekan tumor. Gejala yang paling sering yaitu nyeri kepala serta hemiparesis. Gejala lain yang dapat timbul yaitu kejang, perubahan perilaku, Parkinson, gejala fokal neurologis: hemiparesis, defek lapang pandang, gangguan visus, gangguan nervus kranialis. Akibat pertumbuhan tumor yang lambat, gejala dapat ringan bahkan asimtomatik sampai terdiagnosis. (Onder Us dan Dilaver Kaya, 2010)

CT Scan dan MRI merupakan modalitas pemeriksaan radiologi pada meningioma. MRI lebih unggul memberikan gambaran jaringan lunak yang terlibat, sementara CT Scan lebih unggul menggambarkan anatomi serta arsitektur tulang yang berhubungan dengan patologi tumor seperti hiperostosis, destruksi tulang serta kalsifikasi serta ossifikasi. Informasi tersebut dapat menjadi indikator diagnostik serta prognostik meningioma. Gambaran *CT Scan* menunjukkan 50-65% lesi hiperdens yang menyangat kontras (90%) dengan batas tegas. Kalsifikasi di temukan pada 20-30% kasus. Dapat ditemukan hiperostosis (78%) serta osteolitik. Perifokal edema ditemukan pada 60% kasus. Sedangkan *CT-scan* dengan kontras akan memberikan gambaran massa yang menyangat kontras dengan kuat dan homogen. Gambaran hiperostosis, edema peritumoral dan nekrosis sentral dapat dijumpai pada pencitraan *CT-scan* kepala. Gambaran khas pada *CT-scan* kepala

adalah adanya *dural tail* yaitu duramater yang melekat pada tulang (Osborn AG *et al*, 1992).

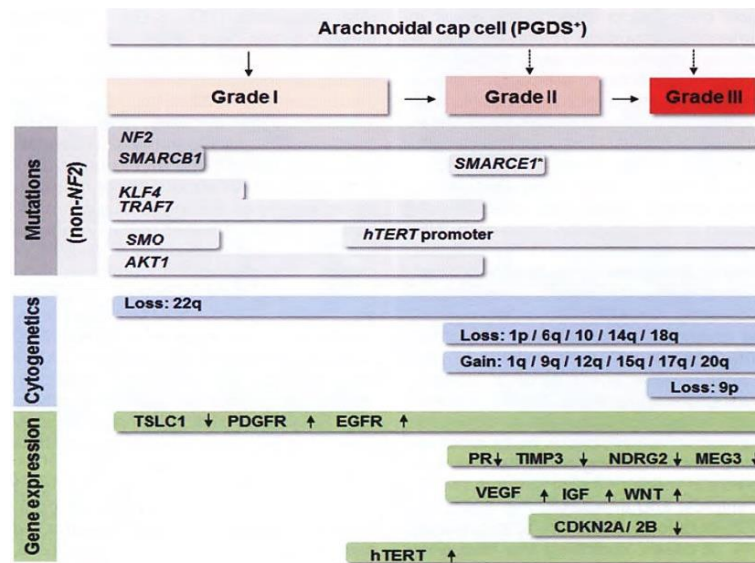
Pada MRI dengan T1W1 umumnya memberikan gambaran isointense sedangkan beberapa lainnya memberikan gambaran hipointense dibandingkan dengan *gray matter*. Pada T2W1, meningioma juga umumnya menunjukkan gambaran isointense dengan beberapa yang hiperintense karena kandungan airnya yang tinggi terutama pada jenis meningotheial, yang hipervaskular, dan yang agresif (Osborn AG *et al*, 1992). Pemeriksaan *MRI perfusion* bermanfaat untuk memprediksi tipe meningioma.



Gambar 2.3. Gambaran MRI perfusion meningioma. gambar MR a-c. Gambar T1-weighted (a), FLAIR (b) dan kontras-enhanced T1-weighted (c) menunjukkan lesi massa yang tidak homogen pada konveksitas kanan dengan sedikit edema peritumoral dan peningkatan heterogen. d peta rCBV. Warna "panas" (merah) dari ROI 1 di parenkim tumor menunjukkan rCBV yang lebih tinggi daripada *white matter* normal

2.1.4. Patogenesis Meningioma Intrakranial

Meningioma merupakan tumor solid pertama yang teridentifikasi terjadi akibat perubahan sitogenetik. Monosomi 22 merupakan kelainan genetik tersering yang ditemukan pada meningioma.



Gambar 2.4 Model genetic Tumorigenesis dan Progresi Meningioma. (Perry A, et al, 2016)

Hubungan antara rantai panjang kromosom 22 (22q) dengan meningioma pertama kali diteliti pada pasien dengan NF2. Pasien NF2 umumnya menunjukkan gejala schwannoma vestibular, meningioma multiple, dan beberapa tumor susunan saraf lainnya. Hampir lebih dari 50% meningioma mengalami lesi allel pada 22q12.2, region yang menanda gene NF2. (Wiemels et al, 2010)

Perubahan genetik akan memberi pengaruh pada 1 atau lebih *signaling pathway* yang berperan pada kanker. (Domingues et al, 2015) *Signalling pathway* yang paling banyak dan sering terjadi pada meningioma yang dihubungkan dengan proliferasi dan progresifitasnya: (Miller Jr et al., 2014; Domingues et al., 2015)

1. p53/pRB pathway

RB berperan menginhibisi siklus sel pada G1/S-phase checkpoint di mana RB berikatan (dan menginhibisi) faktor transkripsi E2F. Ketika ekspresi cyclin D meningkat (oleh stimulus mitogenik) akan berikatan dengan Cdk4 atau Cdk6 dan memfosforilasi RB, menginduksi pelepasan factor E2F dan menyebabkan transkripsi gen yang dibutuhkan untuk transisi fase G1 ke S. p16^{INK4a} dan p15^{INK4b} mencegah masuk fase S dengan menginhibisi kompleks Cdk4/cyclin D. p53 pathway berperan sebagai *feedback inhibitor* RB pathway, dengan menginduksi *cycle arrest*, DNA repair dan apoptosis ketika terjadi aktivasi RB pathway yang tidak normal. (Burd CE *et al*, 2013)

RB dan p53 pathways berhubungan melalui p14^{ARF}. Dimana pelepasan faktor transkripsi E2F yang mengikuti fosforilasi RB, juga menginduksi p14^{ARF}, yang memicu aktivitas p53 melalui regulasi negative protoonkogen MDM2 (*Murine Double Minute 2 Protein*). (Christophorou MA *et al*, 2006)

Disregulasi kedua pathway ini dihubungkan dengan hilangnya p16^{INK4a}, p15^{INK4b} dan p14^{ARF}, yang meningkatkan proliferasi sel dan progresi tumor. (Burd CE *et al*, 2013)

2. Growth Factor

Ekspresi berlebihan *growth factor* dan aktivasi *autocrine loops*, yang berperan sebagai sinyal extra dan intracelluar menginduksi pertumbuhan sel, migrasi sel dan angiogenesis, terutama melalui MAPK and PI3K/Akt *signaling pathways*. (Wrobel G *et al*, 2015)

3. MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) dan PI3K/AKT (*Phosphatidylinositol 3-Kinase*) *signaling pathway*

Keduanya berperan dalam proses selular multiple (diferensiasi, pertumbuhan dan apoptosis). MAPKs adalah *intracellular serine/threonine-specific protein kinases* yang teraktivasi melalui stimulus extracellular (sinyal mitogen), menyebabkan aktivasi sequensial suatu kaskade kinase yang dipicu oleh Ras/Raf-1/MEK-1/MAPK/ERK *pathway* dan menyebabkan fosforilasi/aktivasi faktor transkripsi di nucleus (Kopper F *et al.*, 2013)

PI3Ks adalah family dari enzim *intracellular signal transducer* yang memfosforilasi inositol phospholipids. Aktivasi PI3K akan menghasilkan fosforilasi/aktivasi PKB/Akt dan p70S6K melalui mTOR, yang merupakan elemen kunci dari efek *cell growth-promoting*. (Choy W *et al.*, 2011)

4. PLC γ /PKC-calcium signaling pathway

Reseptor tyrosine kinase juga mengaktivasi (memfosforilasi) Phospholipase C- γ 1 (PLC- γ 1) dan kemudian menghidrolisis of PIP2 (Phosphatidylinositol 4,5- Biphosphate) menjadi 2 *intracellular active second messengers* yaitu IP3 (Inositol1,4,5-Triphosphate) dan 1,2-DAG(1,2-Diacylglycerol). DAG mengaktivasi Protein Kinase C (PKC), yang akan masuk ke nukleus, mengaktivasi faktor transkripsi, dan menyebabkan proliferasi sel dan inhibisi apoptosis. Aktivasi EGFR juga akan mengaktivasi PLC- γ 1 dan meningkatkan aktivitas katalitik dan kemudian masuk mekanisme lain yang memicu pertumbuhan sel. (Mawrin C *et al.*, 2005)

5. Cyclooxygenase-2 (COX-2) signaling pathway

COX-2 adalah enzim yang bekerja pada sintesis prostaglandin dari *arachidonic acid*. Prostaglandin (PGE2) adalah mediator pada beberapa proses selular penting seperti pertumbuhan sel, proliferasi, angiogenesis, supresi apoptosis dan inflamasi. Normalnya, jumlah *arachidonic acid* di sitoplasma relatif

rendah, sehingga membatasi produksi prostaglandin. Namun, perubahan jumlah *arachidonic acid* dan overekspresi COX-2 dihubungkan dengan pertumbuhan dan progresifitas kanker, melalui *signaling pathway* seperti *growth factors* dan MAPK *pathway*. (Johnson dan Toms, 2005)

6. mTOR (*Mammalian Target of Rapamycin*) *signaling pathway*

mTOR adalah protein kinase yang dapat diekspresikan dalam dua kompleks berbeda (mTORC1 and mTORC2). mTORC1 meregulasi pertumbuhan sel dengan memicu peningkatan translasi dan sintesis protein melalui fosforilasi protein efektor p70S6K dan 4EBP1 (*Eukaryotic Translation Initiation Factor 4e-Binding Protein 1*) sedangkan mTORC2 teraktivasi dengan memfosforilasi Akt secara langsung. (Pakchow D *et al*, 2013)

7. Wnt/ β -Catenin *pathway*

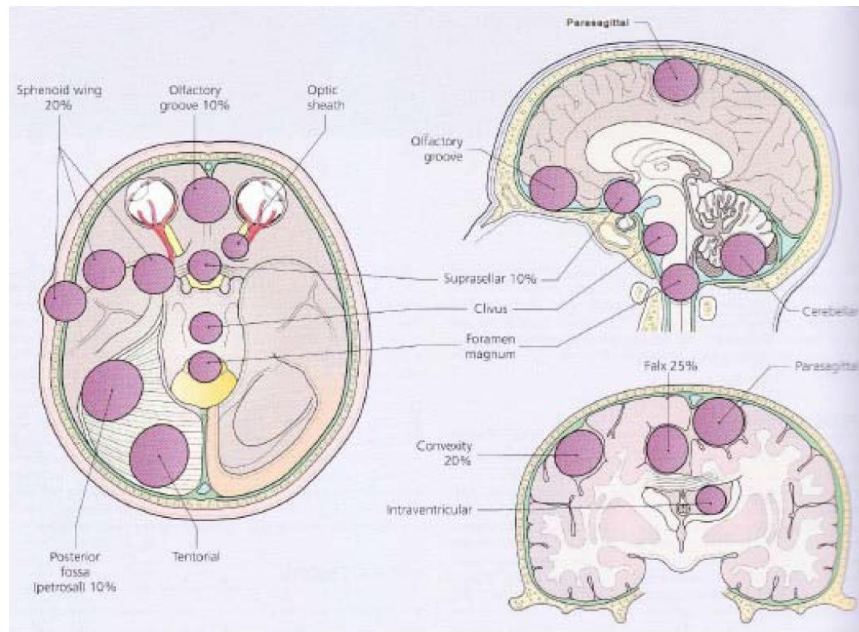
Hilangnya Merlin akan memicu hilangnya *contact inhibition* dan aktivasi Wnt/ β -catenin *signaling*, dimana terjadi translokasi β -catenin ke nukleus dan ekspresi *intracellular growth-associated protein* seperti c-myc dan cyclin D1. (Zhou L *et al*, 2010)

8. Hedgehog/PTCH *signalling pathway*

Ketika Hedgehog (Hh) berikatan dengan reseptornya, Patched(PTCH), maka protein transmembran Smoothed (SMO) teraktivasi, yang akan menginisiasi suatu kaskade sinyal dan mengaktivasi faktor transkripsi GLI1 (growth activator), GLI2 (growth activator) dan GLI3 (growth repressor) serta transkripsi gen yang berperan dalam pertumbuhan sel, proliferasi, angiogenesis, matrix remodelling dan homeostasis stem cell. (Miller Jr *et al.*, 2014; Domingues *et al.*, 2015)

1.5. Klasifikasi Meningioma

Meningioma dapat diklasifikasikan berdasarkan lokasi tumor, pola pertumbuhan dan histopatologi.



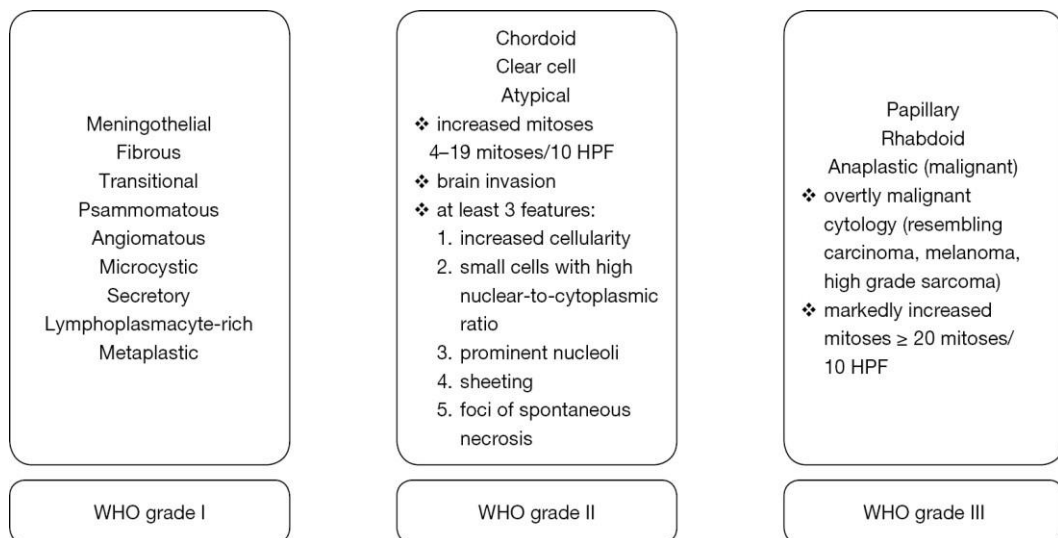
Gambar 2.5 Meningioma intrakranial berdasarkan lokasinya (Elizabeth & Alan, 2011)

Berdasarkan lokasi tumor dan urutan paling sering adalah konveksitas, parasagital, tuberkulum sella, falks, *sphenoid ridge*, *cerebellopontine angle*, *frontal base*, petroclival, fosa posterior, tentorium, fosa media, intraventrikel dan foramen magnum. Meningioma juga dapat timbul ekstrakranial walaupun sangat jarang, yaitu pada medula spinalis, orbita, cavum nasi, glandula parotis, mediastinum dan paru-paru (Elizabeth & Alan, 2011).

