

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **1.1 LATAR BELAKANG MASALAH**

Berdasarkan data *The Global Cancer Observatory* 2020, peningkatan kasus kanker sebanyak 19,3 juta kasus dan kematian sebanyak 10 juta orang di tahun 2020 untuk seluruh kanker yang ada, termasuk kanker payudara, kanker kolorektal, kanker paru, kanker serviks dan kanker lainnya. Karsinoma payudara merupakan salah satu keganasan terbanyak pada wanita di seluruh dunia yang menunjukkan sebanyak 2.261.419 (11,7%) kasus baru yang terdeteksi dengan 684.999 (6,9%) kasus kematian setiap tahunnya. Berdasarkan data Globocan tahun 2020 di Indonesia karsinoma payudara berada di urutan pertama dengan insiden 68,8 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 22,4 per 100.000 penduduk. (World Health Organization, 2020) .

Sementara di Makassar sendiri jumlah kasus karsinoma payudara invasive pada Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo pada tahun 2022 sebanyak 181 kasus.

Karsinoma payudara invasive mengacu pada kelompok besar dan heterogen neoplasma maligna yang berasal dari epitel kelenjar payudara. (Rakha, Allison, Ellis, *et al.*, 2019). Sedangkan invasive breast carcinoma (IBC) of no special type (NST) mengacu pada kelompok IBC yang tidak dapat diklasifikasikan secara morfologis dalam tipe histologi tertentu. (Rakha *et al.*, 2019).

Karsinoma payudara meningkat cepat pada usia lebih dari 30 tahun. 75% karsinoma payudara ditemukan pada usia lebih dari 50 tahun dan 5% pada usia 40 tahun. Namun, karsinoma payudara dapat berkembang pada usia berapa pun, dari anak-anak hingga usia tua. Karsinoma payudara pada pria hanya 1% dibandingkan pada wanita. (Kumar *et al.*, 2018; Collin., 2018).

Mayoritas 90% karsinoma payudara bersifat unifokal dan 3% menyebar masif atau multifokal. Karsinoma payudara dapat terjadi pada kuadran payudara

manapun dengan frekuensi yang lebih tinggi yaitu 50% di kuadran luar atas. Sekitar 0,1% karsinoma payudara ditemukan sebagai tumor metastasis aksila tanpa tumor primer payudara yang jelas. (Rakha et al., 2019).

Metastasis atau penyebaran sel tumor dapat terjadi baik secara limfogen maupun hematogen. Pada umumnya karsinoma bermetastasis melalui sistem limfatik (limfogen), dimana pemeriksaan histopatologi menjadi prosedur *gold standard* untuk mendeteksi adanya metastasis ke kelenjar getah bening regional. (Rahman., 2015).

Prognosis karsinoma payudara dipengaruhi beberapa faktor antara lain grade histologi tumor, invasi pembuluh darah, status estrogen receptor (ER) dan human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), serta status metastasis pada kelenjar getah bening. Apabila ditemukan metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening maka harapan hidup penderita akan turun dari 90% menjadi 20%. Status metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening berkaitan dengan angka kematian penderita kanker payudara. (Rakha et al., 2019; Trianto et al.,2019; Debarati et al.,2013).

Penyebaran kanker payudara merupakan proses yang sangat rumit mulai sel kanker melepaskan diri dengan sekitarnya, melisiskan membran basal, masuk ke dalam stroma, proses angiogenesis, peredaran dalam pembuluh darah atau getah bening, ekstrasvasasi, proses balik (homing) melalui ikatan antara reseptor dan ligan serta tumbuh di organ sekunder tertentu. Penyebaran ini memerlukan interaksi antara sel kanker dan sel stroma lingkungan tumor microenvironment seperti sel fibroblast, myofibroblast, sel imun dan sel pembuluh darah. (Wayan et al.,2013).

HER2 merupakan Gen *erbB2*, yang terletak di lengan pendek kromosom 17, ditemukan dan dikloning pada tahun 1983. Produk gen ini adalah glikoprotein transmembran 185 Kda (Kinase Domain) yang terdiri dari tiga domain utama: ekstraseluler, transmembran dan domain intraseluler dengan aktivitas tirosin kinase. Keluarga reseptor faktor pertumbuhan epidermis tirosin kinase terdiri dari 4 reseptor tirosin kinase (EGFR/*erbB1*/HER1, *erbB2*/HER2, *erbB3*/HER3, dan *erbB4*/HER4) yang diaktifkan oleh dimerisasi yang diinduksi ligan. Walaupun

HER2 merupakan satu-satunya reseptor keluarga dari erbB2 tanpa ligan yang diketahui, akan tetapi HER2 merupakan mitra yang lebih disukai untuk heterodimerisasi dengan *anggota erbB* lainnya. Reseptor dimerisasi menginduksi transfosforilasi residu tirosin pada domain kinase dan akibatnya terjadi aktivasi dari kaskade pensinyalan hilir (downstream). (Cocco et al., 2019)

Untuk pengobatan pasien dengan kanker payudara saat ini menargetkan HER2, sehingga identifikasi amplifikasi/ekspresi berlebihan HER2 pada kanker payudara digunakan untuk pengembangan terapi anti-HER2 spesifik yang memiliki dampak yang luar biasa pada manajemen klinis pasien kanker payudara. Pada tahun 1998, Badan Pengawas Obat dan Makanan AS (FDA: *Food and Drug Administration*) menyetujui Trastuzumab, antibodi monoklonal yang menargetkan domain ekstraseluler HER2, dalam kombinasi dengan paclitaxel sebagai pengobatan lini pertama pada kanker payudara metastasis HER2-positif, dan sebagai agen tunggal untuk terapi lini kedua dan ketiga. Beberapa penelitian telah menunjukkan peningkatan dalam kelangsungan hidup bebas (PFS : *progression-free survival*) dan kelangsungan hidup secara keseluruhan (OS: *overall survival*) pada pasien kanker payudara HER2-positif yang diobati dengan terapi berbasis Trastuzumab. Banyak obat anti HER2 lainnya telah dikembangkan lebih lanjut dan saat ini ada sembilan obat anti-HER2 yang disetujui oleh FDA untuk pengobatan kanker payudara, yaitu : Pertuzumab (antibodi monoklonal manusiawi rekombinan yang menargetkan domain dimerisasi ekstraseluler HER2), Adotrastuzumab Emtansine (TDM-1, konjugat obat antibodi penargetan HER2 (ADC)), Neratinib, Lapatinib (inhibitor pan-ERBB reversibel) dan lima lainnya adalah biosimilar dengan Trastuzumab. Baru-baru ini, amplifikasi/ekspresi berlebihan HER2 juga telah diidentifikasi pada jenis tumor lain seperti lambung, di mana terapi berbasis trastuzumab juga merupakan standar perawatan, usus besar, kelenjar ludah, kandung kemih dan karsinoma serosa rahim. (Cocco et al., 2019)

Dan pada penelitian yang dilakukan oleh Sinclair William D dan Cui Xiaoyan menyebutkan bahwa saat ini, penelitian untuk pengobatan pasien dengan kanker payudara, tidak hanya menargetkan HER2 tapi juga dikombinasikan

dengan obat-obatan yang menghambat aktivitas CDK4/6. Dan dari penelitian mereka yang mempelajari tentang efek Her2 pada aktivitas CDK4/6 dengan menilai kadar protein retinoblastoma (pRb) pada kanker payudara, mereka mendapatkan hasil yaitu kepositifan HER2 mengarah pada tingkat aktivitas CDK4/6 yang jauh lebih tinggi seperti yang direpleksikan oleh protein Rb. Dan dari penelitian tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa pasien dengan kanker payudara dengan HER2 positif dapat merespon CDK4 dan CDK6 inhibitor yang berpotensi untuk pengobatan. (Sinclair et al., 2022)

*Cyclin-dependent kinase* (CDKs) adalah keluarga enzim serine/treonin kinase yang memainkan peran penting dalam mengendalikan perkembangan dan regulasi siklus sel. Ekspresi berlebih dari beberapa CDK dan siklin terkait, serta penurunan regulasi CDK inhibitor (CKI), dapat menyebabkan proliferasi sel abnormal dan perkembangan kanker. Oleh karena itu pengembangan keluarga enzim ini menjanjikan strategi dalam pengobatan kanker. (Juric et al., 2019)

