

ARTIKEL PENELITIAN

Hubungan Ekspresi NFkB dengan Respons Radiasi Kanker Serviks Stadium Lokal Lanjut

Affi A. Ratnasari,^{1*} Hariyono Winarto,² Sigit Purbadi,²
Sri M. Sekarutami,³ Bambang Sutrisna⁴

¹ Departemen Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Sebelas Maret

² Departemen Obstetri dan Ginekologi,

³ Departemen Radioterapi, FK Universitas Indonesia–RSUP Nasional dr. Cipto Mangunkusumo

⁴ Departemen Epidemiologi FKM Universitas Indonesia

*Korespondensi: affi.ratnasari@yahoo.co.id

Diterima 18 Februari 2016; Disetujui 11 April 2016

Abstrak

Apoptosis merupakan salah satu jalur eliminasi sel kanker pada proses radiasi dan nuclear factor kappa-B (NFkB) merupakan faktor transkripsi yang diduga berhubungan dengan mekanisme resistensi apoptosis suatu sel sehingga dapat memengaruhi respons pascaradiasi. Penelitian ini bertujuan untuk menilai ekspresi relatif NFkB pada kanker serviks stadium lokal lanjut dan hubungannya dengan respons radiasi. Penelitian dilakukan dengan desain kohort observasional pada bulan Januari–Oktober 2015. Jaringan biopsi pra-radiasi dari kanker serviks diperoleh dari 17 subjek dan biopsi mid-radiasi didapatkan dari 10 subjek. mRNA NFkB diekstraksi dan dianalisis menggunakan qRT-PCR. Ekspresi relatif NFkB diuji terhadap hubungannya dengan respons radiasi. Hasil penelitian menunjukkan median ekspresi relatif NFkB pra-radiasi pada kelompok subyek dengan respons negatif (0,667; SD 0,413) lebih tinggi daripada kelompok respons positif (0,315; SD 160,298), namun tidak terdapat hubungan dengan respons pascaradiasi ($p=0,578$). Terdapat hubungan antara perubahan ekspresi NFkB midterapi dibandingkan praterapi terhadap respons radiasi ($p=0,035$; RR 0,33). Disimpulkan bahwa penurunan ekspresi NFkB mid-radiasi dapat berperan dalam meningkatkan respons pascaradiasi.

Kata kunci: NFkB, respons radioterapi, kanker serviks stadium lanjut lokal

Expression of NFkB in Locally Advanced Cervical Cancer and Its Relation to Radiotherapy Response

Abstract

One of the expected elimination pathways of cancer cells in the process of radiation is apoptosis. Nuclear factor kappa-B (NFkB) is a transcription factor related to the mechanism of apoptosis resistance of a cell, which can affect the post-radiation response. The aim of this study is to assess the relative expression of NFkB in locally advanced cervical cancer and its relation to radiotherapy response. The study was conducted with observational cohort design on January–October 2015. Pre-radiotherapy cervical biopsy specimen was collected from 17 subjects, while only 10 subjects were willing to be taken mid-radiotherapy cervical biopsy specimen. We extracted and analyzed mRNA of NFkB by using qRT-PCR. NFkB relative expression was tested to its correlation with radiotherapy response. This study demonstrated that median of pra-radiotherapy relative expression on subjects with negative response (0.667; SD 0.413) was higher than positive response (0.315; SD 160.298), but not statistically significant ($p=0.578$). Alteration of mid-radiotherapy NFkB relative expression compared to pra-radiotherapy showed correlation to radiotherapy response. It is concluded that reduced expression of mid-radiotherapy NFkB relative expression plays a role in increasing radiotherapy response.