Berdasarkan klasifikasi WHO 2021, meningioma dikelompokkan menjadi 3 tingkatan yaitu meningioma derajat 1, 2 dan 3.

Tabel 2.1 Varian Meningioma dikelompokkan berdasarkan derajat WHO dan sifat biologis (Louis DN, et al. 2016)

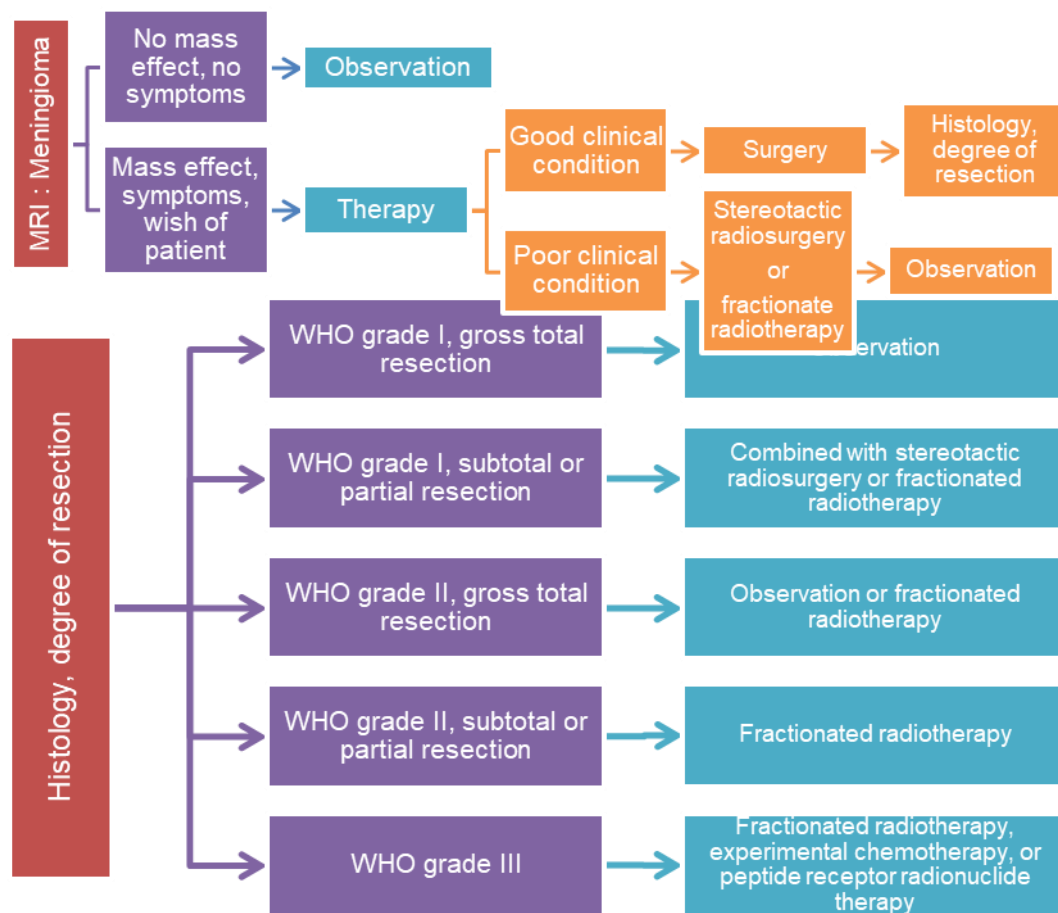
Dasar pengelompokan derajat meningioma berdasarkan gambaran histologi berikut: (Louis DN, et al. 2016)



2.1.6. Penatalaksanaan dan Prognosis

Penatalaksanaan pada meningioma dapat berupa embolisasi, pembedahan, *radiosurgery*, dan radiasi. Pembedahan merupakan terapi utama pada penatalaksanaan semua jenis meningioma. Tujuan utama pembedahan

yaitu paliatif dan reseksi tumor. Tujuan dari reseksi meningioma adalah menentukan diagnosis definitif, mengurangi efek massa, dan meringankan gejala. Target reseksi yang dilakukan meliputi jaringan tumor, batas duramater sekitar tumor, dan tulang kranium apabila terlibat. Reseksi tumor pada *skull base* sering kali subtotal karena lokasi dan perlekatan dengan pembuluh darah (Freed GB *et al.*, 2011).



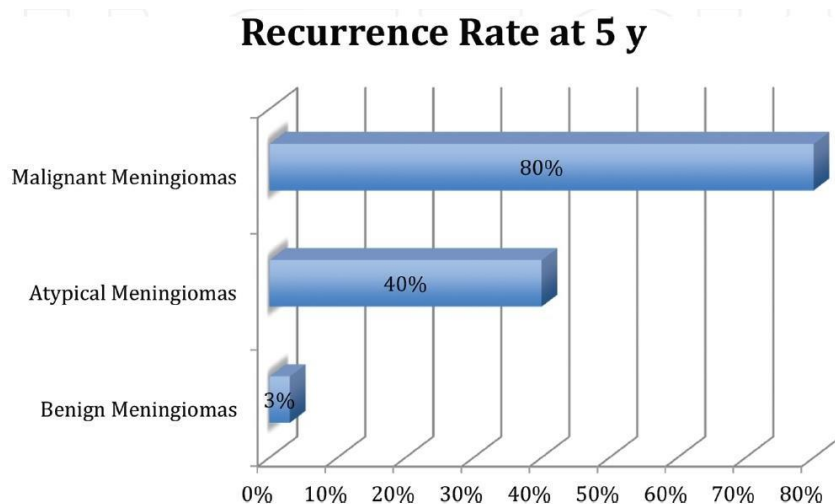
Gambar 2.6 Rekomendasi Terapi Meningioma WHO Derajat 1, 2 dan 3. (Goldbrunner *et al.*, 2016)

Radioterapi disarankan sebagai terapi adjuvan pada reseksi inkomplit, tumor rekuren dan atau grade tinggi, serta sebagai terapi utama pada beberapa

kasus seperti meningioma saraf optik dan beberapa tumor yang tidak dapat direseksi (Goldbrunner R *et al.*, 2016)

Modalitas lain pada terapi meningioma adalah *stereostatic radiosurgery*. *Stereostatic radiosurgery* umumnya dilakukan pada tumor jinak berukuran kecil atau yang tidak dapat dioperasi dan pada tumor residual atau rekuren setelah operasi. Terapi ini disarankan pada meningioma berukuran dibawah 3 cm yang melibatkan *skull base* dan sinus kavernosus dengan tujuan mencegah progresi tumor (Goldbrunner R *et al.*, 2016)

Prognosis dari meningioma intrakranial memiliki perbedaan pada setiap klasifikasi atau derajat meningioma. Invasi parenkim otak jelas akan mempengaruhi prognosis. Lokasi anatomis akan mempengaruhi laju rekurensi. Tumor-tumor yang berada pada posisi yang sulit akan menimbulkan kesulitan dalam eksisi total tumor, seperti pada *ala sphenoidalis*. Meningioma intrakranial yang menginvasi sinus, seperti pada meningioma parasagittal, memiliki rekurensi yang tinggi (Giulia C *et al.*, 2016)



Gambar 2.7 Angka rekurensi 5 tahun setelah pembedahan berdasarkan derajat meningioma (Giulia C *et al.*, 2016)

Gambar 2.8 Angka rekurensi 5 tahun setelah pembedahan berdasarkan besarnya reseksi tumor (Giulia C *et al.*, 2016)

2.2 Cyclin dan CDK

2.2.1. Siklus Sel

Teori siklus sel beserta pengaturannya pertama kali dipublikasikan pada 1970-an dan awal 1980-an. Komponen yang terkait dengan proses ini telah teridentifikasi melalui berbagai penelitian genetik dan biokimia, terutama dalam ragi, juga landak laut, *xenopus*, dan sel eukariotik yang lebih tinggi. Pengaturan pertumbuhan dan pembelahan sel menjadi perhatian para peneliti biomedis didasarkan pada kondisi bahwa proliferasi yang tidak terkendali, sebagian karena hilangnya regulasi siklus sel, memegang peranan kunci dalam inisiasi dan perkembangan kanker. Proliferasi berkelanjutan melalui deregulasi kontrol siklus sel telah terbukti sebagai salah satu ciri utama kanker (Hanahan & Weinberg, 2011).

Siklus sel merupakan proses perkembangbiakan sel yang memperantarai pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup. Siklus sel pada sel eukaryotik merupakan suatu tahapan kompleks meliputi penggandaan materi genetik,

pengaturan waktu pembelahan sel, dan interaksi antara protein dan enzim. Setiap sel baik normal maupun kanker mengalami siklus sel. (Nurse P, 2000)

Siklus sel memiliki dua fase utama, yakni fase S (sintesis) dan fase M (mitosis). Fase S merupakan fase terjadinya replikasi DNA kromosom dalam sel, sedangkan pada fase M terjadi pemisahan 2 set DNA kromosom tersebut menjadi 2 sel (Nurse, 2000). Fase yang membatasi kedua fase utama tersebut yang dinamakan *Gap*. G1 (*Gap-1*) terdapat sebelum fase S dan setelah fase S dinamakan G2 (*Gap-2*). Pada tahap G1, sel terus tumbuh dan melakukan persiapan untuk sintesis DNA yang merupakan fase awal siklus sel. Penanda fase ini adalah adanya ekspresi dan sintesis protein sebagai persiapan memasuki fase S. Sel akan melakukan sintesis DNA dan terjadi proses replikasi kromosom pada saat berada di tahap S. Pada tahap G2, sel yang telah mereplikasi kromosom akan menduplikasi keseluruhan komponen seluler lainnya. Selain itu terjadi pula sintesis mRNA dan beberapa protein tertentu. Secara umum tahap G0, G1, S, dan G2 disebut juga sebagai tahap interfase. Sedangkan pembelahan sel atau sering disebut dengan tahap mitosis, terdiri dari empat subtahapan, yaitu profase, metafase, anafase, dan telofase. Pada kondisi tertentu, sel-sel yang tidak membelah, karena tidak berdiferensiasi, meninggalkan tahap G1 dan pindah ke dalam tahap G0. Sel-sel yang berada dalam tahap G0 sering disebut sedang beristirahat/ diam (*quiescent*). (Kevin & Matthew , 2014)

Kontrol *checkpoint* sangat penting untuk menjaga stabilitas genomik. Kesalahan pada checkpoint akan meloloskan sel untuk berkembang biak meskipun terdapat kerusakan DNA atau replikasi yang tidak lengkap atau kromosom tidak terpisah sempurna sehingga akan menghasilkan kerusakan genetik. Hal ini merupakan penyebab timbulnya kanker. Oleh karena itu, proses

regulasi siklus sel mampu berperan dalam pencegahan kanker. *Checkpoint* pada fase G2 terjadi ketika ada kerusakan DNA yang akan mengaktifasi beberapa kinase termasuk *ataxia telangiectasia mutated* (ATM) kinase. Hal tersebut menginisiasi dua kaskade untuk menginaktivasi Cdc2-CycB baik dengan jalan memutuskan kompleks Cdc2-CycB maupun mengeluarkan kompleks Cdc-CycB dari nukleus atau aktivasi p21. *Checkpoint* pada fase G1 akan dapat dilalui jika ukuran sel memadai, ketersediaan nutrisi mencukupi, dan adanya faktor pertumbuhan (sinyal dari sel yang lain). *Checkpoint* pada fase G2 dapat dilewati jika ukuran sel memadai, dan replikasi kromosom terselesaikan dengan sempurna. *Checkpoint* pada metaphase (M) terpenuhi bila semua kromosom dapat menempel pada *spindle* mitosis. *Checkpoint* ini akan menghambat progresi siklus sel ke fase mitosis, sedangkan *checkpoint* pada fase M (mitosis) terjadi jika benang *spindle* tidak terbentuk atau jika semua kromosom tidak dalam posisi yang benar dan tidak menempel dengan sempurna pada *spindle*. (Molinari M, 2000)

Enzim yang berperan secara dominan dalam regulasi siklus pembelahan sel adalah MPF (*Maturation/ Meiosis/ Mitosis-Promoting Factor*), APC (*Anaphase-Promoting Complex*) dan CSF (*Cytostatic Factor*). Masing-masing enzim mempunyai komponen protein dan inhibitor yang spesifik pada setiap tahap siklus pembelahan sel. MPF merupakan suatu enzim heterodimer yang terdiri dari p34cdc2 sebagai suatu subunit katalitik dan cyclin sebagai suatu subunit regulatorik. CDK (*cyclin dependent kinase*) adalah nama lain dari p34cdc2; 34kDa. cdc2 merupakan gen siklus pembelahan sel yang mengkode enzim CDK pada siklus sel mamalia. CDK merupakan protein kinase yang aktivitasnya diregulasi oleh keadaan terfosforilasi pada saat berikatan dengan cyclin.