*Cyclin-dependent kinase* (CDK) berperan penting dalam regulasi transisi siklus sel dan terutama terlibat dalam patogenesis kanker. Ekspresi CDK dikendalikan oleh jaringan regulasi kompleks yang terdiri dari mekanisme genetik dan epigenetik, yang tidak diatur selama perkembangan kanker. Aktivasi abnormal CDK menghasilkan proliferasi sel kanker yang tidak terkendali dan induksi karakteristik stem sel kanker. Tingkat CDK dapat digunakan untuk memprediksi prognosis dan respons pengobatan pasien kanker, dan pemahaman lebih lanjut tentang fungsi dan mekanisme yang mendasari CDK pada tumor akan membuka jalan bagi terapi kanker di masa depan yang secara efektif menargetkan CDK. Cacat dalam regulasi siklus sel dan mutasi pada gen yang mengkode protein pengatur siklus sel menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkendali yang mengarah pada pembentukan tumor. Sejumlah modalitas pengobatan telah dirancang untuk memerangi disregulasi siklus sel melalui mempengaruhi ekspresi atau aktivitas CDK. Namun, penerapan yang efektif dari metode ini dalam pengaturan klinis memerlukan pengakuan peran CDK dalam perkembangan setiap jenis kanker, pasangan mereka, interaksi mereka dengan jalur pensinyalan dan efek penekanan kinase ini pada fitur ganas. Dengan demikian, kami merancang

pencarian literatur ini untuk merangkum temuan ini di tingkat sel, serta tingkat in vivo dan klinis. (Fard et al., 2022)

Penelitian tentang inhibitor *Cyclin-dependent kinase 4/6* (CDK4/6) yang berperan dalam terapi kanker khususnya pada karsinoma payudara invasive sangat pesat sehingga sangat perlu dilakukan penelitian yang berkaitan dengan CDK4/6. Inhibitor CD4/6 berperan dalam memblokir transisi dari fase G1 ke S pada siklus sel dengan cara mengganggu fosforilasi Retinoblastoma (pRb) dan pelepasan E2F, telah menunjukkan aktivitas antitumor yang poten dan dapat mengelola toksisitas HR+/HER2- pada pasien kanker payudara.(Goel Shom et al., 2018, Malumbres Marcos., 2014)

Beberapa uji klinis yang melibatkan CDK4 dan CDK6 inhibitor pada tumor lain telah mencapai efikasi yang mengesankan dan berkembangnya pengobatan yang mengkombinasikan anti-HER2 dengan CDK4 dan CDK6 inhibitor juga sangat berkembang, akan tetapi penelitian mengenai CDK4 dan CDK6 yang dikaitkan dengan HER2 pada kanker payudara masih sangat jarang dilakukan di Indonesia khususnya di Makassar. Mengingat banyaknya penderita kanker payudara dan prognosinya, maka peneliti merasa perlu melakukan penelitian untuk melihat hubungan antara ekspresi CDK4 dan CDK6 dengan HER2 pada kanker payudara invasif.

## **1.2 RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

Bagaimana hubungan ekspresi CDK4, ekspresi CDK6, ekspresi HER2 dengan grading karsinoma payudara invasif?

## **1.3 TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1 TUJUAN UMUM**

Menilai hubungan ekspresi CDK4, ekspresi CDK6, ekspresi HER2 dengan grading histopatologi pada karsinoma payudara invasif

### **1.3.2 TUJUAN KHUSUS**

1. Menentukan grading karsinoma payudara
2. Menentukan skor ekspresi CDK4 pada sediaan karsinoma payudara invasif
3. Menentukan skor ekspresi CDK6 pada sediaan karsinoma payudara invasif
4. Menentukan skor ekspresi HER2 pada sediaan karsinoma payudara invasif
5. Menilai hubungan ekspresi CDK4 berdasarkan grading histopatologi pada karsinoma payudara invasif.
6. Menilai hubungan ekspresi CDK6 berdasarkan grading histopatologi pada karsinoma payudara invasif.
7. Menilai hubungan ekspresi HER2 berdasarkan grading histopatologi pada karsinoma payudara invasif.
8. Menilai hubungan ekspresi CDK4 dengan ekspresi HER2 pada karsinoma payudara invasive.
9. Menilai hubungan ekspresi CDK6 dengan ekspresi HER2 pada karsinoma payudara invasive.

### **1.4 HIPOTESIS**

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekspresi CDK4 meningkat sesuai dengan peningkatan grading histopatologi pada karsinoma payudara Invasif.
2. Ekspresi CDK6 meningkat sesuai dengan peningkatan grading histopatologi pada karsinoma payudara Invasif.
3. Ekspresi HER2 meningkat sesuai dengan peningkatan grading histopatologi pada karsinoma payudara Invasif.

### **1.5 MANFAAT PENELITIAN**

#### **1.5.1 APLIKASI KLINIK**

Penelitian ini diharapkan bisa menjadi faktor prediktif dan faktor prognosis pada karsinoma payudara invasif.

### **1.5.2 BIDANG AKADEMIK**

1. Memberikan informasi ilmiah tentang ekspresi CDK4 dan CDK6 pada karsinoma payudara invasive.
2. Meningkatkan pemahaman tentang peran CDK4, CDK6 dan HER2 pada grading karsinoma payudara invasive.
3. Berdasarkan data hasil penelitian ini, bisa dikembangkan penelitian dengan parameter atau marker lainnya untuk lebih memperkuat daya prediksi dan daya prognosis pada karsinoma payudara invasive.

### **1.5.3 BIDANG PENGEMBANGAN ILMU**

Sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam aspek pengembangan target terapi untuk kanker payudara invasif

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 KARSINOMA PAYUDARA INVASIF (INVASIVE BREAST CARCINOMA OF NO SPECIAL TYPE) DAN SUBTIPENYA**

Berdasarkan WHO Classification of Tumor online kanker payudara invasive atau Invasive breast carcinoma (IBC) mengacu pada kelompok besar dan heterogen neoplasma maligna yang berasal dari epitel kelenjar payudara. Sedangkan invasive breast carcinoma (IBC) of no special type (NST) mengacu pada kelompok IBC yang tidak dapat diklasifikasikan secara morfologis dalam tipe histologi tertentu. (Rakha *et al.*, 2019).

Subtipe kanker payudara invasif dikelompokkan ke dalam subtipe/ kelompok yang ditentukan biomarker berikut untuk tujuan pengobatan berdasarkan status ER dan ERBB2 (HER2):

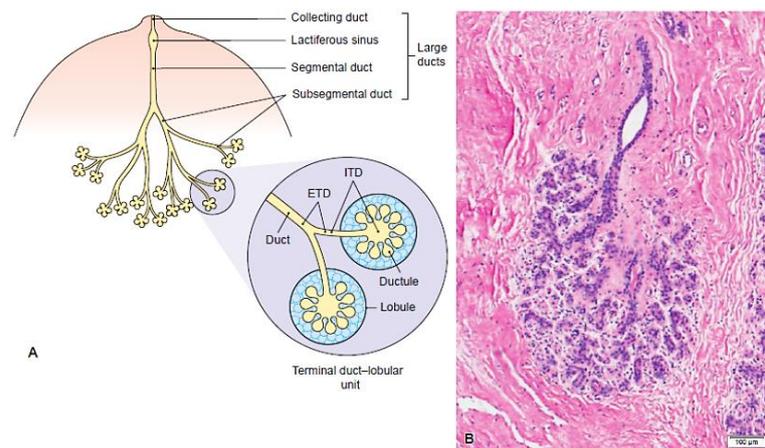
- ER-positif, HER2-negatif
- ER-positif, HER2-positif
- ER-negatif, HER2-positif
- ER-negatif, HER2-negatif.

Meskipun fitur morfologisnya tumpang tindih, subtipe yang didefinisikan biomarker ini menunjukkan hasil dan respons yang berbeda terhadap terapi, serta perbedaan dalam profil genomik dan transkriptomik global. (WHO Classification Tumor online, 5<sup>th</sup> Edition)

#### **2.1.1 ANATOMI DAN HISTOLOGI**

Payuda merupakan unit morfofungsional yang merupakan struktur percabangan kompleks yang secara topografi tersusun dalam lobulus dan terdiri dari dua komponen utama: *Terminal duct-lobular unit* (TDLU) dan sistem duktus besar. TDLU dibentuk oleh lobulus, yang kemudian membentuk sinus, dan duktus terminal yang mewakili bagian sekresi kelenjar. Duktus ini terhubung dengan duktus subsegmental, yang mengarah ke duktus segmental, duktus laktiferus, dan bermuara di puting susu. Dilatasi fusiform yang terletak di bawah puting antara duktus laktiferus dan segmental disebut sebagai sinus laktiferus. (Collins., 2018).