Keywords: NFkB, radiotherapy response, locally advanced stage cervical cancer

Pendahuluan

Radioterapi merupakan modalitas terapi kanker serviks yang penting pada kanker serviks stadium lanjut namun keberhasilannya pada terapi kanker serviks stadium lanjut belum menunjukkan hasil yang memuaskan. Respons terapi yang didapat pada kanker serviks stadium lokal lanjut belum memberikan hasil yang baik dan respons lengkap terapi radiasi kanker serviks stadium lokal lanjut masih berkisar 26-56%.¹⁻² Demikian pula angka kesintasan hidup 5 tahun penderita kanker serviks stadium lokal lanjut yang diterapi dengan radiasi masih rendah, yaitu 63,7% pada stadium IIB, 41,37% pada stadium IIIB dan 16,4% pada stadium IVA.³

Faktor prognostik dan prediktor terhadap luaran pascaradioterapi pada pasien kanker serviks adalah stadium berdasarkan FIGO, status kelenjar getah bening pelvik dan para-aorta, serta ukuran tumor praterapi dan pascaterapi. Beberapa peneliti juga menyatakan bahwa respons volume tumor pascaradioterapi berhubungan dengan *local disease control* dan *disease free survival*.⁴⁻⁵

Salah satu cara untuk mengembangkan terapi adekuat, memahami prognosis serta memperbaiki kesintasan hidup penderita kanker adalah dengan memahami proses karsinogenesis dan faktor-faktor terkait. Salah satu proses yang sangat penting dalam pengendalian sel abnormal dan eradikasi sel tumor adalah proses apoptosis. Identifikasi letak disregulasi pada jalur apoptosis membuka peluang pilihan tata laksana kanker yang diharapkan dapat memberikan luaran lebih baik dibandingkan terapi konvensional. Efek terapi radiasi yang diharapkan pada penderita kanker serviks di tingkat seluler adalah terhentinya siklus sel kanker dan meningkatnya indeks apoptosis sehingga menyebabkan mengecilnya massa tumor dan tidak terjadi residif tumor pascaradiasi.⁶⁻⁷

Salah satu protein yang terlibat dalam gangguan apoptosis adalah jalur aktivasi *nuclear factor-kappa B* (NFkB). NFkB merupakan famili faktor transkripsi dengan spektrum kerja yang luas, antara lain menginduksi pertahanan sel, proliferasi serta berperan dalam regulasi sistem imun dan respons inflamasi. Aktivasi NFkB pada sel normal akan mengaktifkan beberapa gen yang terlibat dalam supresi kematian sel melalui jalur mitokondria maupun reseptor kematian. NFkB menginduksi ekspresi *inhibitors of apoptosis* (IAPs) dan beberapa anggota famili anti-apoptosis Bcl-2. NFkB juga dapat melakukan interferensi terhadap aktivitas transkripsional p53 melalui peningkatan gen antiapoptosis dan penekanan p53 sehingga menghambat proses apoptosis yang diinduksi oleh p53. Selain itu, NFkB mempromosikan progresi siklus sel melalui pengaturan gen yang terlibat dalam

siklus sel seperti *cyclin* D1, D2, D3 dan *cyclin* E, c-myc dan c-mycb. NFkB diduga berhubungan pula dengan aktivitas pRb melalui *cyclin* D1.⁸⁻⁹ Mekanisme anti-apoptosis NFkB menimbulkan konsep umum bahwa aktivasi NFkB berperan terhadap resistensi apoptosis.

Beberapa penelitian menunjukkan inhibisi NFkB meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap reaksi apoptosis pada kemoterapi dan radioterapi,¹⁰ namun hasil penelitian tersebut masih bervariasi. Li *et al*¹¹ melaporkan aktivasi NFkB berhubungan erat dengan progresi tumor, perilaku agresif sel kanker dan prognosis buruk kanker serviks. Peran aktivasi NFkB terkait respons pascaterapi radiasi kanker serviks stadium lokal lanjut hingga saat ini masih dikembangkan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai ekspresi relatif NFkB pada kanker serviks stadium lokal lanjut dan hubungannya dengan respons radiasi.

Metode

Penelitian ini merupakan studi prognostik dengan desain kohort yang dilakukan di Departemen Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, RS dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta selama 10 bulan (Januari - Oktober 2015). Sebanyak 30 pasien kanker serviks stadium lokal lanjut bersedia mengikuti prosedur penelitian, namun hanya 23 subyek yang memenuhi kriteria penerimaan.