Siklus sel dikontrol oleh beberapa protein yang bertindak sebagai regulator positif dan negatif. Kelompok cyclin, khususnya cyclin D, E, A, dan B merupakan protein yang levelnya fluktuatif selama proses siklus sel. Cyclin bersama dengan kelompok CDK, khususnya CDK 4, 6, dan 2, bertindak sebagai regulator positif yang memacu terjadinya siklus sel. Pada mamalia ekspresi kinase (CDK4, CDK2, dan CDC2/CDK1) terjadi bersamaan dengan ekspresi cyclin (D, E, A, dan B) secara berurutan seiring dengan jalannya siklus sel (G1-S-G2-M) (Nurse, 2000). Aktivasi CDK dihambat oleh regulator negatif siklus sel, yakni *Cyclin-dependent kinase Inhibitor* (CKI), yang terdiri dari Cip/Kip protein (meliputi p21, p27, p57) dan keluarga INK4 (meliputi p16, p18, p19). Selain itu, tumor suppressor protein (p53 dan pRb) juga bertindak sebagai protein regulator negatif (Foster *et al*, 2010, Besson A, 2004)

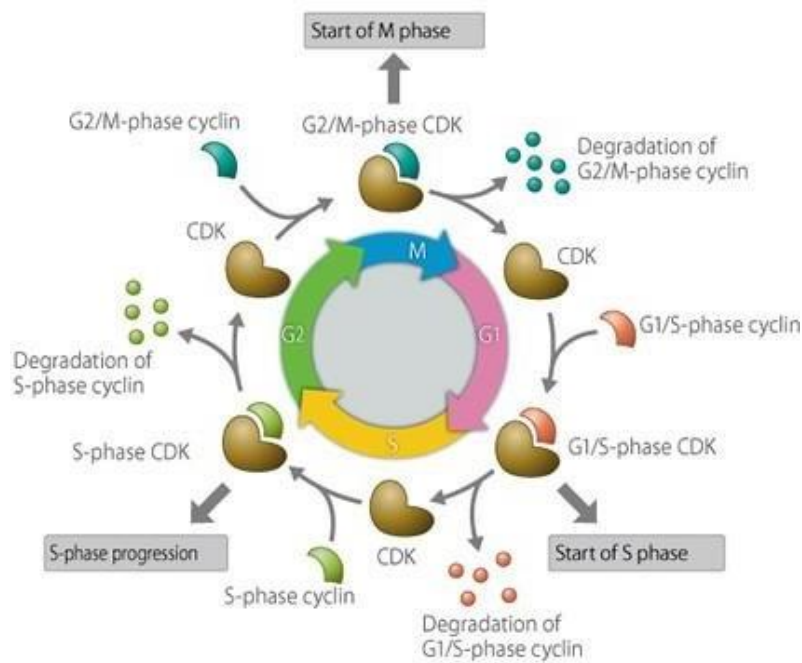
Selama siklus pembelahan sel, jumlah CDK relatif sama, namun jumlah cyclin bervariasi pada tiap tahapan. Pada keadaan *in vitro*, CDK dapat memfosforilasi sejumlah protein yaitu histone H1, nuclear lamins, RNA polymerase II, p60src, antigen T, dan faktor elongasi. Fosforilasi histone H1 secara *in vitro* telah digunakan sebagai dasar dalam teknik biokimia pada penentuan dan pengukuran aktivitas enzim CDK. Pada keadaan *in vivo*, aktivasi CDK akan memacu sel masuk ke dalam tahap M dan menyebabkan pecahnya membran inti (NEBD=*Nuclear Envelope Breakdown*), kromosom mengalami kondensasi, penyusunan kembali sitoskeleton, dan duplikasi centrosome. Aktivitas CDK dikontrol oleh asosiasi dengan cyclin, sintesis dan proteolisis oleh CDK sendiri, modifikasi posttranslasi, dan interaksi dengan sejumlah inhibitor kinase alami (CKI). (Molinari, 2000, Hara M, 2012)

Faktor paparan luar yang tinggi akan meningkatkan ekspresi CDKI dan menyebabkan siklus sel terganggu/ terhenti. Secara garis besar ada 2 golongan CDKI, yaitu: golongan Ink4 (p15, p16, p18, p19) dan golongan Cip/ Kip (p21cip1, p27kip1, p57kip2) 23. APC merupakan suatu multi-subunit ubiquitin ligase yang berperan dalam regulasi transisi pada siklus sel. APC tersusun oleh protein yang berasosiasi salah satu atau kedua aktivatornya yaitu: Cdc20 dan Cdh1, untuk mengarahkan polyubiquitylation pada securin, cyclin, dan regulator siklus sel lain yang akan didegradasi oleh proteasome. Cdc20 merupakan substrat target pada awal mitosis, sedangkan Cdh1 merupakan substrat target pada akhir mitosis dan selama memasuki tahap G1. Pada umumnya sel-sel eukaryotik yang telah menyelesaikan pembelahan pada tahap M akan masuk ke dalam tahap G1 untuk kembali melakukan pembelahan atau masuk ke dalam tahap G0 untuk beristirahat/ diam. Sel dapat keluar dari tahap G1 dan masuk ke dalam tahap G0, apabila berada dalam suatu kondisi tanpa faktor pertumbuhan. Sel-sel yang dikultur pada medium dengan kadar serum rendah tetap akan melakukan siklus sel G1-S-G2-M, namun setelah keluar dari tahap M akan langsung masuk ke tahap G0. Penambahan serum atau faktor pertumbuhan akan menginduksi sel untuk masuk kembali ke siklus sel sampai ke titik restriksi untuk proses berikutnya. Setelah melewati titik restriksi (protein Rb terfosforilasi), regulasi siklus sel tidak bergantung pada sinyal ekstraselular. Sel yang berada di tahap G0 yang distimulus dengan faktor pertumbuhan untuk masuk ke dalam G1, pada awalnya akan mengekspresikan cyclin D. Kemudian cyclin D akan berikatan dengan CDK4 dan CDK6. Kompleks CDK-cyclin tersebut lalu masuk ke dalam inti dan akan memfosforilasi protein Retinoblastoma (Rb), protein p107 dan p130. Fosforilasi terhadap Rb diikuti oleh aktivasi faktor transkripsi famili E2F dan memicu

transkripsi protein yang diperlukan pada tahap G1 dan S. Sinyal mitogenik yang menginduksi terbentuknya cyclin D, juga akan menginduksi terbentuknya cyclin E dan dua CDI yaitu: p21cip1 dan p27kip1. (Mochida *et al.*, 2009, Kevin & Matthew 2014, Foster *et al.*, 2010)

Kedua CDKI ini berikatan dengan cyclin D-CDK4 tapi tidak menghambat aktivitas kinasenya dan hasil penelitian menunjukkan bahwa p21cip1 dan p27kip1 justru dibutuhkan untuk pembentukan dan impor cyclin D-CDK4 oleh inti. Kedua CDKI tersebut efektif menghambat aktivitas cyclin E-CDK2. Dengan demikian keberadaan protein CDKI di tahap G1 adalah untuk memacu pembentukan kompleks aktif cyclin D-CDK4 dan pada saat bersamaan menunda/ menghambat aktivasi dari kompleks cyclin E-CDK2. Protein Rb merupakan penghambat transkripsi, karena keberadaannya menonaktifkan E2F yang berperan sebagai faktor transkripsi. Setelah protein yang diperlukan dalam tahap S dihasilkan dari transkripsi, maka cyclin D-CDK4, cyclin D-CDK6, dan cyclin E-CDK2 akan bersama sama memfosforilasi protein Rb, p107 dan p130 menjadi tidak aktif sama sekali. Hal ini akan mengaktifkan secara penuh proses transkripsi pada tahap S. Dengan demikian sel tersebut telah memasuki tahap S pada siklus sel. Pada sel mamalia jenis CDK dan cyclin yang ditemukan pada masa transisi tahap G1/S adalah CDK2 (p33), CDK4, CDK6, serta cyclin A, D1, D2, D3, dan E. Pada tahap S, kompleks cyclin E-CDK2 berperan menginisiasi replikasi DNA. Selain itu cyclin A-CDK2 juga berperan dalam menginisiasi replikasi DNA secara lengkap dan meningkatkan ekspresi histon dan beberapa gen/protein yang akan dibutuhkan saat replikasi. Pada tahap G2, terjadi peningkatan sintesis cyclin B yang akan mencapai tingkat konsentrasi maksimal pada saat tahap M. Pada sel mamalia jenis CDK dan cyclin yang ditemukan pada masa transisi tahap G2/M adalah

CDK1 (Cdc2) serta cyclin A, B1, dan B2. Setelah tumbuh dan menduplikasi komponen sel, maka sel akan melakukan pembelahan menjadi dua sel anakan yang terjadi pada tahap M. Pada tahap M (profase, metafase, anafase, dan telofase), defosforilasi dan aktivasi cyclin B-CDK1 berpengaruh terhadap perubahan morfologi selama mitosis berlangsung. Substrat dari cyclin B-CDK1 adalah nuclear lamins, protein nucleolar, protein centrosomal, dan Eg5. Pada subtahap profase – metafase, konsentrasi MPF berada pada level tertinggi dan akan mengalami penurunan pada sub tahap berikutnya. Sebelum memasuki subtahap berikutnya (anafase), sel oosit yang telah mencapai metafase pada meiosis II (MII), akan tertahan pada kondisi tersebut karena pengaruh CSF. Komponen utama CSF adalah golongan Emi yaitu Emi1 (Early Mitotic Inhibition 1) dan Emi2. (Mochida, 2009, Kevin & Matthew 2014, Hara M etal, 2012)



Gambar 2.9 Fase siklus sel

2.2.2 Cyclin dan CDK

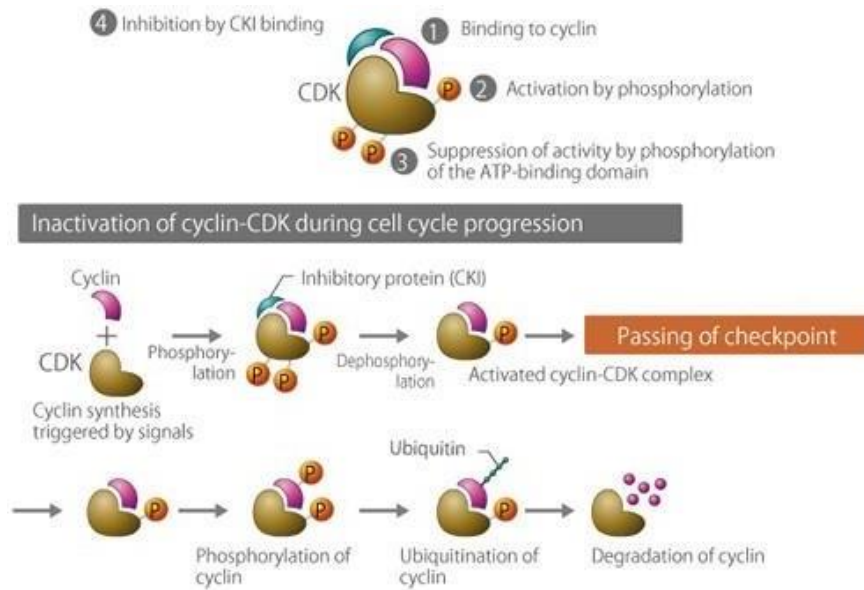
Siklus sel dikontrol secara ketat oleh tiga protein pengatur siklus sel: cyclin, subunit katalitik atau CDK), dan CDKI. Berbagai CDK, cyclin dan CDKI terlibat dalam mengatur perkembangan siklus sel yang berbeda dari tahap ke tahap.

CDK adalah keluarga serin / treonin kinase yang mengendalikan perkembangan melalui siklus sel. Subunit pengatur CDK, yang dikenal sebagai cyclin, membentuk kompleks dengan mitra katalitiknya berfungsi sebagai check point kinase, protein spesifik yang mengatur perkembangan siklus sel.

Kompleks cyclin-CDK mengatur progresi linear proses sel dari keadaan istirahat (G₀), fase pertumbuhan (G₁), melalui replikasi DNA (S), dan akhirnya ke pembelahan sel (M). Abnormalitas yang terjadi pada fase mana pun memulai sinyal yang memicu penangkapan siklus sel sampai masalah teratasi. Ada sekitar 11 cyclin yang ditemukan dalam sel manusia, banyak yang memiliki anggota subfamili (mis., D-type cyclin D1, D2, dan D3). Cyclin bermitra dengan CDK terkait dan faktor perakitan untuk mempengaruhi peran kanonik mereka dalam regulasi check point siklus sel. Beberapa cyclin menunjukkan peran noncanonical yang tidak tergantung kinase. Genom manusia mengkode 26 kinase protein serin / treonin yang membentuk cabang CDK dan CDK dari subfamili CMGC dari kinome manusia; dari jumlah tersebut, 21 diklasifikasikan sebagai CDK. CDK memiliki peran spesifik pada pertumbuhan sel, proliferasi, dan regulasi transkripsional sebagai respons terhadap sinyal ekstraseluler dan intraseluler. Hubungan evolusi antara subfamili CDK ini telah diidentifikasi dan mengindikasikan bahwa subfamili CDK dapat dibagi menjadi subfamili yang secara langsung atau tidak langsung mengatur siklus sel (CDK1-6, 11 dan 14-18) atau transkripsi (CDK7-13, 19 dan 20). (Hara M *et al*, 2012; J Xuereb & Blundell, 2008; Lim & Kaldis , 2013)

Serupa dengan semua protein kinase, CDK memiliki struktur dua lobus yang terdiri dari terminal amino yang kaya lembaran beta dan terminal karboksi kaya alpha helix, dengan situs aktif diapit di antara keduanya (Malumbres, 2014; Malumbres, et al, 2009). Anggota keluarga CDK memiliki inti katalitik berisi kantong pengikat ATP, domain pengikat cyclin dan domain pengikat T-loop. Secara kolektif fitur-fitur ini berpartisipasi dalam aktivasi CDK. CDK diekspresikan secara konstitutif tetapi, seperti namanya, biasanya membutuhkan asosiasi dengan subunit cyclin untuk menjadi aktif. Regulasi CDK sebagian besar terjadi melalui kontrol produksi dan degradasi cyclin, karena pengikatan cyclin menggeser T-loop, mengekspos situs pengikatan substrat dan menyelaraskan residu kritis di situs aktif yang menjadi primadona kinase untuk aktif. Selain melalui pengaturan pengikatan cyclin, fosforilasi juga mengkoordinasikan aktivitas CDK dalam merespon berbagai rangsangan. Sebagian besar CDK memiliki situs fosforilasi penghambatan dalam P-loop dari situs aktif yang ketika terfosforilasi mengganggu pengikatan ATP di situs katalitik. Beberapa CDK juga memiliki situs fosforilasi yang diaktifkan dalam loop-T mereka yang merupakan substrat dari kinase pengaktif CDK yang mencakup CDK lainnya. Fosforilasi situs T-loop ini meningkatkan pengikatan substrat dan stabilitas kompleks, merangsang pengaktifan CDK.