TDLU dikenali dengan arsitektur lobularnya yang khas, terdapat kapsul jaringan ikat, dan tidak ada serat elastis. Perkembangan payudara tergantung pada interaksi epitel dan jaringan mesenkim. Duktus yang besar memiliki stroma yang kurang dan dikelilingi oleh lapisan jaringan elastis. Seluruh sistem duktal-lobular payudara dilapisi oleh sel epitel (lapisan dalam) dengan fungsi sekresi dan absorpsi serta dikelilingi oleh sel myoepithelial (lapisan luar). (Collins., 2018)



Gambar 1. Skema struktur dan histologi payudara (Collins, 2018)

### 2.1.2 ETIOLOGI DAN FAKTOR RESIKO

Etiologi karsinoma payudara adalah multifaktorial. Sebagian besar penelitian menunjukkan faktor resiko sebagai berikut :(Rakha et al., 2019).

1. Genetik; BRCA1 dan BRCA2.

Mutasi germline BRCA1 dikaitkan dengan risiko karsinoma payudara triple-negative (ER-negatif, PR-negatif, dan HER2-negatif), sedangkan mutasi germline BRCA2 dikaitkan dengan hormone receptor-positive.

2. Hormon; estrogen dan progesteron.

Tingkat insidens karsinoma payudara meningkat lebih tajam pada usia sebelum menopause (8% per tahun) dibandingkan setelahnya (2% per tahun), ketika sintesis estrogen dan progesteron ovarium berhenti dan produksi androgen ovarium berangsur-angsur berkurang.

3. Faktor reproduksi; menarche dini, nullipara atau paritas rendah, usia tua saat melahirkan pertama, dan durasi laktasi kurang. Menarche dini, terlambat

menopause, terapi penggantian hormon pascamenopause, nulliparitas, dan usia tua saat melahirkan pertama dikaitkan dengan peningkatan risiko karsinoma payudara hormon receptor-positive. Paritas sendiri dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko tumor triple-negative sedangkan durasi laktasi yang lama dikaitkan dengan penurunan risiko semua subtype tumor.

4. Diet; diet tinggi kalori yang kaya lemak dan protein hewani, disertai aktivitas fisik kurang dan obesitas.

Pada wanita pascamenopause terdapat hubungan positif yang kuat antara indeks massa tubuh dan risiko karsinoma payudara lebih untuk hormone receptor-positive. Sedangkan pada wanita premenopause terdapat hubungan negatif yang lemah, dimana indeks massa tubuh yang tinggi terkait dengan penurunan risiko kanker hormon receptor-positive dan peningkatan risiko triple-negative.

Terdapat beberapa bukti bahwa alkohol, merokok, dan aktivitas fisik dikaitkan dengan risiko kanker hormone receptor-positive. Namun, penelitian pada populasi etnis tertentu mengungkapkan bahwa mungkin ada perbedaan berdasarkan populasi/ etnis dalam faktor risiko untuk biomarker/ subtype klinis tertentu.

Pencegahan (primer) adalah usaha agar tidak terkena kanker payudara. Pencegahan primer berupa mengurangi atau meniadakan faktor-faktor risiko yang diduga sangat erat kaitannya dengan peningkatan insiden kanker payudara. Pencegahan primer secara sederhana adalah mengetahui faktor-faktor risiko kanker payudara, seperti yang telah disebutkan diatas, dan berusaha menghindarinya. Prevensi primer agar tidak terjadi kanker payudara saat ini memang masih sulit, sehingga faktor risiko yang erat kaitannya dengan peningkatan insiden kanker payudara harus diperhatikan dan dihindari. Adapun faktor resikonya adalah sebagai berikut:

- Usia dan jenis kelamin, dimana usia >50 tahun terjadi peningkatan resiko terjadinya kanker payudara invasif dibandingkan dengan mereka yang berusia kurang dari 50 tahun. Adapun jenis kelamin, sebagian besar kanker payudara terjadi pada wanita dan jarang terjadi pada laki-laki.

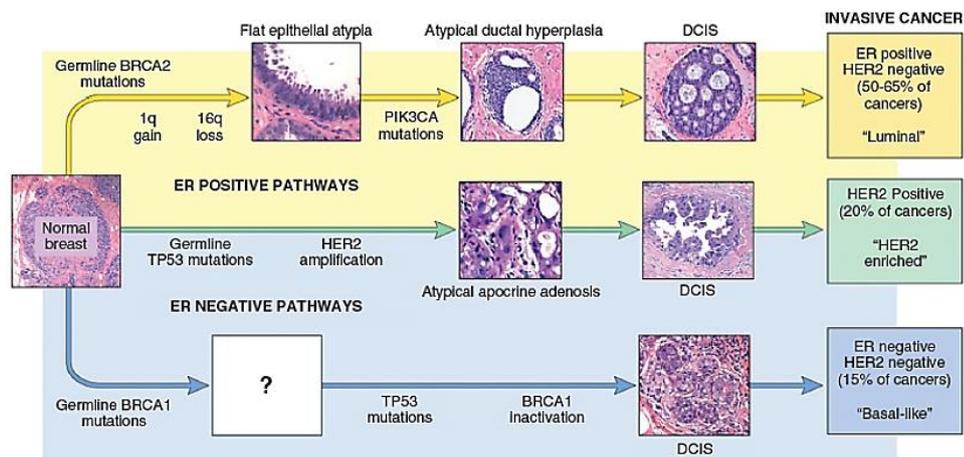
- Riwayat keluarga dan genetik. Seseorang yang membawa mutasi gen BRACA1, BRACA2, ATM, atau TP53 berisiko empat kali lebih besar dibandingkan mereka yang tidak membawa mutasi gen tersebut. Sedangkan mereka yang memiliki dua atau lebih keluarga dekat yang menderita kanker payudara, berisiko 2 sampai 3,99 kali menderita kanker payudara.
- Kondisi payudara. Pada penderita DCIS (Ductal carcinoma in situ) dan LCIS (Lobular carcinoma in situ) yang dideteksi dengan mammografi pada payudara yang sama berisiko menderita 4x lebih tinggi dibandingkan penderita hiperplasia duktus atipikal DCIS pada payudara kontralateral. Sedangkan penderita dengan proliferasi jinak tanpa atypia berisiko 1,25 - 2x menderita kanker payudara.
- Riwayat menstruasi dan reproduksi. Wanita yang mengalami menarche dini (<12 tahun) dan menopause lambat (55 tahun) risikonya rendah untuk menderita kanker payudara (1,25-2X). Sedangkan wanita dengan paritas dengan 4 anak atau lebih (vs 1 anak) usia saat melahirkan pertama kali 12 bulan risikonya lebih rendah lagi (<0,8x).
- Hormon endogen dan eksogen. Kadar estrogen tinggi dalam sirkulasi pada wanita pasca menopause berisiko hampir 4x lebih besar menderita kanker payudara dibandingkan dengan penggunaan kontrasepsi oral yang lama (dalam 10 tahun terakhir) dan penggunaan terapi sulih hormon kombinasi.
- Indeks Massa tubuh (IMT) dan gaya hidup. IMT >25 kg/m<sup>2</sup> (vs <21 kg/m<sup>2</sup>) dan konsumsi alkohol >3x sehari, berisiko hingga 2x lebih besar menderita kanker payudara
- Riwayat penyakit. Radiasi (pada limfoma Hodgkin) sebelum usia 30 tahun dan penderita dengan riwayat kanker payudara kontralateral berisiko 4x lebih besar menderita kanker payudara. Sedangkan riwayat keganasan pada organ lain (ovarium, tiroid, endometrium, kolon, melanoma) risikonya 2x untuk menderita kanker payudara.