Data lengkap subjek diperoleh dari catatan rekam medis poliklinik rawat jalan dan radioterapi RSCM. Subyek yang setuju untuk ikut serta dalam penelitian dilakukan biopsi cubit serviks pra-radiasi dan mid-radiasi. Prosedur penelitian telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI-RSCM pada bulan Januari 2015.

Sebanyak 6 subyek *drop out* sebelum mendapatkan jadwal radiasi karena daftar tunggu radiasi lebih dari 4 bulan setelah diagnosis sehingga hanya didapatkan 17 subyek yang dapat diikuti hingga akhir terapi radiasi. Dari 17 subyek yang menjalani radiasi, hanya 10 subyek yang dapat menyelesaikan prosedur penelitian secara lengkap. Sebanyak 7 subyek tidak dapat dibiopsi mid-radiasi dan hanya dilakukan pengamatan respons pascaradiasi. Hal tersebut disebabkan enam subyek menolak biopsi mid-radiasi dengan alasan ketidaknyamanan dan satu subyek menolak melanjutkan penelitian karena kondisi penyakit yang progresif.

Spesimen biopsi yang didapat disimpan dengan teknik *cryopreservation*. Setelah seluruh sampel terkumpul dilakukan ekstraksi mRNA jaringan dari spesimen biopsi dengan teknik

analisis kuantitatif mRNA melalui *quantitative reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) di laboratorium Biokimia dan Biologi Molekular FKUI.

Semua subyek diikuti sejak awal radiasi hingga menyelesaikan radiasi. Tiga bulan pascaradiasi dilakukan penilaian respons terapi dengan pemeriksaan klinis dan penunjang sesuai indikasi. Respons terapi didapatkan dengan membandingkan ukuran tumor primer sebelum dan sesudah radiasi. Digunakan kriteria RECIST dalam penilaian respons radiasi, dan pengelompokan respons tumor. Subyek dengan respons terapi komplisit dan parsial dikategorikan sebagai respons positif, sedangkan subyek dengan respons terapi stabil dan progresif dikelompokkan sebagai respons negatif.

Quantitative reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)

Ekstraksi mRNA NFkB menggunakan *TriPure Isolation Reagent kit* dari 50 mg jaringan *fresh biopsy* yang telah dilakukan *cryopreservation*. Analisis ekspresi mRNA NFkB menggunakan *AccuPower® Bioneer qRT-PCR kit (Korea)*. Sekuens primer mRNA NFkB merupakan sekuens *Homo sapiens nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1 (NFkB1)* dengan *NCBI reference sequence*: NM_001165412.1. Gen referensi yang digunakan adalah 18sRNA. Siklus reaksi melalui protokol *pre-denaturation* 95°C selama 5 menit, *denaturation* 95°C selama 10 detik, *annealing* 57°C selama 30 detik, *extention* 72°C selama 30 detik. Siklus PCR dijalankan sebanyak 40 kali. *Melt curve analysis* dilakukan pada suhu 55°C hingga 95°C; suhu ditingkatkan 0,5°C setiap siklus selama 10 detik. Ekspresi NFkB yang dinilai merupakan ekspresi relatif NFkB yang didapatkan melalui perhitungan formula Livak.¹² Nilai dasar perhitungan ekspresi relatif adalah perhitungan ekspresi NFkB sampel dibandingkan ekspresi rerata sampel karsinoma sel skuamosa dari kanker serviks stadium lokal lanjut dengan diferensiasi baik.

Hubungan antara ekspresi NFkB dan respons terapi dianalisis dengan *t-test* dan *pearson chi-square*. Perhitungan menggunakan perangkat lunak SPSS 20 for windows, dengan $p < 0,05$ dianggap bermakna secara statistik.