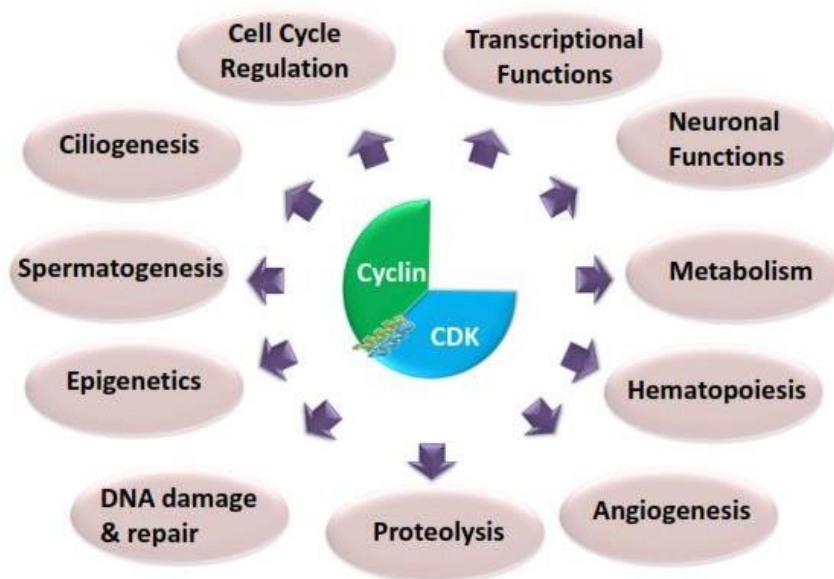
CDK pertama kali diidentifikasi dari bintang laut, *Xenopus* dan ragi dan dikloning pada tahun 1970-an-1980-an sebagai produk gen yang terlibat dalam regulasi siklus pembelahan sel. *Serine/threonine proline-directed kinases*, tidak aktif dalam bentuk monomeriknya, berasosiasi dengan keluarga subunit pengatur, cyclin, dinamai sesuai profil periodik ekspresi dan degradasi, untuk membentuk kompleks heterodimerik fungsional.



Gambar 2.10 Mekanisme inaktivasi Cyclin-CDK selama proses siklus sel (Malumbre 2009)

Fungsi kompleks CDK / Cyclin yang utama adalah pengatur pertumbuhan dan pembelahan sel yang bonafid, yang terlibat dalam kontrol ketat dan tepat waktu dalam perkembangan siklus sel, melalui fosforilasi substrat yang terlibat dalam replikasi DNA, kondensasi kromatin, perakitan spindle mitotik dan pengaturan pembungkus inti sel. (Malumbre M, 2014; Malumbre 2009)

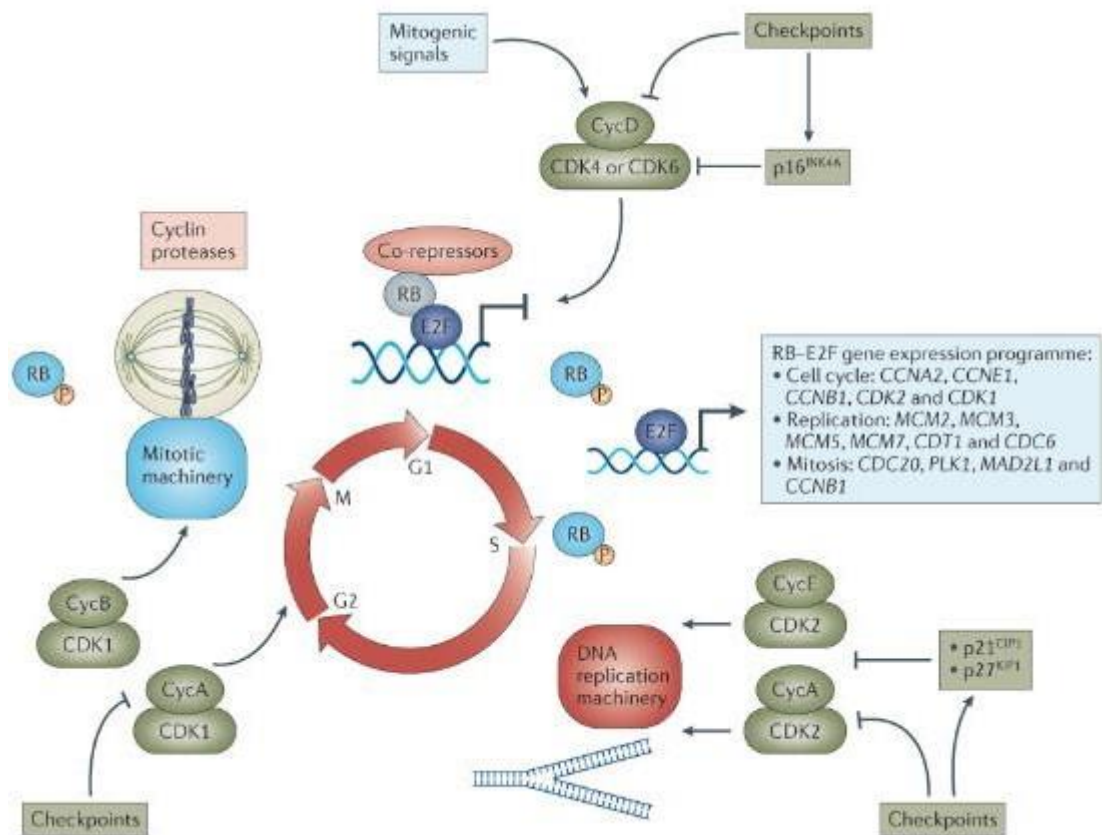
Beberapa penelitian terbaru telah mengungkapkan keberadaan heterodimer CDK / Cyclin spesifik berperan dalam proses transkripsi dan fungsi siklus non-sel lainnya, serta dalam pengaturan patologis. Oleh karena itu, keragaman fungsional dari kelompok kecil protein kinase ini penting, dan sekarang sepenuhnya diakui bahwa CDK / Cyclin terlibat dalam berbagai proses biologis, termasuk regulasi transkripsi, metabolisme, diferensiasi neuron, dan perkembangan sel. (Uzma Asghar *et al*, 2015; Lim & Kaldis, 2013)



Gambar 2.11. Keragaman Fungsi CDK-Cyclin

Regulasi siklus sel oleh CDK

Cyclin-dependent kinase (CDK), mengikat dan membentuk kompleks yang memungkinkan perkembangan siklus sel. Pada transisi G1-S, awalnya diatur oleh kompleks D1-3 cyclin, dan dilanjutkan oleh cyclin E, dengan mengaktifkan masing-masing CDK4-6 dan CDK2. Kegiatan kompleks tersebut dikendalikan oleh mekanisme fosforilasi-defosforilasi dan cyclin dependent kinase inhibitor (CKI). Dari semua CKI, p27 / Kip1 adalah salah satu regulator terpenting yang mengikat kompleks dengan CDK4, CDK6 atau CDK2 dan membawa sel ke fase S dari regulasi siklus sel. Ini akan secara negatif mengatur fase G1 awal dan juga fase G1 pada titik-titik yang diperlukan.



Gambar. 2.12. Proses perkembangan siklus sel serta protein dan cyclin yang terlibat (Uzma Asghar *et al.*, 2015)

Fungsi Cyclin dalam Migrasi Sel

Peran noncanonical alternatif untuk cyclin terus ditemukan; mereka memiliki peran penting dalam perkembangan kanker dan metastasis. Metastasis adalah penyebab utama kematian pada pasien kanker. Migrasi seluler sangat penting untuk metastasis tumor. Cyclin D1 memainkan peran penting dalam perkembangan siklus sel melalui hubungan dengan CDK4 dan CDK6, yang memfosforilasi dan menonaktifkan protein retinoblastoma (pRb), yang mengarah pada ekspresi subset dari gen target E2F terkait proliferasi yang terkait. Selain kanonik ini efek tergantung pRB dalam perkembangan siklus sel, fungsi D1 cyclin dalam migrasi seluler, respons dan perbaikan kerusakan DNA, dan stabilitas

kromosom. Makrofag, fibroblas, dan sel epitel telah meningkatkan adhesi dan mengurangi migrasi setelah menipisnya cyclin D. Mutan cyclin D1K112E yang gagal mengaktifkan CDK4 atau CDK6 tidak meningkatkan migrasi sel seperti protein D cyclin tipe *wild*. Hal ini menunjukkan bahwa induksi cyclin D dari migrasi sel adalah fungsi yang tergantung pada CDK. Beberapa substrat CDK4 / CDK6 memiliki peran dalam adhesi sel, migrasi sel, dan remodeling sitoskeletal. Fosforilasi substrat ini seperti filamin A12 dan Ral GEF Rgl213 oleh cyclin D1-CDK4 berkontribusi pada peningkatan detasemen dan motilitas sel.

Pengikatan Cyclin D1 p27Kip1 berkontribusi pada migrasi seluler. p27Kip1 memiliki efek pada migrasi sel baik yang bergantung pada ras atau RhoA melalui penghambatan RhoA. Pengenalan p27Kip1 menyelamatkan cacat migrasi seluler cyclin D1 *-/-* sel. Cyclin D1 tidak dapat menginduksi migrasi setelah p27Kip1 *knockdown*. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan cyclin D1 dengan p27Kip1 dapat berkontribusi pada fungsi cyclin D1 dalam migrasi sel tidak tergantung dari CDK4 / CDK6.11. Selain itu, cyclin D1 mempromosikan migrasi seluler dengan pertama mengikat p27Kip1 dan dengan demikian menghambat aktivitas Rho GTPase dan kedua dengan upregulasi transkripsi ROCKII dan kedua. trombospondin (TSP-1). Seringnya amplifikasi dan ekspresi berlebih dari cyclin D1 dalam sel kanker dan upregulasinya oleh faktor pertumbuhan mitogenik, sitokin, protein ECM, dan gen lain, yang penting dalam perkembangan ganas, menunjukkan bahwa cyclin D1 mungkin memiliki peran sentral dalam memediasi invasi dan metastasis sel kanker dengan mengendalikan pensinyalan Rho / ROCK dan ekspresi TSP-1.

Peran tradisional untuk cyclin A2 adalah dalam siklus sel somatik pada 2 titik kritis, ketika mengaktifkan CDK2 pada awal replikasi DNA dan ketika mengaktifkan

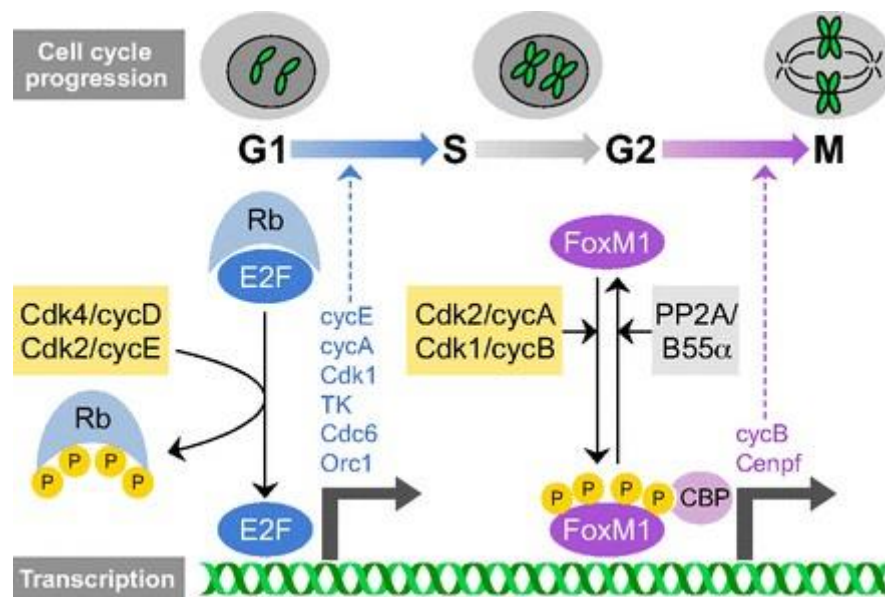
CDK1 selama transisi G2-M. Selama fase S, cyclin A2 sebagian besar terletak di nukleus, di mana ia mengatur inisiasi dan perkembangan sintesis DNA. Cyclin A2 melokalisasi ke centrosom di sitoplasma, di mana ia mengikat ke kutub spindle mitosis dalam cara CDK-independen. Dalam penelitian terbaru, cyclin A2 mengatur organisasi sitoskeletal dan migrasi sel secara independen dari pengikatannya dengan CDK. Menipisnya cyclin A2 menyebabkan perubahan dalam distribusi filamen aktin dan peningkatan migrasi sel. Cyclin A2 berinteraksi dengan, dan mengaktifkan, RhoA, regulator aktin, yang pada gilirannya mengatur migrasi secara negatif. Selain itu, sel-sel kanker metastatik menunjukkan lebih sedikit ekspresi cyclin A2 daripada sel-sel tumor yang tidak menyebar. (Lim & Kaldis P, 2013)

Cyclin dalam Regulasi Transkripsi

Selain memiliki peran yang pasti dalam perkembangan siklus sel, banyak cyclin juga mengatur transkripsi gen dan pemrosesan mRNA. Selama 20 tahun terakhir, sejumlah penelitian menemukan cyclin D1 dalam regulasi transkripsional. Cyclin D1 secara fisik berasosiasi dengan lebih dari 30 faktor transkripsi dan mengatur aktivitas transkripsi reseptor estrogen dan reseptor androgen. Histone asetiltransferase P1 / CAF, p300, dan AIB1 berikatan dengan cyclin D1. Chromatin imunopresipitasi (ChIP) menunjukkan hubungan cyclin D1 dalam promotor gen target, berkorelasi dengan deasetilasi histone (H3), khususnya pada lisin H3. (Lim & Kaldis P, 2013)

Beberapa cyclin terlibat dalam fosforilasi subunit terbesar RNAPII untuk mengatur transkripsi: cyclin C –CDK8, cyclin H – CDK7, cyclin T – CDK9, dan cyclin K – CDK12 atau CDK13. Fosforilasi RNAPII terjadi dalam pengulangan heptapeptide (YS2PTS5PS7), disebut sebagai domain terminal karboksi (CTD). Serangkaian

peristiwa fosforilasi pada S2, S5, dan S7 dari CTD mempengaruhi siklus transkripsi dari inisiasi ke perpanjangan dan terminasi. Cyclin C – CDK8 bergabung dengan protein Mediator Med12 dan Med13 untuk membentuk subkompleks yang berinteraksi dengan kompleks Mediator inti untuk menekan transkripsi yang diaktifkan dan melakukannya dengan memfosforilasi RNAPII CTD dan subunit cyclin H dari TFIIF.