- Lingkungan. Hal ini terkait dengan radiasi pengion dosis tinggi yang dialami terutama sebelum usia 20 tahun memiliki risiko hingga 2x untuk menderita kanker payudara. (Kementerian Kesehatan.,2018)

### 2.1.3 PATOGENESIS

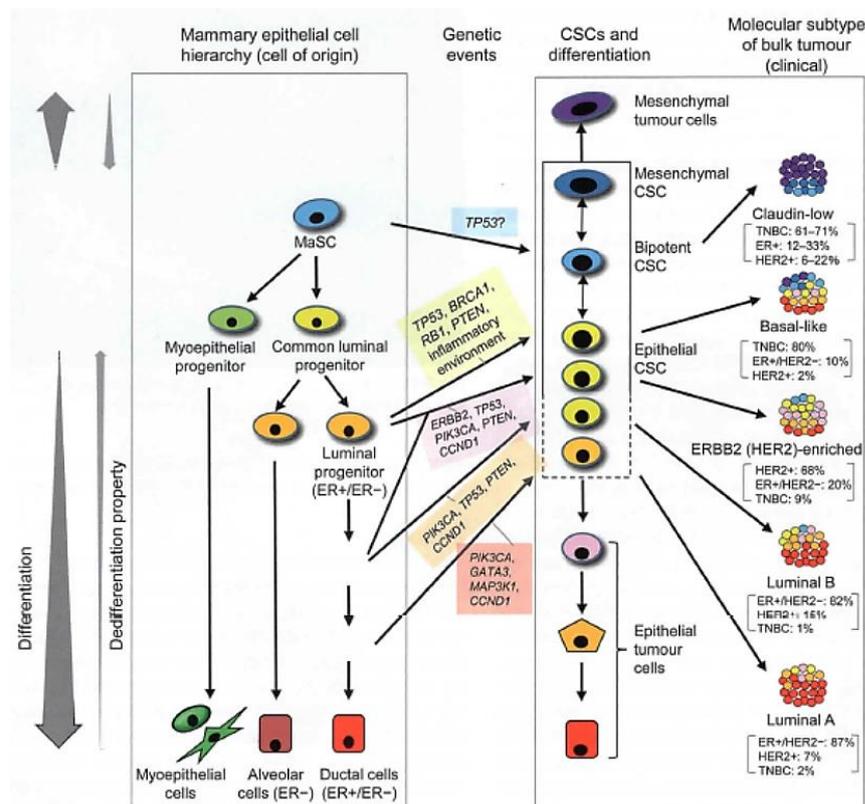
Patogenesis karsinoma payudara invasif melalui beberapa jalur inisiasi, transformasi, dan perkembangan yang umumnya dijelaskan berdasarkan status reseptor hormon dan morfologi. ER-positif menunjukkan flat epithelial atypia, atypical ductal hyperplasia, dan ER-positive ductal carcinoma in situ (DCIS) sebagai prekursor karsinoma payudara invasif dan metastasis. Sedangkan ER-negatif menunjukkan ER-negative DCIS dan microglandular adenosis sebagai prekursor kanker ER-negatif. (Rakha et al., 2019).

Pada tingkat asal sel, terdapat dua jalur yang menjelaskan karsinogenesis payudara: evolusi klonal sporadik dan stem cell kanker. Pada tingkat molekuler, terdapat bukti kuat bahwa karsinoma payudara berevolusi melalui dua jalur molekuler yang berbeda, terutama terkait dengan reseptor hormon yakni karsinoma payudara ER-positif dan ER-negatif adalah penyakit yang berbeda secara mendasar, dan bahwa pada kanker ER-positif, grade histologi dan proliferasi sangat terkait dengan tingkat, kompleksitas, dan jenis penyimpangan genetik. (Rakha et al., 2019).



Gambar 2. Jalur Umum Perkembangan Karsinoma Payudara (Ellensin et al, 2018)

1. Jalur pertama (jalur ER-positif) ditandai dengan penambahan kromosom 1q, kehilangan kromosom 16q, amplifikasi kromosom 17q12, dan ekspresi gen yang terkait dengan fenotipe ER-positif. Lesi ini mengekspresikan reseptor hormon, kurang overekspresi HER2 dan penanda basal, dan memiliki kariotipe diploid sederhana atau near-diploid. Umumnya, jalur ini terdiri dari lesi neoplastik penotif low hingga intermediate grade (grade 1 dan grade 2), dan sebagian kecil (~9%) high grade (grade 3) secara morfologis.



Gambar 3. Diagram Skematis Karsinoma Payudara berdasarkan Asal Sel. CSCs, cancer stem cells; Masc, mammary stem cell; TNBC, triple-negative breast cancer. (Rakha et al., 2019).

2. Jalur kedua (jalur ER-negatif) paling sering ditandai dengan hilangnya kromosom 13q, penambahan kromosom 11q13, amplifikasi kromosom 17q12, dan ekspresi gen yang terkait dengan proliferasi sel dan siklus sel. Jalur ini umumnya terdiri dari tumor intermediate dan high grade (grade 2 dan 3) secara morfologis. Mutasi PIK3CA umumnya terjadi di kedua jalur,

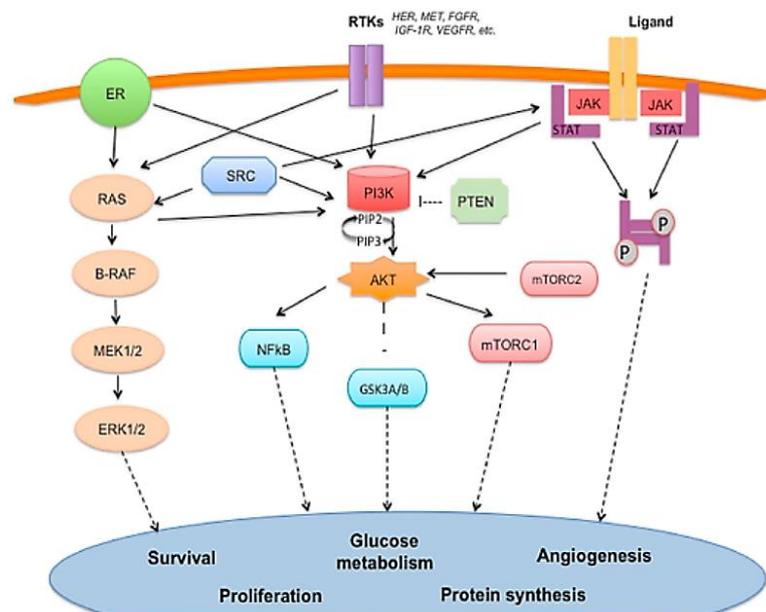
sedangkan mutasi TP53 lebih sering terjadi di jalur ER-negatif. Data juga menunjukkan bahwa perkembangan tumor low grade (grade 1) menjadi high grade (grade 3) lebih sering pada karsinoma payudara fenotip luminal. Karsinoma payudara ER-negatif mencakup kelompok HER2-positif dan HER2-negatif. Dalam kelompok ini (umumnya high grade, tidak stabil secara genetik, dan aneuploid), sering terjadi mutasi TP53. Pada kelompok ER-negatif, HER2-positif, mutasi PIK3CA juga sering terjadi, selain amplifikasi kromosom 17q12. Komponen penting dari ER-negatif, HER2-negatif meliputi aktivitas proliferasi tinggi, infiltrat imunologi yang meningkat, penotip basal-like dan mesenkimal, dan defisiensi dalam rekombinasi homolog.

Mutasi genetik sel-sel somatik akan mempengaruhi dan mengaktifkan sejumlah jalur seluler, yang bertanggung jawab untuk pertumbuhan, proliferasi, dan diferensiasi sel karsinoma payudara. (Gambar 4). (Toss *et al.*, 2017).