Hasil Penelitian

Ekspresi relatif NFkB pra-radiasi pada subyek kanker serviks stadium lokal lanjut dengan respons positif memiliki ekspresi lebih rendah dari subyek yang memiliki respons negatif. Pada 11 subyek dengan respons radiasi positif median ekspresi relatif NFkB pra radiasi berada pada 0,32 dengan

ekspresi relatif minimum 0,07 dan ekspresi relatif maksimum 532,26. Median ekspresi relatif NFkB pra-radiasi pada 6 subyek (35,3%) yang memiliki respons radiasi negatif adalah 0,67 dengan ekspresi relatif minimum 0,12 dan ekspresi relatif maksimum 1. Walaupun median ekspresi relatif NFkB pada kelompok subyek dengan respons negatif lebih tinggi daripada ekspresi relatif NFkB pada kelompok subyek dengan respons positif, analisis uji *t* tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara ekspresi relatif NFkB dengan respons pascaradiasi ($p=0,48$).

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian

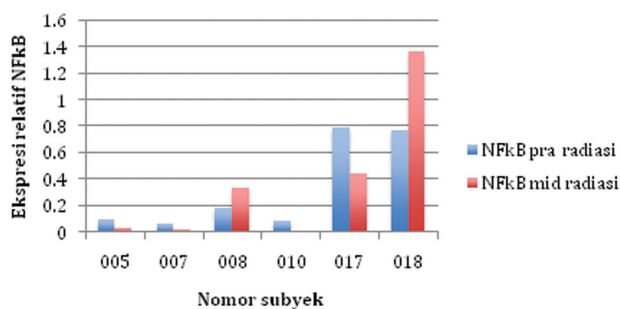
Karakteristik	Jumlah n=17(%)
Usia	
Mean±SD	56,64±10,43
Jumlah paritas	
1	3(17,6)
2	8(47,1)
3	4(23,5)
4	2(11,8)
Jumlah pernikahan	
1	10(58,8)
2	6(35,3)
3	1(5,9)
Stadium	
IIB – IIIA	6(35,3)
IIIB – IVA	11(64,7)
Ukuran tumor	
≤4cm	10(58,8)
>4cm	7(41,2)
Diferensiasi sel	
Baik	4(23,5)
Sedang	10(58,8)
Buruk	3(17,6)
OTT	
Mean±SD	69,52±23,16
Respons radiasi	
Positif	11(64,7)
Negatif	6(35,3)

^aVariabel skala kategorik disajikan dalam n(%); skala numerik berdistribusi normal disajikan dalam rerata (s.b.); skala numerik berdistribusi tidak normal disajikan dalam median (min-maks)

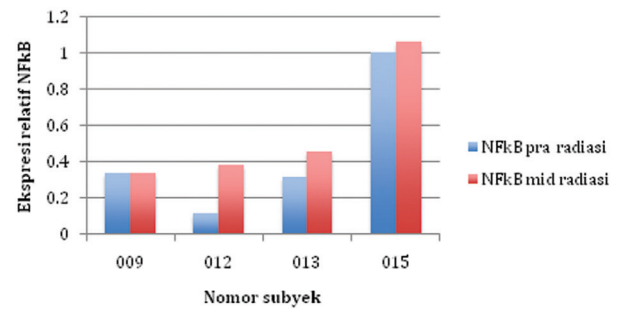
Ekspresi relatif NFkB mid-radiasi pada subyek kanker serviks stadium lokal lanjut dengan respons positif memiliki ekspresi lebih rendah daripada subyek yang memiliki respons negatif. Pada 6 subyek dengan respons radiasi positif median ekspresi relatif NFkB mid-radiasi berada pada 0,18 dengan ekspresi relatif minimum 0,25 dan ekspresi relatif maksimum 1,37. Median ekspresi relatif NFkB mid-radiasi pada 4 subyek yang memiliki respons radiasi negatif adalah 0,42 dengan ekspresi relatif minimum 0,34 dan ekspresi relatif maksimum 1,06.