Gambar. 2.13 Peran kompleks Cdk-Cyclin dalam regulasi Rb/E2F dan FoxM1 memediasi terjadinya transkripsi. (Lim & Kaldis P, 2013)

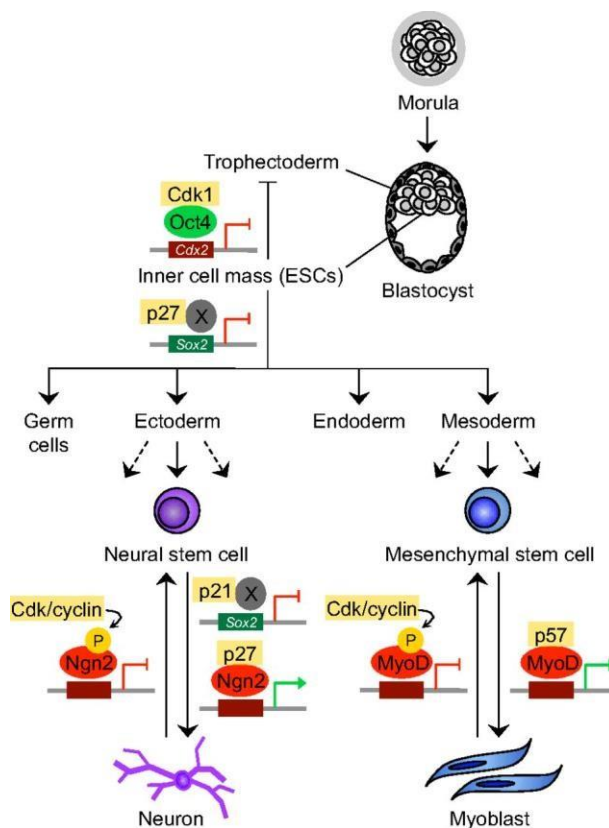
Kompleks cyclin H – CDK7-Mat1 (CDK-activating kinase [CAK]) mengikat TFIIF dan merupakan S5 kinase utama yang memudahkan izin promotor dan memungkinkan transisi ke inisiasi transkripsi, sehingga menyediakan hubungan langsung antara mesin siklus sel dan regulasi transkripsi. (Blazek ET AL, 2011)

Pada manusia, cyclin T (T1, T2, dan T2b) dan CDK9 bergabung untuk membentuk PTEFb yang disebut kompleks, yang memfosforilasi CTD S2 dari RNAPII untuk mengatur pemanjangan transkripsi yang produktif. Cyclin T kemungkinan

berkontribusi terhadap limfoma yang berasal dari garis keturunan B- dan sel T yang mungkin. melalui penghambatan apoptosis.

Cyclin dalam Pengaturan Sel Punca

Cyclin tampaknya memiliki peran spesifik dan nonredundan dalam fungsi sel induk. Penelitian terbaru menunjukkan cyclin C telah ditemukan dalam penghambatan sel sel progenitor hematopoietik (HSPC).



Gambar 2.14 Peran Cyclin-Cdk sebagai regulator siklus sel dalam pengaturan stem sel (Lim & Kaldis P, 2013)

Eksresi Cyclin C diinduksi pada aktivasi sitokin di HSPC dari darah tali pusat. siRNA ke cyclin C meningkatkan populasi HSPC yang diam, meningkatkan kemampuan pembentukan koloni jangka panjang, dan meningkatkan kapasitas *engraftment*. (Miyata, 2010)

Cyclin dalam Kerusakan DNA dan Ketidakstabilan Genom

DNA genom terus-menerus terpapar radiasi pengion, karsinogen kimia, dan oksigen reaktif yang dihasilkan oleh metabolisme seluler. Selain itu, sel-sel peka terhadap kesalahan dari replikasi DNA selama fase S. Untuk menjaga integritas genom, sel memiliki beberapa mekanisme pencegahan yang diteruskan melalui jalur DDR. Cacat pada DDR dapat menyebabkan ketidakstabilan genom dan kanker. Beberapa kompleks cyclin-CDK terlibat dalam DDR. Cyclin D terbukti direkrut ke lokasi kerusakan DNA, membutuhkan terminal karbokexon 5, dan untuk mengikat langsung ke RAD51 (a recombinase yang menggerakkan proses rekombinasi homolog). Pengurangan tingkat cyclin D1 dalam berbagai jenis sel kanker manusia (limfoma sel mantel, kanker payudara, karsinoma sel skuamosa, dan kanker kolorektal) menyebabkan gangguan perekrutan RAD51 ke DNA yang rusak, sehingga meningkatkan sensitivitas sel terhadap radiasi. MEFs yang tidak memiliki cyclin D1 menunjukkan peningkatan sensitivitas terhadap radiasi pengion, yang berkurang setelah pemberian cyclin D1. Cyclin F menghambat ketidakstabilan genom dengan memastikan bahwa peristiwa duplikasi centrosome tunggal terjadi sekali per siklus sel. Selain itu, cyclin F mendegradasi nukleol dan protein terkait-spindel 1 (NuSAP1) untuk mengatur arsitektur spindle mitosis yang benar. Peran nuklir untuk cyclin F berkaitan dengan regulasi RRM2 (anggota keluarga ribonucleotide reductase 2). RRM2 mengkatalisasi konversi ribonukleotida menjadi dNTP yang diperlukan untuk replikasi dan perbaikan DNA. Kegagalan cyclin F untuk menurunkan RRM2 menyebabkan ketidakseimbangan dalam kumpulan dNTP dan peningkatan frekuensi mutasi genomik. Ekspresi RRM2 yang berlebihan menyebabkan kanker paru-paru pada tikus, dan

peningkatan RRM2 pada kanker ovarium, kolorektal, hati, dan payudara berhubungan dengan prognosis yang buruk. (Uzma Asghar, *et al.*, 2015)

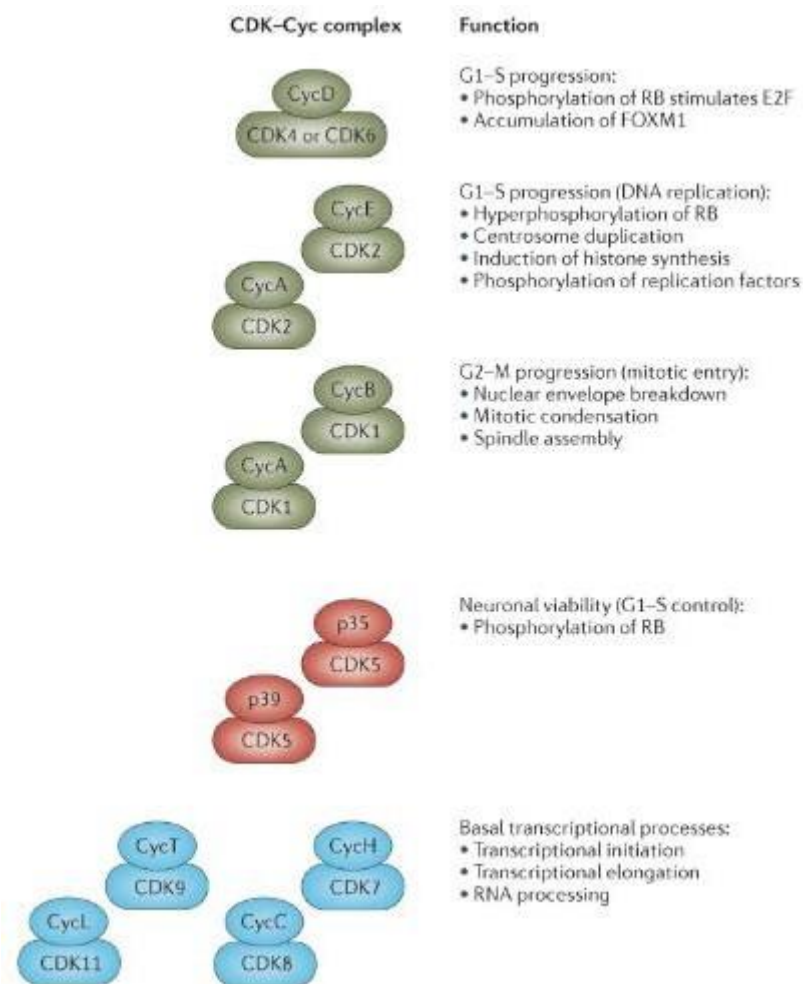
Cyclin dalam Pengaturan Ketidakstabilan Kromosom

Ketidakstabilan kromosom (CIN) adalah merupakan gambaran yang terdapat pada oleh sel-sel tumor padat dan dianggap sebagai ciri khas kanker. CIN dapat disebabkan oleh berbagai mekanisme dan menghasilkan komplemen kromosom abnormal. Sejumlah publikasi menunjukkan mekanisme alternatif dimana cyclin D1 dapat mendorong tumorigenesis dengan menginduksi CIN. Penelitian pada hepatosit primer tikus menunjukkan bahwa cyclin D1 yang mengekspresikan transien menginduksi mitosis abnormal, akumulasi centrosom supernumerary, defek pada spindel mitosis, dan aneuploidi. Perubahan jumlah salinan pada cyclin D1 telah diusulkan sebagai biomarker untuk CIN pada kanker kandung kemih. Amplifikasi gen D1 hanya terlihat pada sampel kanker kandung kemih positif-CIN dan berkorelasi dengan tingkat tumor. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa cyclin D1 mempromosikan CIN sebagai konsekuensi langsung dari penginduksian ekspresi program transkripsional mitosis yang diatur oleh cyclin D1.

Eksresi berlebihan dari cyclin B telah dilaporkan pada berbagai tumor manusia, seperti kanker kolorektal, kanker paru-paru non-sel kecil, dan karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, dan peningkatannya berhubungan erat dengan prognosis yang buruk pada kanker payudara. Selain itu, ekspresi berlebih dari cyclin B terkait dengan aneuploidy dan proliferasi tinggi karsinoma mammae manusia. Dalam ragi, ekspresi berlebih dari cyclin B1 dan cyclin B2 mengarah ke CIN. Pada eukariota, faktor pematangan fase M (MPF) mengatur masuk ke dalam Fase M. Kompleks MPF terdiri dari cyclin B1 dan CDK1 dan cukup untuk

menginduksi transisi fase-G2-M meiotik dalam oosit yang belum matang dan mitosis sel somatik.

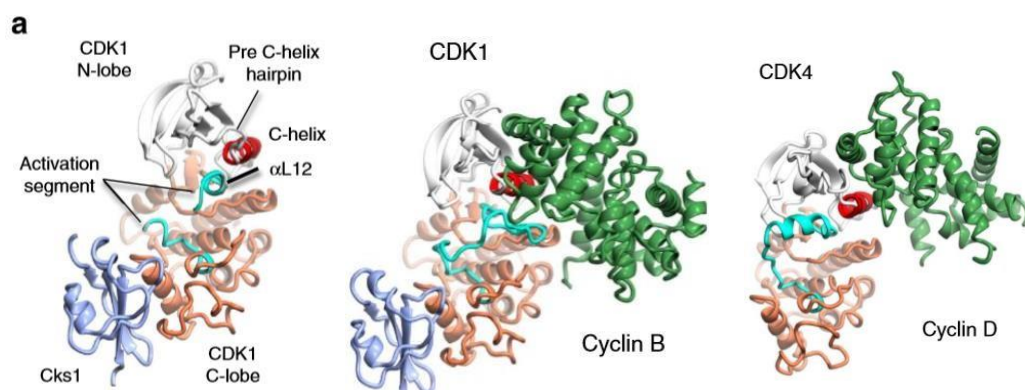
Cyclin E mengikat subunit katalitiknya, CDK2 dan menfosforilase protein Rb, mengikuti cyclin D1-CDK4 / 6, untuk melepaskan faktor transkripsi E2F yang mengatur gen yang terlibat dalam perkembangan fase-S. Pada sel manusia primer, deregulasi ekspresi cyclin E dan p53 yang rusak menyebabkan peningkatan ploidi dan ketidakstabilan genetik. (Uzma Asghar *et al.*, 2015)



Gambar 2.15 Berbagai fungsi Cyclin-CDK (Uzma Asghar, et.al. 2015)

2.2.3. CDK1 dan Cyclin B

CDK1 pertama kali dimurnikan sebagai komponen faktor pematangan dari telur *Xenopus* yang tidak dibuahi. Selanjutnya CDK1 manusia diidentifikasi sebagai homolog *Saccharomyces cerevisiae* / *Schizosaccharomyces pombe* Cdc28 / Cdc2 dan dikloning dengan melengkapi *S. pombe* Cdc2 +. CDK1 bermitra dengan cyclin A dan cyclin B. Hilangnya gen CDK1 tidak dapat di gantikan oleh CDK2, menunjukkan bahwa selain pola dan tingkat ekspresinya, CDK1 memiliki struktur fitur yang unik. Sel yang telah direkayasa untuk hanya mengekspresikan CDK1 dapat berhasil mereplikasi DNA mereka dan membelah, karena dalam keadaan ini CDK1 dapat membentuk kompleks dengan cyclin A, B, D dan E. Tikus *knockout* tanpa CDK1 tidak dapat hidup, dan fibroblas embrionik yang diperoleh terhenti di G2 setelah kehilangan induksi CDK1, sering mengalami replikasi ulang DNA sebagai hasil dari peningkatan aktivitas CDK2-cyclin A. CDK1 juga telah terbukti memiliki peran penting dalam meiosis di mana, dalam oosit tikus, diperlukan untuk pematangan. (Brown M et.al. 2014, Asghar U, et.al. 2015)



Gambar 2.16 Struktur CDK 1 (Nicholas et al, 2015)

CDK1 adalah satu-satunya CDK untuk bermitra dengan cyclin B, yang mulai meningkat di S-phase. Tidak seperti CDK1-cyclin A yang aktivitasnya mendeteksi

akumulasi cyclin, aktivitas CDK1-cyclin B diatur oleh aktivitas berlawanan Wee1 kinase dan Cdc25 phosphatases, yang bersama-sama menentukan tingkat fosforilasi penghambatan dalam situs aktif CDK1. Aktivasi CDK1-cyclin B, pertama kali terdeteksi di centrosomes, menandakan timbulnya mitosis, dan kompleks CDK1 dari kedua cyclin A dan B diperlukan untuk memastikan keberhasilan siklus sel. CDK1-cyclin B memfosforilasi sejumlah besar substrat dan, dalam vertebrata, sejumlah fosfatase telah terbukti menghambat aktivitasnya. Namun, pada akhirnya, aktivitas CDK1 terdegradasi pada permulaan anafase sebagai hasil dari cyclin A dan cyclin B *ubiquitination* dan degradasi berikutnya melalui aktivitas masing-masing APC / C E3 *ubiquitin ligase* dan *proteasome*. (Tobias & Piotr, 2017)

Ekspresi CDK1, serta cyclin A2 dan cyclin B diatur melalui aktivitas kompleks ikatan E2F. Ikatan ini terdiri dari molekul utama E2F dan RB, tapi juga faktor transkripsi FOXM1 dan kompleks DREAM (dimerization partner, RB-like, E2F dan multivulval class B), yang secara khusus hampir sama dengan pengaturan transkripsi dalam progresi mitosis. Cyclin yang berikatan dengan CDK1 secara intrinsik tidak stabil dan telah diatur oleh mekanisme degradasi yang diperantarai oleh ubiquitin.