1. Jalur Sinyal Estrogen. Hormon steroid, estrogen berkontribusi dalam karsinogenesis karsinoma payudara pada pertumbuhan, perkembangan, diferensiasi sel, dan homeostasis. Estrogen mengaktifkan reseptornya di inti (jalur genomik) yang mengikat DNA untuk mengatur aktivitas gen yang berbeda, dan di membran (jalur non-genomik) yang mengaktifkan berbagai jalur transduksi sinyal; MAPK dan PI3K/AKT/mTOR.
2. Epidermal Growth Factor Receptors (EGFR/HER). Merupakan reseptor tirosin kinase yang mengatur beberapa proses biologis dan khususnya terlibat dalam kontrol proliferasi sel, diferensiasi, dan survival. Ikatan ligan pada reseptor mengaktifasi jalur sinyal PI3K/AKT/mTOR, MAPK, dan jalur JAK/STAT, yang memicu proliferasi dan survival.
3. Jalur PI3K/AKT/mTOR. Merupakan salah satu jalur utama yang terlibat dalam proliferasi sel kanker dan diaktifkan oleh beberapa reseptor tirosin kinase (RTKs), seperti EGFR, IGF-1, FGFR, MET, dan lain-lain. PI3K memfosforilasi phosphatidyl-inositol P2 (PIP2) menjadi phosphatidyl-inositol P3 (PIP3). Setelah fosforilasi, PIP3 mengaktifkan AKT. AKT yang diaktifkan mengenali berbagai substrat, dengan fungsi pengaktif atau penghambatnya,

seperti mTOR, NF- $\kappa$ B (nuclear factor of  $\kappa$ B), MDM2 (regulator negatif oncosuppressor p53), GSK3 (terlibat dalam siklus sel dan proses metabolisme glukosa), dan lain-lain. Oleh karena itu, AKT yang diaktifkan memediasi dan mengatur berbagai proses biologis, termasuk pertumbuhan independen, apoptosis, dan proliferasi.

4. Jalur Sinyal MAPK. MAPK dapat menyebabkan siklus sel yang tidak terkontrol, resistensi terhadap apoptosis dan kemoterapi, terapi target, dan radioterapi. Interaksi antara RTK (seperti EGFR, PDGFR, FGFR, dan lain-lain) dan ligan memungkinkan RAS untuk mengaktifkan aktivitas protein kinase RAF, serine/threonine kinase. RAF kinase, sebagai kaskade, memfosforilasi dan mengaktifkan MEK (mitogen-activated protein kinase). MEK (MEK1 dan MEK2) memfosforilasi dan mengaktifkan mitogen-activated protein kinase, MAPK (juga disebut extracellular-signal-regulated kinase, ERK), yang translokasi ke dalam nukleus dimana memicu beberapa faktor transkripsi yang memediasi ekspresi onkogen yang terlibat dalam proliferasi dan survival.



Gambar 4. Jalur Sinyal yang berperan dalam Perkembangan Karsinoma Payudara.(Toss et al., 2017).

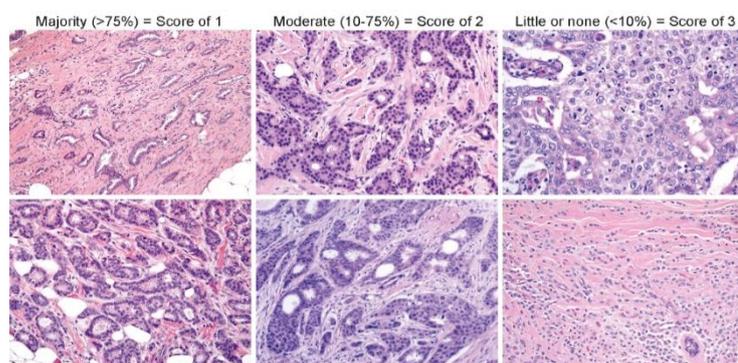
5. Jalur SRC. SRC (Rous Sarcoma) berperan penting dalam pengembangan dan perkembangan banyak tumor solid dan juga terkait dengan resistensi obat. SRC merupakan non-receptor cytoplasmatic tyrosine kinases (SFK) yang terlibat dalam mekanisme pengaturan proliferasi sel, pertumbuhan, migrasi, dan fitur neoplastik lainnya. Aktivasi SRC berimplikasi kaskade jalur pensinyalan yang terlibat dalam onkogenesis, termasuk PI3K/AKT/mTOR, MAPK, dan JAK/STAT.
6. Jalur JAK/STAT. Interaksi antara RTK atau reseptor sitokin dan ligannya mengaktifkan JAK (Janus Kinase). JAK berikatan dengan protein STAT (transduser sinyal dan aktivator transkripsi) memicu transkripsi gen yang terlibat dalam proses proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis. Disregulasi dalam fungsi JAK-STAT menyebabkan kelainan imun dan kanker.

#### **2.1.4 HISTOLOGICAL GRADING**

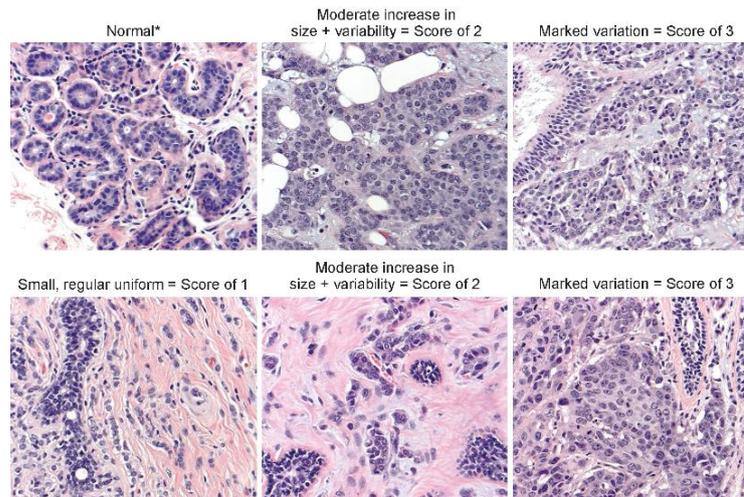
Penilaian grade histologi kanker payudara invasif dapat dilihat pada tabel 1. Dengan menggunakan metode semikuantitatif dengan menilai bentukan tubular, pleomorfisme inti dan jumlah mitosis. Bentuk tubular dinilai pada seluruh tumor dengan pembesaran kecil; hanya struktur tumor dengan central lumina yang jelas dan dikelilingi sel neoplastik yang dihitung. Sedangkan pleomorfisme inti dinilai dengan membandingkan ukuran dan bentuk sel tumor dengan sel epitel normal di sekitarnya. Skor 1 jika ukuran inti sel tumor sama dengan inti sel normal (<1.5 kali), pleomorfisme minimal, kromatin halus dan anak inti tidak terlihat. Skor 2 jika inti sel tumor lebih besar (1.5-2x), pleomorfisme ringan-sedang, dan anak inti kecil dan tidak jelas. Skor 3 jika inti sel tumor lebih besar (>2x), dengan kromatin vesikular, perbedaan ukuran dan bentuk yang jelas, dan anak inti terlihat. (Rakha, Allison, Elis, et al., 2019).

Tabel 1. Grading histologi Kanker payudara invasif  
(Rakha, Allison, Elis, et al, 2019)

Feature	Score
<b>Tubule and gland formation</b>	
Majority of tumour (> 75%)	1
Moderate degree (10-75%)	2
Little or none (< 10%)	3
<b>Nuclear pleomorphism</b>	
Small, regular, uniform cells	1
Moderate increase in size and variability	2
Marked variation	3
<b>Mitotic count</b>	
Dependent on microscope field area <sup>2</sup>	1-3
<b>Total Score</b>	<b>Final grading</b>
Add the scores for gland formation, nuclear polymorphism, and mitotic count:	
3-5	Grade 1
6 or 7	Grade 2
8 or 9	Grade3



Gambar 5. Skoring Bentukkan Tubular. (Rakha et al., 2019).



Gambar 6. Skoring Pleomorfisme Inti. (Rakha et al., 2019).

### 2.1.5 PROGNOISIS DAN PENCEGAHAN

IBC-NST menyebabkan sebagian besar kasus karsinoma payudara, dan karakteristik prognostik serta penatalaksanaannya sama atau sedikit lebih buruk, dengan tingkat kelangsungan hidup 10 tahun 65-78% dibandingkan dengan karsinoma payudara secara keseluruhan (sekitar 80%). Prognosis sangat dipengaruhi oleh usia pasien, grade histologi tumor, stadium tumor, invasi limfovaskular, dan TILs, serta prediktor respons terapi, seperti status ER, PR, dan HER2. Indeks proliferasi Ki-67 dan status AR juga telah terbukti memiliki nilai prognostik. Sekitar 70-80% dari IBC-NST adalah ER-positif, dan 12-20% dari kasus adalah HER2-positif. Manajemen IBC-NST juga dipengaruhi oleh karakteristik prognostik dan prediktif ini. Dalam satu penelitian, pasien kanker payudara berusia  $\geq 50$  tahun saat didiagnosis mengalami 17% kematian yang lebih tinggi daripada pasien yang lebih muda. Dalam studi lain, pasien usia menengah (40-60 tahun) menunjukkan hasil yang lebih baik daripada pasien usia muda dan lanjut. (Rakha et al., 2019).