Kelompok subyek dengan respons terapi positif menurun pada mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi. Terdapat dua subyek yang menunjukkan ekspresi relatif NFkB meningkat pada mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi. Kelompok subyek dengan respons terapi negatif menunjukkan peningkatan ekspresi relatif NFkB mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi. Hanya satu subyek yang tidak menunjukkan perubahan ekspresi relatif mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi. Pada kelompok subyek dengan respons radiasi positif didapatkan perubahan ekspresi relatif terhadap ekspresi praterapi dengan rerata 0,03 (SD 0,32). Pada kelompok subyek dengan respons radiasi negatif didapatkan perubahan ekspresi relatif terhadap ekspresi pra-terapi dengan rerata 0,16 (SD 0,11). Analisis *pearson chi-square* menunjukkan hubungan antara perubahan ekspresi NFkB terhadap respons terapi ($p=0,035$) dengan RR 0,33.

Kelompok subyek dengan respons terapi positif memiliki penurunan ekspresi relatif NFkB mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi, walaupun terdapat dua subyek yang menunjukkan peningkatan ekspresi relatif NFkB pada mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi (Gambar 1). Kelompok subyek dengan respons terapi negatif menunjukkan peningkatan ekspresi relatif NFkB mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi (Gambar 2). Hanya satu subyek yang tidak menunjukkan perubahan ekspresi relatif mid-radiasi dibandingkan pra-radiasi.



Gambar 1. Grafik Ekspresi Relatif Nfkb Pra-radiasi dan Mid-radiasi pada Kelompok Subyek dengan Respons Radiasi Positif



Gambar 2. Grafik Ekspresi Relatif Nfkb Pra-radiasi dan Mid-radiasi pada Kelompok Subyek dengan Respons Radiasi Negatif

Pembahasan

Jumlah sampel yang lebih kecil dari sampel minimal dapat mempengaruhi hasil yang mungkin signifikan secara klinis namun tidak memberikan hasil yang signifikan secara statistik. Perhitungan *power* setelah penelitian hanya 12,05%, yang berarti kemampuan penelitian ini untuk menolak hipotesis nol hanya 12,05%. Pada penelitian ini jumlah sampel tidak ditambah, walaupun beberapa subjek *drop out*. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat digunakan sebagai *pre-eliminary study*.

Pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan antara ekspresi NFkB pra-radiasi dengan respons radiasi. Perlu dipertimbangkan bahwa pengukuran masih terbatas pada tingkat mRNA yang merupakan transisi informasi genetik saat sekuens basa DNA telah mendapatkan stimulasi untuk memproduksi protein yang dibutuhkan sel. Oleh karena itu sangat mungkin terjadi perbedaan ekspresi mRNA dengan ekspresi protein yang sudah ditranslasi dalam sel. Untai mRNA biasanya ditranslasikan oleh banyak ribosom (*polyribosomes* atau *polysomes*) di berbagai tempat sehingga proses sintesis protein umumnya lebih cepat daripada mRNA.¹³

Salah satu cara untuk menilai ekspresi protein adalah dengan melakukan ekstraksi protein tersendiri dalam sel dan menilai tingkat ekspresinya, misalnya dengan menggunakan ELISA. Penilaian ekspresi protein dilakukan bersamaan dengan penilaian ekspresi mRNA untuk mendapatkan tingkat aktivitas NFkB intraseluler. Selain itu, tingkat aktivasi NFkB pada suatu sel juga dipengaruhi oleh faktor lain yang menghambat, menstimulasi serta jalur turunan yang diperantara oleh NFkB itu sendiri. Tanpa stimulasi, dimer protein NFkB predominan berada di sitoplasma. Dimer tersebut berinteraksi dengan *inhibitor* NFkB (I κ B) sehingga bersifat inaktif.⁸ Berbagai stimuli, termasuk radiasi dan radikal bebas dapat menyebabkan degradasi I κ B dan translokasi NFkB ke dalam nukleus. Translokasi