Selama fase G2, CDK1 mengikat dan diaktifkan oleh cyclins A2 dan B. Setelah masuk ke dalam mitosis, cyclin A2 terdegradasi dan aktivitas CDK1 dipertahankan dalam bentuk ikatan dengan cyclin B; Aktivitas CDK1 kinase diperlukan untuk masuknya mitosis dan beberapa kejadian mitosis. Cyclin B terdegradasi APCCDC20 dan APCCDH1 pada mitosis lanjut. Ini melemahkan aktivitas CDK1 dan memungkinkan pemisahan kromosom dan penyelesaian mitosis dan sitokinesis. Selain regulasi oleh mitra cyclin-nya, aktivitas CDK1 dihambat oleh fosforilasi di Thr-14 dan Tyr-15, masing-masing dimediasi oleh

kinase MYT161 dan WEE162; fosforilasi ini dilepaskan oleh fosfatase CDC25 (Tobias & Piotr, 2017)

Perkembangan dari fase G2 ke M diawali oleh aktivasi kompleks CDK1/cyclin B, yang aktivitasnya harus dipertahankan dari profase ke metafase, dalam nukleus. Selanjutnya ke dalam anafase secara kritis bergantung pada penghancuran mendadak aktivitas CDK1/cyclin B. Dengan demikian, aktivitas CDK1 diatur dalam pola spasial sementara pada beberapa tingkat, yaitu (1) pada level transkripsi cyclin B1 dan (pada taraf yang lebih rendah dari CDK1); (2) pada tingkat regulasi fosforilasi CDK1; (3) pada tingkat distribusi subseluler dari cyclin B1; dan (4) pada tingkat degradasi siklin B.

CDK1/cyclin B heterodimer menginduksi mitosis dengan memfosforilasi dan mengaktifkan enzim yang mengatur kondensasi kromatin, pemecahan membran nuklir, reorganisasi mikrotubulus spesifik-mitosis, dan sitoskeleton aktin yang memungkinkan mitosis sel. Fosforilasi Thr161 oleh CAC (CDK mengaktifkan kinase, heterodimer dari cyclin H dan CDK7), sangat diperlukan agar CDK1 menjadi aktif. CDK1 inhibitor p21Cip1 / Waf1 secara langsung menghambat aktivitas CDK1. Cyclin B, aktivator alosterik obligat dari CDK1, mengubah lokalisasi subselulernya dari sitosol ke nukleus, lebih awal selama mitosis. Keseimbangan antara impor dan ekspor cyclin B (dan juga Cdc25C, yang diperlukan untuk aktivasi CDK1) dipengaruhi oleh status fosforilasinya. Pada akhir metafase, APC harus menghancurkan cyclin B agar mitosis berlanjut.

Transkripsi CDK1 cenderung stabil sepanjang siklus sel, meskipun dimodulasi dalam kondisi patologis. Sebagai contoh, p53 secara negatif mengatur transkripsi CDK1 dan juga cyclin B1. Gen cyclin B ditranskripsi dan mRNA-nya distabilkan dari akhir fase-S. Fosforilasi CDK1 pada Thr14 (terutama oleh Myt1 kinase) dan

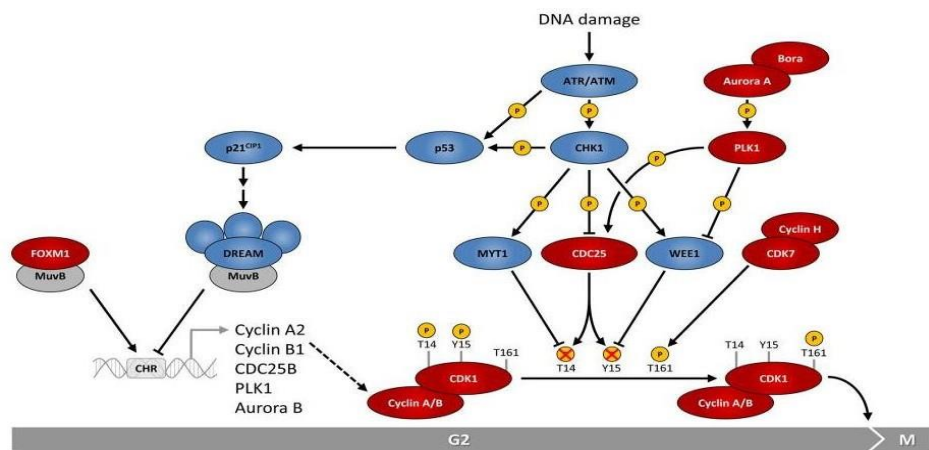
Tyr15 (terutama oleh Wee1 kinase) menghambat aktivitasnya selama fase G2 dari siklus sel, mungkin melalui efek langsung pada aktivitas phosphotransfer, sementara defosforilasi CDK1 pada Thr14 dan Tyr15 oleh phosphatase Cdc25C menghambat CDK1 selama mitosis dini. Pengaturan aktivitas Cdc25 fosfatase oleh CDK1 itu sendiri, serta oleh fosfatase dan kinase lainnya, bersifat kompleks.

Eksperimen pada tikus coba menunjukkan bahwa CDK1 dibutuhkan untuk proliferasi sel mamalia; dan hanya CDK 1 satu-satunya yang dapat mengawali onset mitosis (yaitu dimulainya fase M). Mitosis yang dimulai sebelum waktunya sebelum fase S selesai akan menyebabkan kehancuran kromosom dan kematian sel. Terdapat beberapa faktor yang membatasi aktivitas CDK1 sampai replikasi

DNA selesai dengan komplit, sehingga tidak terjadi kerusakan DNA. Integrasi replikasi DNA dan aktivitas CDK1 ini diperantarai oleh jalur sinyal *checkpoint* seperti CHK1 dan WEE1, yang akan menekan aktivitas CDK1 melalui inhibisi fosforilasi, dan juga melalui aktivitas kelompok fosfatase *Cell Division Cycle 25* (CDC25). Pada saat dimulainya mitosis, aktivasi CDK1 terjadi secara cepat melalui umpan balik positif dimana CDK1 akan memfosforilasi dan menginaktivasi WEE1. CDK1 selanjutnya akan memfosforilasi banyak substrat lainnya, menyebabkan hancurnya membran ini, kondensasi kromosom dan pembentukan benang-benang spindel mitosis. Kelanjutan dari proses metafase menuju anafase diatur oleh *checkpoint* benang spindel, dan kelanjutan ke fase anafase bergantung pada berkurangnya aktivitas CDK1 melalui degradasi cyclin B1 oleh anaphase-promoting complex.

Hal yang menarik adalah, berlawanan dengan gangguan genetis dari CDK lainnya yang mengatur fase S, terdapat bukti yang terbatas untuk menunjukkan bahwa aktivitas CDK1 mengalami disregulasi akibat mutasi genetis dalam proses

tumorigenesis. Terganggunya jalur sinyal p53 atau kerusakan checkpoint DNA secara tidak langsung menyebabkan disregulasi protein CDK1, dan ekspresi cyclin B yang tinggi secara umum berhubungan dengan fenotipe kanker yang lebih agresif. Meskipun demikian, keharusan bahwa aktivitas CDK1 harus tertekan agar tidak terjadi mitosis dan aspek letal dari aktivitas CDK1 yang tidak terkendali mungkin dapat membatasi potensinya sebagai faktor pemicu kanker.(Tobias and Piotr S, 2017).



Gambar 2.17 Mekanisme yang terjadi pada fase G2-M

Cyclin A berikatan dengan CDK1 selama fase S / G2 akhir. Aktivasi FOXM1 dan FOXK2 oleh CDK1/cyclin A diikuti CDK1/cyclin B memunculkan ekspresi gen yang terlibat dalam perkembangan mitosis. Cyclin B mRNA dan protein meningkat selama fase G2 dari siklus sel, tetapi dihancurkan selama mitosis pada transisi metafase-anafase. Fosforilasi sitoplasma cyclin B, sebelum mitosis, mendorong translokasi protein ke nukleus dan mengurangi pengeluaran nucleus. CDK1/cyclin B memiliki sejumlah substrat nukleus: Struktur kompleks ini dikenal sebagai fosforilasi lamin, yang mengarah ke pemecahan amplop nuklir (Peter M, et.al. 1990). Dengan demikian, aktivitas CDK1 merupakan penentu utama dari

perkembangan siklus sel, memastikan proses mitosis terjadi dalam urutan yang benar sehingga replikasi sel berlangsung dengan ketepatan yang tinggi.

CDK1 juga terlibat dalam respons kerusakan DNA. BRCA1 adalah target aktivitas CDK1 kinase dan mutasi bagian fosforilasi CDK1 pada BRCA1, atau hilangnya aktivitas CDK1, mengurangi jumlah fokus BRCA1. Akibatnya, sel-sel menjadi peka terhadap agen perusak DNA. Temuan ini mengarah pada hipotesis bahwa inhibisi CDK1 akan menginduksi *-deficient-like-phenotype* dan bahwa inhibisi PARP merupakan strategi baru penanganan kanker BCRA wild type. Menariknya, pendekatan ini telah menunjukkan selektivitas untuk sel-sel yang mengalami transformasi dan telah ditoleransi dengan baik pada model tikus dari KrasG12D, Trp53L / L adenokarsinoma paru-paru (Johnson & Saphiro, 2010).

Studi genetik ablasi CDK1 pada tikus telah menunjukkan bahwa CDK1 diperlukan untuk perkembangan siklus sel dan bahwa CDK1 secara fungsional dapat mengkompensasi hilangnya CDKs 2, 3, 4 dan 6 dengan membentuk kompleks aktif dengan cyclins D dan E untuk menggerakkan siklus sel. Namun, mengingat fungsi CDK1 untuk proliferasi sel, senyawa yang menghambat CDK1 secara langsung, atau tidak langsung dengan menghambat cyclins A2 dan B1, dapat menyebabkan efek toksis sehingga membatasi manfaat klinis (Helfrid H, *et al*, 2007).

Eksresi berlebihan dari cyclin B telah dilaporkan pada berbagai tumor manusia, seperti kanker kolorektal, kanker paru-paru non-sel kecil, dan karsinoma sel skuamosa kepala dan leher, dan gangguan regulasinya berhubungan erat dengan prognosis yang buruk pada kanker payudara. Selain itu, ekspresi berlebih dari cyclin B terkait dengan aneuploidy dan proliferasi tinggi karsinoma mammae manusia. Pada ragi, ekspresi berlebih dari cyclin B mengarah ke CIN. Pada

eukariota, faktor pematangan fase M (MPF) mengatur masuk ke dalam Fase M. Kompleks MPF terdiri dari cyclin B dan CDK1 dan cukup untuk menginduksi transisi fase 2-M meiosis dalam oosit yang belum matang dan mitosis sel somatik. (David S, *et al.*2007)

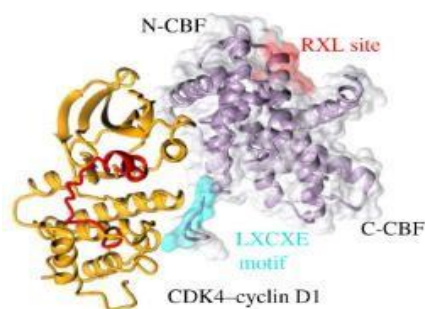
Eksresi transgenik yang berlebihan dari Cyclin B meningkatkan kerentanan terhadap tumor kulit dan paru yang diinduksi karsinogen, mengungkapkan peran potensial untuk peningkatan aktivitas CDK1 dalam tumorigenesis. CDK1 terbukti diperlukan untuk pembentukan dan perkembangan tumor. Sebagai contoh, ablasi spesifik hati dari CDK1 memberikan resistensi terhadap tumorigenesis hati yang diinduksi NRASG12V65, sementara penghambatan CDK1 memblokir pertumbuhan mutan kanker kolorektal mutan (G12V, G12D atau G12S) xenografts. Namun, aktivitas CDK1 sangat penting untuk proliferasi juga dalam sel normal, non-transformasi, dengan alasan penghambatan CDK1 sebagai strategi terapi yang layak. Menariknya, penghambatan CDK1 memicu apoptosis limfoma tikus yang diekspresikan berlebih MYC dan tumor hati, serta sel-sel kanker payudara triple-negative mirip kanker manusia. Temuan ini meningkatkan kemungkinan bahwa penghambatan CDK1 mungkin secara spesifik membunuh sel-sel tumor, sementara hanya menyebabkan penghentian siklus sel sementara di jaringan normal. Menariknya, aktivitas CDK1 tidak biasanya dideregulasi pada kanker; salah satu dari beberapa contoh adalah amplifikasi gen CCNB3 pada kanker prostat neuroendokrin. Eksresi transgenik yang berlebihan dari Cyclin B meningkatkan kerentanan terhadap tumor kulit dan paru yang diinduksi karsinogen, mengungkapkan peran potensial untuk peningkatan aktivitas CDK1 dalam tumorigenesis.