### 2.2 HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 2 (HER2)

*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)* merupakan keluarga reseptor faktor pertumbuhan epidermal manusia (HER) yang

memainkan peran sentral dalam patogenesis beberapa jenis kanker pada manusia. Mereka mengatur pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan diferensiasi sel melalui berbagai jalur transduksi sinyal dan berpartisipasi dalam proliferasi dan diferensiasi sel. Keluarga ini terdiri dari empat anggota utama: HER-1, HER-2, HER-3, dan HER-4, yang juga disebut ErbB1, ErbB2, ErbB3, dan ErbB4, masing-masing. Keempat reseptor HER terdiri dari situs pengikatan ligan ekstraseluler yang kaya sistein, segmen lipofilik trans-membran, dan domain intraseluler dengan aktivitas katalitik tirosin kinase. Reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR, ErbB1, dan HER1) - reseptor tirosin kinase pertama, ditemukan oleh Carpenter dan rekannya di Universitas Vanderbilt, AS, pada tahun 1978. ErbB adalah singkatan dari asal-usulnya dalam gen Erb-b yang bertanggung jawab atas virus eritroblastosis unggas. (Coussens et al., 1985)

*HER2* dinamakan demikian karena memiliki struktur yang mirip dengan reseptor faktor pertumbuhan epidermal manusia dan dinamakan *Neu* karena berasal dari garis sel glioblastoma hewan pengerat yang merupakan jenis tumor saraf. (Coussens et al., 1985)

Onkogen *neu* (juga dikenal sebagai HER2, ErbB2, atau p185) ditemukan oleh sekelompok ilmuwan di Massachusetts Institute of Technology, Rockefeller, dan Universitas Harvard. Reseptor HER2 adalah asam amino 1255, 185 kD glikoprotein transmembran yang terletak di lengan panjang kromosom 17 (17q12) manusia. HER2 diekspresikan di banyak jaringan dan peran utamanya dalam jaringan ini adalah memfasilitasi pertumbuhan sel yang berlebihan/tidak terkendali dan tumorigenesis (Iqbal Nida et al., 2016).

HER2 berbeda dengan anggota keluarga ERBB lainnya, HER2 tidak secara langsung mengikat ligan. Aktivitas HER2 dapat diaktivasi melalui heterodimerisasi dengan anggota ERBB lain atau melalui homodimerisasi ketika konsentrasi HER2 tinggi, misalnya pada kanker. Amplifikasi atau ekspresi berlebih dari onkogen ini telah terbukti memainkan peran penting dalam perkembangan dan perkembangan jenis kanker payudara agresif tertentu. Dalam beberapa tahun terakhir, protein ini telah menjadi biomarker penting dan target terapi untuk sekitar 30% pasien kanker payudara (Hsu et al., 2016).

Reseptor HER ada sebagai monomer pada permukaan sel. Setelah ligan berikatan dengan domain ekstraselulernya, protein HER mengalami dimerisasi dan transfosforilasi domain intraselulernya. HER2 tidak memiliki ligan pengaktif langsung yang diketahui dan mungkin dalam keadaan teraktivasi secara konstitutif atau menjadi aktif pada saat heterodimerisasi dengan anggota keluarga lainnya seperti HER1 dan HER3. Homo- atau heterodimerisasi menghasilkan autofosforilasi residu tirosin dalam domain sitoplasma reseptor dan memulai berbagai jalur pensinyalan, terutama protein kinase yang diaktifkan mitogen (MAPK), fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinase (PI3K), dan protein kinase C (PKC) yang menghasilkan proliferasi sel, kelangsungan hidup, diferensiasi, angiogenesis, dan invasi. Heterodimer menghasilkan sinyal yang lebih kuat daripada homodimer, dan yang mengandung HER2 memiliki potensi pengikatan ligan dan pensinyalan yang sangat tinggi karena HER2 berada dalam konformasi terbuka sehingga menjadikannya mitra dimerisasi pilihan di antara anggota keluarga. Heterodimer HER2-HER3 adalah stimulator paling kuat dari jalur hilir, terutama PI3K / Akt, pengatur utama pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel. Selain itu, dimerisasi HER2 mendorong mislokalisasi dan degradasi cepat protein penghambat siklus sel p27<sup>Kip1</sup> yang mengarah ke perkembangan siklus sel. HER2 juga dapat diaktifkan dengan mengkomplekskan dengan reseptor membran lain seperti reseptor faktor pertumbuhan mirip insulin 1 (Iqbal Nida et al., 2014)

Sebagian besar penelitian tentang HER2 telah dilakukan pada kanker payudara, setelah ditemukan menginduksi karsinogenesis mammae in vitro dan in vivo. Amplifikasi atau ekspresi berlebih dari gen HER2 terjadi pada sekitar 15-30% kanker payudara. Dengan meningkatnya pemahaman tentang biologi HER2, kini telah diketahui bahwa ekspresi berlebih HER2 juga terjadi pada bentuk kanker lainnya seperti kanker lambung, ovarium, karsinoma endometrium serosa uterus, usus besar, kandung kemih, paru-paru, leher rahim, kepala dan leher, serta kerongkongan. Terlepas dari perannya dalam perkembangan berbagai jenis kanker, ia juga telah dievaluasi secara intensif sebagai target terapeutik. Tujuan dari tinjauan ini adalah untuk memperbarui

peran HER2 dalam berbagai jenis kanker (Iqbal et al., 2014).

*HER2 pada Kanker Payudara.* HER2 diekspresikan secara berlebihan pada 15-30% kanker payudara invasif, yang memiliki implikasi prognostik dan prediktif. Kanker payudara dapat memiliki hingga 25-50 salinan gen HER2, dan peningkatan protein HER2 hingga 40-100 kali lipat yang menghasilkan 2 juta reseptor yang diekspresikan pada permukaan sel tumor. Bahkan estrogen, yang bekerja melalui aktivitas nongenomik reseptor estrogen (ER) di luar nukleus, telah terbukti mengaktifkan pensinyalan HER2. Bentuk HER2 yang menyimpang (dikenal sebagai p95), yang tidak memiliki domain ekstraseluler, ditemukan pada beberapa kanker payudara (Iqbal et al., 2014).

Meskipun beberapa metode untuk pemeriksaan HER2 telah dikembangkan, sekitar 20% pemeriksaan HER2 yang ada saat ini mungkin tidak akurat. Oleh karena itu, American Society of Clinical Oncology (ASCO) dan College of American Pathologists (CAP) telah merekomendasikan pedoman dalam pengujian HER2 untuk memastikan keakuratannya. Dua metode yang saat ini disetujui untuk pengujian HER2 adalah imunohistokimia (IHC) dan hibridisasi fluoresensi in situ (FISH) (Iqbal et al., 2014).

*Kanker Payudara.* Status HER2 harus ditentukan pada semua pasien dengan kanker payudara invasif berdasarkan 1 atau lebih hasil tes. Spesimen kanker payudara pada awalnya harus menjalani tes HER2 dengan uji imunohistokimia (IHC) yang telah divalidasi untuk ekspresi protein HER2. Metode penilaian untuk ekspresi HER2 didasarkan pada pola pewarnaan membran sel pada WHO Classification of tumor Edisi 5 sebagai berikut (Rakha EA et al., 2019).

- (i) 3+ (HER2 positif). Terwarnai lengkap/komplit mengelilingi membran dengan intensitas kuat pada >10% sel tumor;
- (ii) 2+ (Equivokal): Terwarnai lengkap/komplit mengelilingi membran dengan intensitas lemah hingga sedang pada >10% sel tumor;
- (iii) 1+:dan 0 (Negatif):
  - 1+ : Terwarnai tidak lengkap mengelilingi membran dengan intensitas

samar/hampir tidak terlihat pada >10% sel tumor;

- 0: Tidak terwarnai pada sel tumor atau terwarnai tidak lengkap mengelilingi membran dengan intensitas samar/hampir tidak terlihat pada  $\leq 10\%$  sel tumor;

Spesimen kanker payudara dengan IHC yang tidak jelas harus menjalani hibridisasi fluoresensi in situ (FISH) untuk validasi. Interpretasi untuk pemeriksaan FISH HER2 (rasio HER2 terhadap CEP17 dan jumlah salinan gen) adalah sebagai berikut:

- (i) amplifikasi *HER2* positif: Rasio FISH lebih tinggi dari atau salinan gen *HER2* lebih besar dari 6,0;
- (ii) amplifikasi *HER2* yang tidak jelas: Rasio FISH 1,8- 2,2 atau salinan gen *HER2* 4,0-6,0;
- (iii) amplifikasi *HER2* negatif: Rasio FISH lebih rendah dari 1,8 atau salinan gen *HER2* kurang dari 4,0.

Jalur pensinyalan yang diaktifkan oleh HER2 meliputi:(Roy V, Perez EA)

- Protein kinase yang diaktifkan oleh mitogen (MAPK)
- Fosfoinositida 3-kinase (PI3K / Akt)
- Fosfolipase C  $\gamma$
- Protein kinase C (PKC)
- Transduser sinyal dan aktivator transkripsi (STAT)

Singkatnya, pensinyalan melalui keluarga reseptor ErbB mendorong proliferasi sel dan melawan apoptosis, dan oleh karena itu harus diatur secara ketat untuk mencegah pertumbuhan sel yang tidak terkendali.

### **2.3 CYCLIN DEPENDENT KINASE (CDK) DAN SIKLUS SEL**

CDK pertama kali ditemukan melalui studi genetik dan biokimia pada organisme model seperti ragi dan katak. Penelitian ini membuktikan pentingnya CDK dalam mendorong transisi melalui siklus sel. Selain itu, penelitian ini menunjukkan bahwa sub-unit katalitik, CDK, harus berasosiasi

dengan subunit pengatur, siklin, yang kadar proteinnya diatur pada regulasi selama siklus sel. Sejak penelitian perintis ini dilakukan pada tahun 1980-an, pentingnya CDK yang bertindak sebagai keluarga protein kinase eukariotik utama yang terlibat dalam integrasi sinyal ekstraseluler dan intraseluler untuk memodulasi transkripsi gen dan pembelahan sel telah ditetapkan dengan jelas (Malumbres., 2014)

Terlepas dari fungsinya dalam pembelahan dan transkripsi sel eukariotik, CDK telah mengalami tingkat divergensi evolusi dan spesialisasi yang luar biasa. Enam CDK yang berbeda terdapat pada ragi yang sedang bertunas. CDK ini dapat dikelompokkan sebagai, pertama, CDK yang mengikat beberapa siklin dan dapat mengatur siklus sel dan, kedua, CDK yang diaktifkan oleh siklin tunggal dan terlibat dalam regulasi transkripsi. Pada ragi yang sedang bertunas *Saccharomyces cerevisiae*, kelompok pertama mengandung Cdc28 dan Pho85, masing-masing mengikat sembilan atau sepuluh siklin yang berbeda. Gabungan ini membentuk dasar untuk regulasi dinamis dan kemampuan mereka untuk memfosforilasi beberapa substrat, sehingga mengatur siklus pembelahan sel sebagai respons terhadap isyarat seluler yang berbeda. Kelompok kedua terdiri dari empat CDK - Kin28, Srb10, Bur1 dan Ctk1 - masing-masing diaktifkan oleh satu siklin spesifik (Gambar 1). Siklin ini biasanya tidak diatur dengan cara yang bergantung pada siklus sel, dan anggota kelompok CDK kedua ini terlibat dalam kontrol transkripsi gen. (Malumbres., 2014)

*Cyclin-dependent kinase* (CDK) adalah protein kinase yang ditandai dengan kebutuhan subunit terpisah dari suatu siklin yang menyediakan domain yang penting untuk aktivitas enzimatis. CDK memainkan peran penting dalam mengontrol pembelahan sel dan memodulasi transkripsi sebagai respons terhadap beberapa isyarat ekstra dan intraseluler. Perluasan evolusioner. Perluasan evolusioner keluarga pada mamalia menyebabkan pembagian CDK menjadi subfamily yang berhubungan dengan siklus sel (CDK1, CDK4, CDK5) dan lima subfamily transkripsi (CDK7, CDK8, CDK9, CDK11, CDK20). CDK secara

tradisional dipisahkan menjadi siklus sel atau CDK transkripsi yang merupakan ciri khas beberapa penyakit termasuk kanker. (Malumbres., 2014).

CDK merupakan enzim pengatur yang penting dalam proses fisiologis yang mendorong transisi siklus sel dan mengatur transkripsi. Hampir semua kanker memiliki perubahan genomik yang menyebabkan aktivasi konstitutif CDK dan menghasilkan proliferasi sel kanker. (Juric et al., 2019)

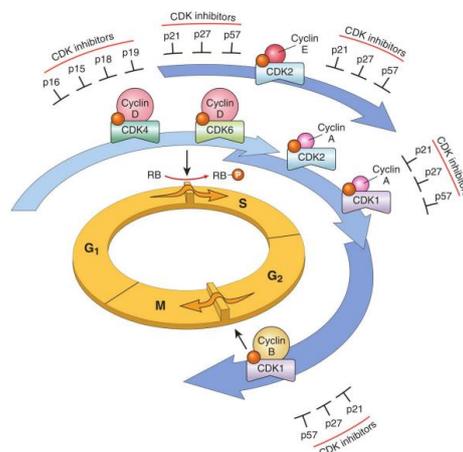
Kelompok CDK mamalia memiliki lebih dari 20 anggota yang diketahui. CDK pertama, sekarang dikenal sebagai CDK1, ditemukan dalam ragi di mana itu terbukti penting untuk meningkatkan siklus sel. Proses siklus sel sangat ketat dikendalikan untuk memastikan pembelahan sel. *Cyclin-dependent kinase* secara ketat mengatur perkembangan melalui fase G1 (fase pertumbuhan), S (sintesis DNA), fase G2 (fase pertumbuhan kedua) dan M (mitosis) pada siklus sel, CDK bekerja bersama dengan siklin yang terkait. CDK 1-4, 6 dan 11 mengontrol beberapa aspek pembelahan sel termasuk replikasi DNA, perkembangan mitosis, dan respons terhadap sinyal regulasi pertumbuhan. Terkait dengan siklinnya, CDK 2, 4 dan 6 mengatur perkembangan dari fase G1 ke S. Akhirnya, mitosis adalah di bawah kendali kompleks CDK1-CycB dan CDK11-CycL. (Juric et al., 2019)

Perkembangan siklus sel didorong oleh protein yang disebut siklin yang dinamai berdasarkan sifat siklus produksinya dan degradasi dan enzim terkait cyclin yang disebut *cyclin dependent kinase* (CDK). CDK memperoleh kemampuan untuk memfosforilasi substrat protein (yaitu, aktivitas kinase) dengan membentuk kompleks dengan siklin yang relevan. Sintesis yang meningkat sementara dari sadapan cyclin tertentu untuk meningkatkan aktivitas kinase dari pengikatan CDK yang sesuai; saat CDK menyelesaikan putaran fosforilasinya, siklin terkait terdegradasi dan aktivitas CDK mereda. Jadi, saat kadar cyclin naik dan turun, aktivitas CDK terkait juga meningkat. Siklus sel dapat dianalogikan sebagai perlombaan estafet di mana setiap kaki diatur oleh set cyclins yang berbeda: saat satu kumpulan cyclins meninggalkan lintasan, set berikutnya mengambil alih. (Juric et al., 2019)

Tabel 2. CDK yang paling sering dipelajari beserta peran fisiologisnya (Juric et al., 2019)

CDKs	Cyclin partner(s)	Cellular functions
CDK1	Cyclin A, B1	DNA structure checkpoints during late G2 and the spindle assembly checkpoint during mitosis
CDK2	Cyclin A Cyclin E1, E2	Control of G1-S phase of cell cycle (DNA replication) Rb/E2F transcription
CDK3	Cyclin C	Control of interphase NHEJ-mediated DNA damage repair
CDK4	Cyclin D	Control of G1 phase of cell cycle Rb/E2F transcription
CDK5	p35, p39, Cyclin I	Senescence, post-mitotic neurons
CDK6	Cyclin D	Control of G1 phase of cell cycle Rb/E2F transcription
CDK7	Cyclin H	CAK RNAP II transcription (initiation to elongation)
CDK8	Cyclin C	RNAP II transcription (transcriptional repressor)
CDK9	Cyclin T1, T2a, T2b	RNAP II transcription
CDK10	Cyclin K	DNA damage response
CDK11	Cyclin T Cyclin L	G2/M transition, suppression of Ets2 transactivation domain G2/M transition, RNA processing

Pada siklus sel terdapat mekanisme pengawasan yang siap untuk mendeteksi kerusakan DNA atau kerusakan kromosom. Pada pos pemeriksaan kontrol kualitas memastikan bahwa sel-sel dengan ketidaksempurnaan genetik tidak menyelesaikan replikasi. Jadi, G1-S pos pemeriksaan memantau integritas DNA sebelum secara permanen mengikat sumber daya seluler ke replikasi DNA. (Juric et al., 2019; Malumbres., 2014)



Gambar 7. Peran cyclins, cyclin-dependent kinases (CDKs) dan inhibitor CDK dalam mengatur siklus sel.