CDK1 terbukti diperlukan untuk pembentukan dan perkembangan tumor. Sebagai contoh, ablasi spesifik hati dari Cdk1 memberikan resistensi terhadap tumorigenesis hati yang diinduksi NRASG12V65, sementara penghambatan CDK1 memblokir pertumbuhan mutan kanker kolorektal mutan (G12V, G12D atau G12S) xenografts.

Percobaan *knockout* tikus telah menunjukkan bahwa CDK1 diperlukan untuk proliferasi sel mamalia; itu adalah satu-satunya CDK yang dapat memulai timbulnya mitosis (yaitu, fase M). Inisiasi prematur mitosis sebelum selesainya fase S menghasilkan kerusakan kromosom dan kematian sel. (David S, *et al.*2007)

2.2.4. CDK 4- Cyclin D

CDK4 dan CDK6 secara struktural merupakan protein yang memiliki banyak kesamaan secara biokimiawi maupun biologis, meskipun sebagian besar penelitian hanya berfokus pada CDK4. CDK6 secara khusus terlibat dalam proliferasi sel-sel prekursor hematologis. Aktivitas CDK4 dan CKD6 dikontrol oleh ikatannya dengan cyclin tipe D (yakni cyclin D1, cyclin D2 dan cyclin D3). Ekspresi cyclin D ditandai sebagai suatu respons '*delayed-early*' terhadap sinyal mitogenik, dan fungsinya sebagai promoter dan *enhancer* dalam mengontrol transkripsi. (Uzma Asghar et al, 2015)



Gambar. 2.18 Struktur ikatan CDK4-Cyclin D1

Hanya cyclin D N-terminal CBF (N-CBF) yang berikatan dengan CDK4, lobus C-terminal dari kedua protein terentang terpisah untuk menciptakan celah yang diisi pelarut antara kedua subunit. Ikatan Cyclin D tidak menyebabkan konformasi CDK4 aktif. (Wood DJ & Endicott JA, 2018)

Berbeda dengan jenis CDK lainnya, dimana hubungan cyclin tampaknya terjadi secara spontan, pada CDK4 dan CDK6 proses ini diatur oleh beberapa mekanisme yang berbeda. Protein penghambat CDK4 yaitu INK4 yang mencakup p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p18^{INK4C} dan p19^{INK4D}, merupakan protein yang berikatan dengan CDK4 dan CDK6, yang berfungsi sebagai satu-satunya penghambat CDK4 dan CDK6. Protein INK4 dapat melemahkan ikatan cyclin tipe D dengan CDK4 maupun CDK6, dan juga berinteraksi dengan domain katalitik CDK4 dan CDK6 yang berpotensi menekan aktivitas kinasenya. Protein-protein ini secara negatif meregulasi CDK4 dan CDK6 dalam responnya terhadap kondisi stres. Sebagai contoh, p16^{INK4A} diinduksi oleh sejumlah onkoprotein yang menghambat transformasinya, ekspresi berlebihan dari p16^{INK4A} menyebabkan terhentinya siklus sel pada fase G1. Hal yang sama juga terjadi pada p15^{INK4B} yang juga diinduksi oleh supresi yang diperantarai *transforming-growth factor-β* pada proliferasi sel epitel. CDK4 dan CDK6, sama seperti jenis protein CKD lainnya, juga mengalami fosforegulasi. Oleh karena itu, CDK4 dan CDK6 memegang peranan kunci pada integrasi jalur sinyal *downstream* yang berbeda-beda, dimana aktivasi keduanya dapat mengawali dimulainya siklus sel. (Uzma Asghar *et al.*, 2015)

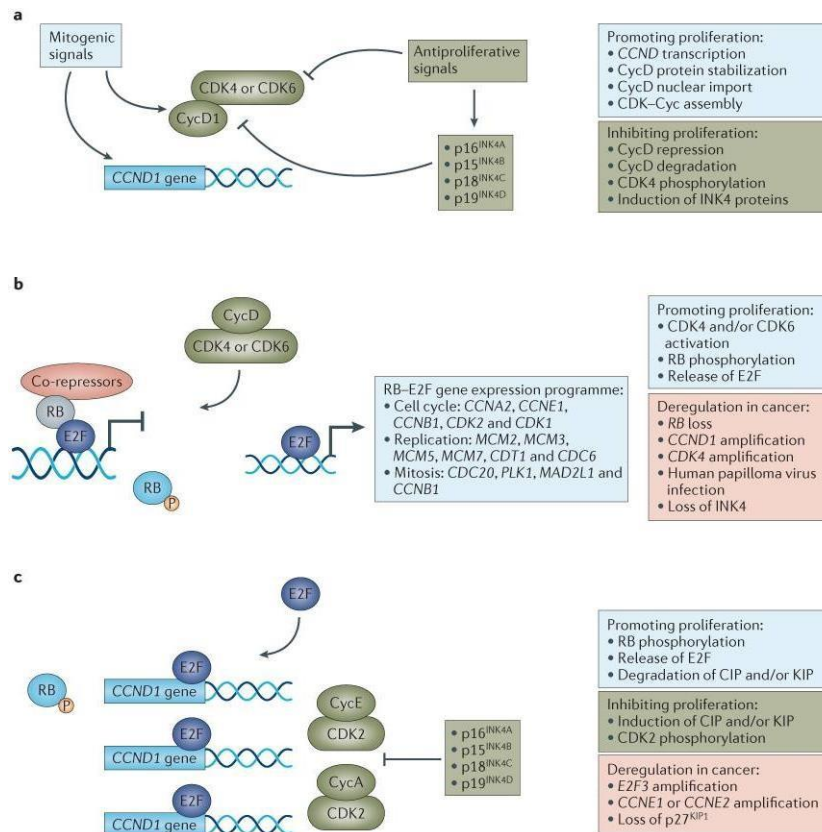
Hubungan antara cyclin tipe D dengan CDK4 dan CDK6 dapat merangsang aktivitas kinase dengan sebuah spektrum substrat yang unik bila dibandingkan kelompok CDK lain. Secara khusus, CDK4 dan CDK6

menjadi target fosforilasi yang spesifik dari protein *tumor suppressor* Retinoblastoma (RB) maupun protein terkait lainnya seperti p107 (yang dikenal juga sebagai RBL1) dan p130 (yang dikenal juga sebagai RBL2). RB, merupakan protein *tumor suppressor* yang pertama kali diidentifikasi, dan telah diteliti secara luas. Protein RB tidak memiliki aktivitas katalitik tapi berfungsi menggabungkan kompleks multiprotein untuk mengontrol siklus sel. Secara khusus, RB dapat berikatan dengan faktor transkripsi E2F, kemudian merekrut ko-repressor dan menekan transkripsi gen target yang diatur oleh E2Fs. E2F mengatur ekspresi sejumlah gen yang terlibat dalam kontrol siklus sel (misalnya, cyclin E (*CCNE*), *CCNA* dan *CCNB1*), biosintesis dNTP (sebagai contoh, dihydrofolate reductase (*DHFR*), ribonucleotide reductase M1 (*RRM1*) dan *RRM2*) dan progresi mitosis (seperti, polo-like kinase 1 (*PLK1*), BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase (*BUB1*) dan spindle checkpoint protein MAD2 (*MAD2*)). Fosforilasi protein RB oleh CDK4 dan CDK6 mengawali suatu proses yang kompleks dimana terjadi disrupsi fungsi RB yang diperantarai oleh fosforilasi sehingga terjadi pelepasan E2F dan siklus sel terus berlanjut. CDK4 dan CDK6 juga ikut memfosforilasi protein *forkhead box protein M1* (*FOXM1*), yang menyebabkan stabilisasi *FOXM1*

Deregulasi jalur CDK4 pada kanker

Untuk memasuki siklus sel dan memulai replikasi DNA, sebuah sel harus melewati fase G1 ke fase S melalui titik restriksi yang diatur dengan ketat. Transisi G1 / S dimulai pada awal G1 ketika keseimbangan antara stimulasi mitogenik dan inhibitor, memicu peningkatan kadar Cyclin D. Cyclin D CDK4 atau CDK6, dan

kompleks cyclin-CDK kemudian memasuki nukleus di mana mereka difosforilasi oleh kompleks *CDK-activating kinase* (CAK).



Gambar 2.19. Model regulasi G1 – S dan relevansinya dengan kanker

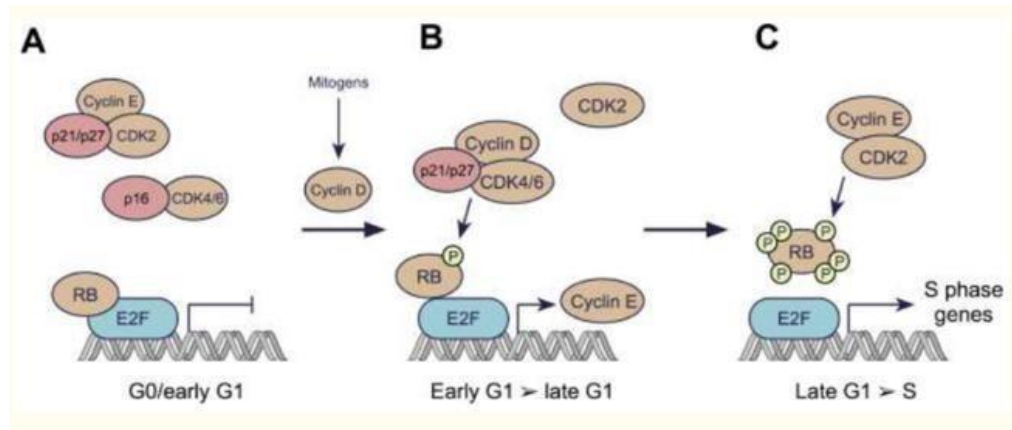
a. Awalnya, sinyal mitogenik mengaktivasi CDK4 atau CDK6 melalui berbagai mekanisme, termasuk induksi gen cyclin D1 (CycD1) (CCND1), stabilitas protein dan pembentukan kompleks CDK-Cyc. Proses ini dapat dimusnahkan secara individual, atau melalui induksi inhibitor CDK4 dan CDK6 (yaitu, inhibitor keluarga protein CDK4 (INK4)) dapat berfungsi untuk mencegah pembentukan kompleks CDK-cyclin. b Keadaan aktivasi CDK4 dan CDK6 memulai fosforilasi protein retinoblastoma (pRB) yang berkontribusi terhadap aktivasi dan pelepasan faktor transkripsi E2F. Protein E2F mengendalikan ekspresi banyak faktor yang bertindak positif yang sangat penting untuk perkembangan fase S dan transisi G2-M. Berbagai mekanisme menyebabkan inaktivasi pRB pada kanker, seperti mutasi, fosforilasi yang menyimpang atau penyerapan protein. c E2Fs dan sinyal tambahan mendorong ekspresi dan aktivasi kompleks CDK2-CycE dan CDK2-CycA, yang berkontribusi pada replikasi DNA dan fosforilasi pRB lebih lanjut. Deregulasi aktivitas ini ditemukan pada kanker melalui amplifikasi siklon tipe-E atau hilangnya penghambat CDK. CCN, cyclin; CDC, cell division cycle; CDT1, chromatin licensing and DNA replication factor 1; CIP, CDK-interacting protein; KIP, kinase inhibitory protein; MAD2L1, MAD2 mitotic arrest deficient-like 1; MCM, minichromosome maintenance complex component, PLK1, polo-like kinase (Uzma Asghar et al, 2015)

Pada gilirannya, kompleks CDK4 / 6 teraktivasi memfosforilasi protein retinoblastoma (RB), serta protein poket yang terkait p107 dan p130. Fosforilasi pRB oleh CDK4 / 6 sebagian menurunkan aktivitas faktor transkripsi E2F, sehingga memfasilitasi ekspresi gen target E2F termasuk yang untuk siklus tipe-E (cyclins E1 dan E2). Cyclin E kemudian mengikat dan mengaktifkan CDK2, yang hyper-phosphorylates RB, lebih lanjut meningkatkan ekspresi gen target E2F yang sangat penting untuk inisiasi sintesis DNA dan masuk ke fase S. Khususnya, RB tidak hanya menghambat ekspresi gen fase S dengan secara langsung menghambat transaktivasi E2F, tetapi juga dengan merekrut pengubah kromatin ke DNA yang secara tidak langsung dapat membungkam ekspresi gen target E2F. (Shoem Goel *et al.*, 2018)

Pengaturan aktivitas CDK4 / 6 dan CDK2 dicapai sebagian oleh dua keluarga protein penghambat endogen. Yang pertama adalah keluarga INK4, yang terdiri dari p16INK4A, p15INK4B, p18INK4C, dan p19INK4D. Protein ini mengikat CDKs 4 dan 6, membentuk kompleks biner yang tidak memiliki aktivitas kinase. Yang kedua adalah keluarga CIP / KIP, yang meliputi p27KIP1, p21CIP1, dan p57KIP2. Protein-protein ini mengikat CDK secara lebih acak dan memiliki fungsi yang lebih beragam, berpotensi menghambat beberapa CDK (termasuk CDK4 / 6, CDK2, dan CDK1), tetapi juga dalam keadaan tertentu mengikat dan menstabilkan hycenzenzyme D-CDK4 / 6 cyclin. Fungsi-fungsi yang berbeda ini dapat diatur oleh jumlah dan status fosforilasi protein CIP / KIP. (Charles & James, 1999)

Aksis CDK4/6-RB sangat penting dalam memasuki siklus sel; oleh karena itu tidaklah mengherankan bahwa sebagian besar kanker mengganggu axis tersebut sehingga terjadi proliferasi yang tidak terkendali. Sebagian besar onkogen merangsang induksi p16^{INK4A} sebagai titik utama dalam mengganggu

regulasi proliferasi. Ekspresi yang berlebihan dari p16^{INK4A} akan melibatkan pRB untuk menekan faktor pertumbuhan maupun progresi siklus sel, dan merangsang proses penuaan yang diperantarai onkogen.



Gambar 2.20. Regulasi transisi G1 / S oleh cyclins dan CDKs.