Kemudian dalam siklus sel, titik pembatasan GTM memastikan bahwa telah ada replikasi genetik yang akurat sebelum sel benar-benar membelah. Ketika

sel mendeteksi ketidakteraturan DNA, aktivasi pos pemeriksaan menunda perkembangan siklus sel dan memicu mekanisme perbaikan DNA. Jika kecacuan genetik terlalu parah untuk diperbaiki, sel-sel akan menjalani apoptosis; sebagai alternatif, mereka dapat memasuki keadaan non replikatif yang disebut *senescence*-terutama melalui p53 mekanisme dependen. Mempertahankan pos pemeriksaan siklus sel adalah tugas CDK inhibitor (CDKis) dengan memodulasi aktivitas kompleks CDK-cyclin. (Juric et al., 2019; Malumbres., 2014)

Ada beberapa inhibitor CDK yang berbeda:

- Satu famili yang terdiri dari tiga protein yang disebut p21 (CDKN1A), p27 (CDKN1B), dan p57 (CDKN1C)- secara luas menghambat beberapa CDK.
- Keluarga protein CDKI lainnya memiliki efek selektif pada cyclin CDK4 dan cyclin CDK6; protein ini disebut p15 (CDKN2B), p16 (CDKN2A), p18 (CDKN2C), dan p19 (CDKN2D). (Malumbres., 2014).

Pos pemeriksaan protein CDK yang rusak memungkinkan sel dengan DNA yang rusak untuk membelah, menghasilkan anak sel yang bermutasi dan berpotensi berkembang menjadi tumor ganas. (Kumar et al.,2015)

#### **2.4 CYCLIN DEPENDENT KINASE 4 DAN 6 (CDK4 DAN CDK6)**

*Cyclin dependent kinase 4* (CDK4) juga dikenal sebagai *cell division protein kinase 4* adalah enzim yang pada mamalia yang dikodekan oleh gen CDK4 yang termasuk keluarga kinase yang bergantung pada siklin, yang juga merupakan subunit katalitik dari kompleks protein kinase yang penting untuk perkembangan fase siklus G1. Aktivitas kinase ini terbatas pada fase G1-S, yang dikendalikan oleh subunit pengatur siklin tipe-D dan inhibitor CDK <sup>p16INK4a</sup>. Kinase ini terbukti bertanggung jawab atas proliferasi produk gen retinoblastoma (Rb). CDK4 adalah integrator utama dari berbagai sinyal mitogenik dan antimitogenik. Juga memfosforilasi SMAD3 dengan cara bergantung pada siklus sel dan menekan aktivitas transkripsinya. (Asghar et al., 2015)

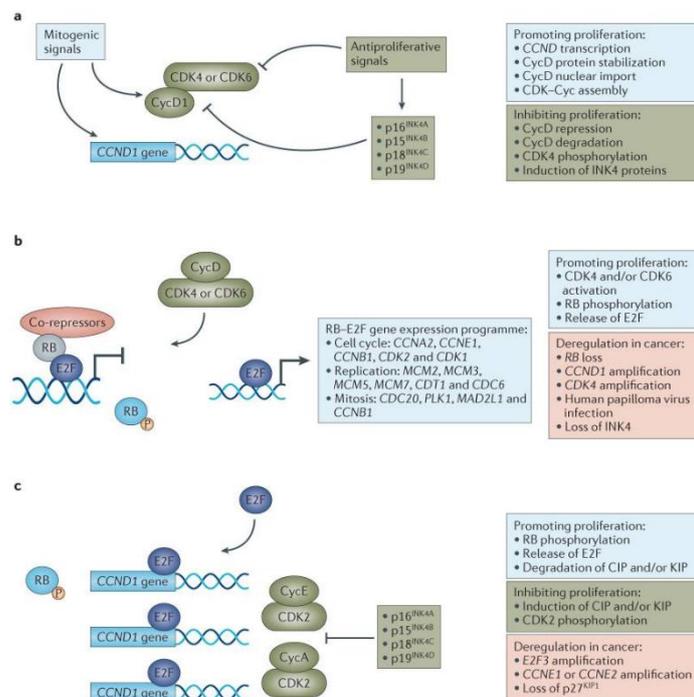
Cyclin dependent kinase 4 dan cyclin dependent kinase 6 (CDK4 dan CDK6) secara struktural merupakan protein yang memiliki banyak kesamaan secara biokimiawi maupun biologis, meskipun sebagian besar penelitian hanya berfokus pada CDK4. CDK6 secara khusus terlibat dalam proliferasi sel-sel prekursor hematologis. 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 promotor dan enhancer dalam mengontrol transkripsi. (Asghar et al., 2015, Baker Stacey J, et al., 2022)

Berbeda dengan jenis CDK lainnya, dimana hubungan cyclin tampaknya terjadi secara spontan, pada CDK4 dan CKD6 proses ini diatur oleh beberapa mekanisme yang berbeda. Protein penghambat CDK4 yaitu INK4 yang mencakup p16INK4A, p15INK4B, p18INK4C dan p19INK4D, 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 resposnya terhadap kondisi stres. Sebagai contoh, p16INK4A diinduksi oleh sejumlah onkoprotein yang menghambat transformasinya, ekspresi berlebihan dari p16INK4A menyebabkan terhentinya siklus sel pada fase G1. Hal yang sama juga terjadi pada p15INK4B yang juga diinduksi oleh supresi yang diperantarai transforming-growth factor- $\beta$  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. (Asghar et al., 2015; Fassel Anne, et al., 2022)

- a. Awalnya, sinyal mitogenik mengaktivitas 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.



Gambar 8. Model regulasi G1 – S dan relevansinya dengan kanker

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. (Asghar et al., 2015)

Pengaturan aktivitas CDK4, CDK6 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 dan CDK6, CDK2, dan CDK1), tetapi juga dalam keadaan tertentu mengikat dan menstabilkan hycenzenzyme D-CDK4 dan CDK6 cyclin. Fungsi-fungsi yang berbeda ini dapat diatur oleh jumlah dan status fosforilasi protein CIP/KIP. (Asghar et al., 2015; Fassi Anne, et al., 2022)

Aksis CDK4 dan CDK6-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 p16INK4A sebagai titik utama dalam mengganggu regulasi proliferasi. Ekspresi yang berlebihan dari p16INK4A akan melibatkan pRB untuk menekan faktor pertumbuhan maupun progresi siklus sel, dan merangsang proses penuaan yang diperantarai onkogen. Proses penuaan yang diperantarai onkogen harus dicegah agar memungkinkan proliferasi onkogen lebih lanjut, yang terjadi melalui 2 prinsip penting pada tumor: hilangnya fungsi p16INK4A atau hilangnya fungsi pRB. Hilangnya fungsi p16INK4A juga akan melepaskan stres onkogenik melalui penekanan aktivitas CDK4 dan 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 p16INK4A. Selain itu, tumor yang negatif-pRB juga mengekspresikan kadar p16INK4A yang suprafisiologis dan tidak sensitif dengan ekspresi tambahan p16INK4A akibat tidak adanya pRB. Mekanisme yang berbeda terjadinya deregulasi aksis CDK4 dan CDK6-RB

merupakan aktivasi okogenik langsung dari aktivitas CDK4 atau CDK6. (Asghar et al., 2015; Fasl Anne, et al.,2022)

### BAB III KERANGKA TEORI