A: Dalam sel istirahat, CDK4 / 6 dan CDK2 tidak aktif. Tingkat cyclin tipe-D rendah karena kurangnya stimulus mitogenik, membatasi aktivitas CDK4 / 6. Selain itu, CDK 4 dan 6 terikat oleh anggota keluarga INK4 , membangun kompleks biner yang tidak memiliki aktivitas kinase. Kompleks CDK2 dihambat oleh protein CIP / KIP p21 dan p27. Secara kolektif, penekanan CDK4 / 6 dan CDK2 menyebabkan hipo-fosforilasi RB, dan karenanya menekan ekspresi gen target E2F. Represi ini dimediasi oleh blokade langsung dari domain transaktivasi E2F oleh RB, dan dengan perekrutan pengubah histone ke RB yang selanjutnya membungkam ekspresi gen target E2F. B: Tingkat cyclins tipe D meningkat sebagai respons terhadap rangsangan mitogenik, karena peningkatan ekspresi gen cyclin D dan peningkatan stabilitas protein cyclin D. Siklon tipe D mengikat CDK4 / 6, membentuk kompleks yang distabilkan oleh p21 atau p27. Cyclin D: kompleks CDK4 / 6 kemudian masukkan nukleus dan phosphorylate RB. Ini sebagian menindas ekspresi gen target E2F, termasuk yang untuk jenis-siklon E. Fosforilasi parsial RB memfasilitasi perkembangan melalui G1. C: Ketika tingkat siklon tipe-E meningkat pada akhir G1, CDK2 diaktifkan sehingga menghasilkan hiperfosforilasi dan inaktivasi RB. RB yang hyperphosphorylated dilepaskan dari E2F, memungkinkan peningkatan transkripsi gen target E2F yang diperlukan sel untuk melanjutkan ke fase S. (Som Goel *et al*, 2018)

Proses penuaan yang diperantarai onkogen harus dicegah agar memungkinkan proliferasi onkogen lebih lanjut, yang terjadi melalui 2 prinsip penting pada tumor: hilangnya fungsi p16^{INK4A} atau hilangnya fungsi pRB. Hilangnya fungsi p16^{INK4A} juga akan melepaskan stres onkogenik melalui penekanan aktivitas CDK4 atau CDK6, sementara hilangnya fungsi pRB akan

mengganggu regulasi jalur sinyal *downstream* dalam siklus sel. Bersamaan dengan model tersebut, pRB dibutuhkan untuk penghentian siklus sel yang diperantarai oleh p16^{INK4A} (REFS 48,49). Selain itu, tumor yang negatif-pRB juga mengekspresikan kadar p16^{INK4A} yang suprafisiologis dan tidak sensitif dengan ekspresi tambahan p16^{INK4A} akibat tidak adanya pRB.

Mekanisme yang berbeda terjadinya deregulasi aksis CDK4/6-RB merupakan aktivasi okogenik langsung dari aktivitas CDK4 atau CDK6. Ekspresi protein cyclin D yang mengalami deregulasi, translokasi gen dan amplifikasi gen yang juga mengalami deregulasi, telah diamati pada banyak jenis (Erik SK & Witkiewicz AK, 2017)

Mekanisme gangguan regulasi Cyclin D-CDk4 pada tumor terjadi melalui beberapa mekanisme antara lain:

a. Overekspresi Cyclin D-CDK4

Amplifikasi gen yang mengkode siklon tipe D umumnya diamati pada kanker manusia, dan berkorelasi dengan peningkatan kadar protein D cyclin. Berdasarkan penelitian data dari studi sequencing generasi besar berikutnya, amplifikasi cyclin D paling sering diamati pada kanker saluran pencernaan bagian atas, kepala dan leher, payudara, paru-paru, dan kandung kemih, dan pada kanker payudara, telah dikorelasikan dengan hasil klinis yang lebih buruk. Selain itu, banyak kanker menunjukkan amplifikasi CDK4 (terutama liposarcoma dan glioblastoma) dan CDK6 (kanker saluran cerna bagian atas dan karsinoma neuroendokrin pada prostat). (Cerami E et al, 2012). Translokasi genomik tertentu dan mutasi gen spesifik juga dapat secara nyata meningkatkan level cyclin D dalam sel tumor. Sebagai contoh, pada limfoma sel mantel, t11; 14 translokasi yang unik menyandingkan gen rantai berat imunoglobulin CCND1 dan IGH, yang mengarah

pada ekspresi berlebihan siklik D1 yang bersifat independen-mitogen . Selain itu, tumor tertentu membawa mutasi pada 3-UTR dari CCND1, CCND2, dan CCND3. Mutasi ini dapat meningkatkan kadar cyclin D dengan mencegah degradasi cyclin D mRNA (Gong X et al, 2017).

b. Hilangnya fungsi p16INK4A

Kehilangan fungsi p16INK4A adalah kejadian yang relatif umum pada kanker, biasanya didorong oleh defek homozigot dari lokus CDKN2A yang disandikan untuk p16. Kehilangan p16 telah diprediksi memberi peningkatan ketergantungan CDK4 / 6 dalam sel kanker. Defek CDKN2A somatik paling umum pada *malignant peripheral nerve sheath tumors*, glioblastoma, karsinoma pankreas, kepala dan leher, kandung kemih, kerongkongan, dan paru-paru. (Finn RS et al, 2016)

b. Gangguan sinyal mitogenik.

Pada sel kanker yang tidak memiliki perubahan genomik yang dijelaskan di atas, kadar cyclin D dan aktivitas CDK4 / 6 terutama diatur oleh sinyal mitogenik. Khususnya, jalur mitogenik Ras-Raf-MEK-ERK merupakan factor kuat transkripsi berlebihan Cyclin D. Sejumlah besar kanker menunjukkan tingkat cyclin D tinggi karena berbagai penyimpangan yang mengaktifkan jalur Ras-Raf-MEK-ERK - termasuk mengaktifkan mutasi protein efektor dan reseptor faktor pertumbuhan. Peningkatan pensinyalan mitogenik melalui jalur hiperaktif *phosphoinositide-3-kinase* (PI3K) -AKT juga meningkatkan level cyclin D1 dengan mencegah ekspor nuclear dan meningkatkan proses translasi cyclin. Dalam kasus-kasus tertentu, pentingnya upregulasi siklin D1 yang diinduksi mitogen untuk pertumbuhan tumor telah dibuktikan secara jelas pada tikus *knockdown* cyclin D, tidak dapat membentuk tumor mammae yang digerakkan oleh ERBB2 atau RAS. (Finn RS et al, 2016) Beberapa Penelitian menunjukkan hasil ekspresi IHC Cyclin D1 yang

signifikan pada meningioma derajat 1, dan 2, serta agresifitas yang berlebihan pada meningioma derajat 3.

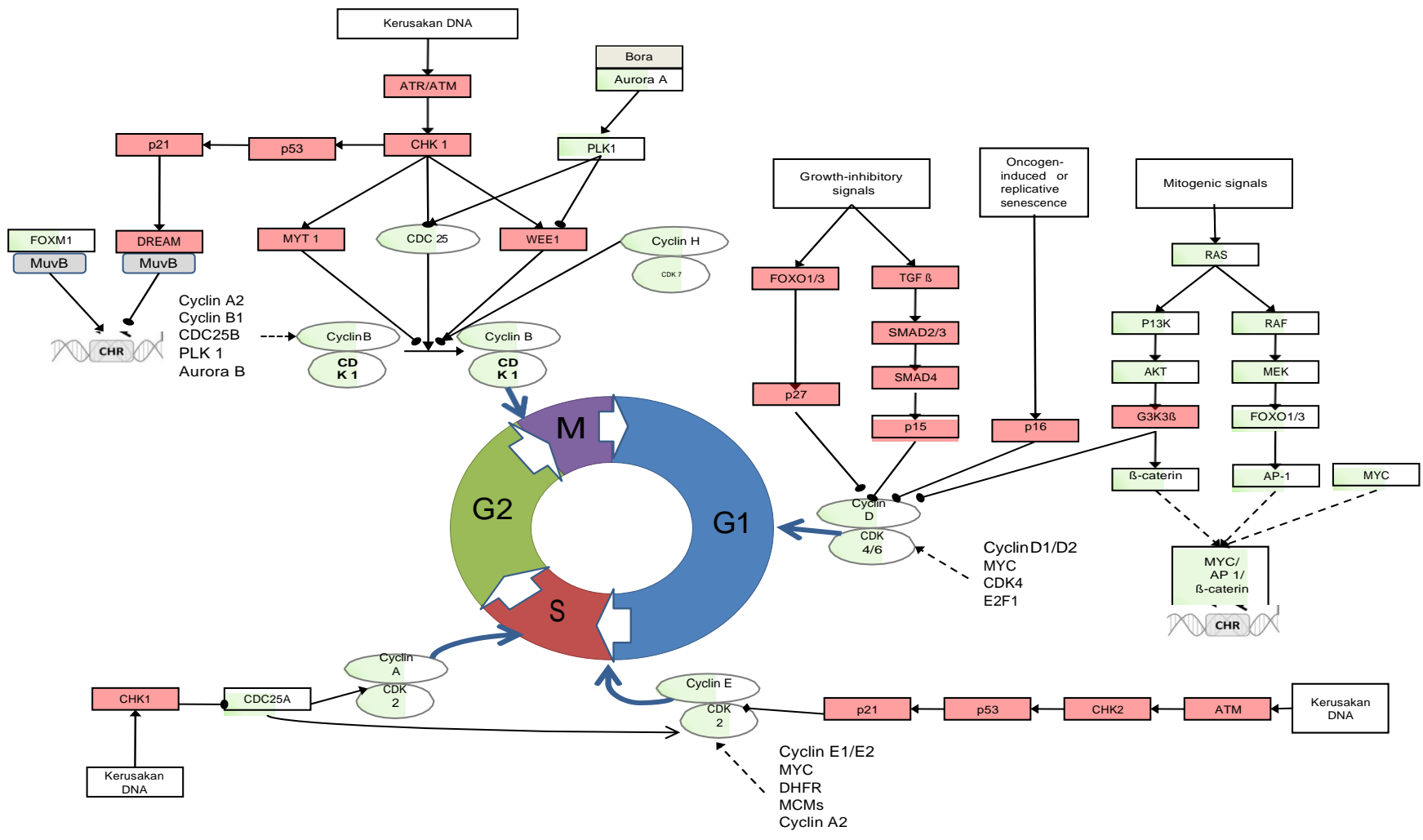
Penghambat CDK sebagai target terapi kanker

Pembelahan sel yang tidak teratur, yang mengarah pada proliferasi sel yang menyimpang, adalah salah satu ciri utama kanker. Oleh karena itu, target terapeutik yang menghambat pembelahan sel akan efektif untuk pengobatan kanker. Sampai saat ini, penghambat CDK (CDKI), khususnya penghambat aktivitas enzim CDK4 dan CDK6 (CDK4/6), telah disetujui oleh FDA untuk pengobatan kanker payudara metastasi HR +. Namun, karena tidak selektif dan toksisitas yang signifikan, sebagian besar penghambat CDK generasi pertama (disebut penghambat pan-CDK yang menargetkan beberapa CDK), belum disetujui untuk aplikasi klinis. Meskipun demikian, upaya dan kemajuan besar telah dilakukan untuk memungkinkan aplikasi inhibitor pan-CDK dalam pengaturan klinis. Khususnya, pengembangan strategi terapi kombinasi dalam beberapa tahun terakhir telah memungkinkan untuk mengurangi toksisitas dan efek samping dari inhibitor pan-CDK. Jadi, sebagai pendekatan terapi kombinasi, inhibitor pan-CDK mendapatkan kembali potensi besar dalam aplikasi klinis. Pan-CDKI Flavopiridol dan Roscovitine generasi pertama, dan CDKI generasi kedua Dinaciclib, P276-00, AT7519, TG02, Roniciclib, RGB-286638 telah melalui uji klinis, dan digunakan sebagai target terapi kanker. (Mary E Law *et al*, 2015)

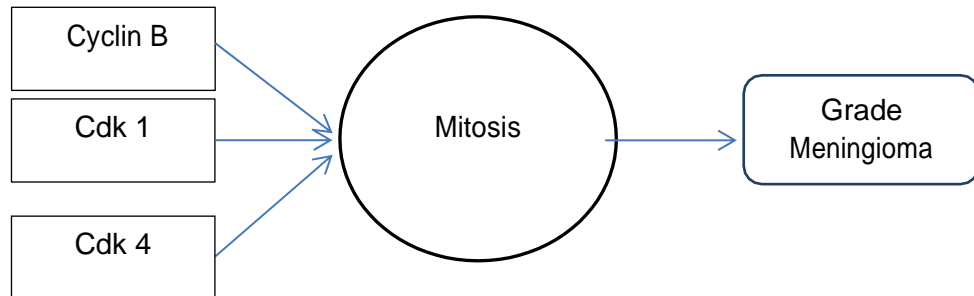
BAB III

KERANGKA TEORI DAN KONSEP

Selama fase G2, CDK1 mengikat dan diaktifkan oleh cyclins A2 dan B. Setelah masuk ke dalam mitosis, cyclin A2 terdegradasi dan aktivitas CDK1 dipertahankan dalam kompleks dengan cyclin B. Entri selanjutnya ke dalam anafase secara kritis bergantung pada penghancuran mendadak aktivitas Cdk1 / cyclin B. Aktivitas berlebihan dari Cyclin B dan CDK 1 meningkatkan mitosis yang dapat memicu tumorigenesis. Terganggunya jalur sinyal p53 atau kerusakan checkpoint DNA secara tidak langsung menyebabkan disregulasi protein CDK1, dan ekspresi cyclin B yang tinggi secara umum berhubungan dengan fenotipe kanker yang lebih agresif.



Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel bebas : mRNA Cyclin B, mRNA CDK 1, mRNA CDK 4

Variabel tergantung : Grade Meningioma

Variabel antara : Mitosis

Identifikasi variabel:

1. Variabel bebas adalah
Ekspresi mRNA Cyclin B sebagai variabel numerik
Ekspresi mRNA CDK 1 sebagai variabel numerik
Ekspresi CDK 4 sebagai variabel numerik
2. Variabel tergantung
Grade Meningioma sebagai variabel numerik

Hipotesis Penelitian

Peningkatan ekspresi mRNA Cyclin B, CDK 1 dan CDK 4 menyebabkan peningkatan mitosis sel dan derajat meningioma