NFkB menyebabkan aktivasi beberapa gen yang terlibat dalam supresi kematian sel melalui jalur mitokondria (intrinsik) maupun reseptor kematian (ekstrinsik). NFkB menginduksi ekspresi *inhibitors of apoptosis* (IAPs) dan beberapa anggota famili anti-apoptosis Bcl-2. NFkB juga melakukan interferensi terhadap aktivitas transkripsional p53 melalui peningkatan gen antiapoptosis dan penekanan p53 sehingga menghambat proses apoptosis yang diinduksi oleh p53.^{8,11-17}

Aktifitas NFkB pada sel kanker serviks sebelum radiasi dipengaruhi oleh jumlah ikatan NFkB dengan IkB, yang membatasi aktivitas NFkB. Karena penelitian ini masih terbatas dalam menilai ekspresi mRNA NFkB, maka belum didapatkan tingkat aktivitas protein NFkB intraseluler. Informasi mengenai tingkat ekspresi mRNA pada penelitian ini menunjukkan tingkat aktivitas sel dalam mengolah stimulasi pada DNA untuk menerjemahkan informasi genetik satu tahap sebelum aktivitas produksi protein NFkB dimulai oleh sel kanker serviks. Meskipun demikian, penelitian ini belum dapat memberikan informasi ikatan yang terbentuk antara NFkB intrasitoplasma dengan IkB dan rasio jumlah protein NFkB yang mengalami translokasi ke dalam nukleus dengan protein yang masih terikat dengan IkB.

Perubahan ekspresi NFkB mid-radiasi dari pra-radiasi dapat dipengaruhi oleh jumlah sel yang memproduksi NFkB dan reaksi sel kanker terhadap radiasi. Jumlah sel kanker yang mengalami kematian selama proses radiasi juga mempengaruhi jumlah sel yang dapat memproduksi dan mengaktivasi NFkB mid-radiasi. Sel kanker yang belum mati karena radiasi, diperkirakan masih mendapat rangsangan untuk memproduksi biomarker antiapoptosis, termasuk NFkB.

Radiasi yang diberikan pada sel kanker juga berperan dalam menginduksi aktivasi NFkB dengan melepaskan ikatan IkB dengan NFkB dalam sitoplasma.¹⁸ NFkB yang diekspresikan pada mid-radiasi diduga memengaruhi proses apoptosis yang mungkin terjadi selama sisa waktu terapi. Peningkatan ekspresi NFkB mid-radiasi diperkirakan akan meningkatkan jumlah sel yang berhasil lolos dari proses apoptosis sehingga respons radiasi akan lebih buruk. Uji statistik menunjukkan hubungan bermakna antara perubahan ekspresi NFkB terhadap respons

terapi ($p=0,035$) dengan RR 0,33. Hal tersebut menunjukkan bahwa penurunan ekspresi relatif NFkB bersifat protektif terhadap respons radiasi negatif. Walaupun demikian peran NFkB dalam apoptosis sel kanker pascaradiasi juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lain dalam jalur apoptosis.

Seperti yang dijelaskan sebelumnya, tingkat aktivasi NFkB sel juga dipengaruhi oleh faktor lain yang menghambat, menstimulasi serta jalur turunan yang diperantara oleh NFkB itu sendiri. Terdapatnya berbagai jenis protein yang dihasilkan oleh gen NFkB juga dapat menyebabkan perbedaan jumlah informasi genetik pada mRNA dibandingkan jumlah protein yang dihasilkan pada aktivasi gen NFkB. Selain itu, untuk melakukan aktivitas, NFkB harus dapat melepaskan ikatan dengan protein IkB. Analisis mengenai tingkat ikatan IkB dan NFkB dapat meningkatkan akurasi dalam menilai peran NFkB dalam proses apoptosis sel pasca-radiasi.

Penilaian ekspresi protein yang dihasilkan oleh gen NFkB juga dapat meningkatkan akurasi perhitungan tingkat aktivitas NFkB dalam sel. Pada perjalanan sel menuju proses apoptosis juga dipengaruhi biomarker lain yang terlibat dalam jalur apoptosis yang dipengaruhi oleh peran NFkB. Keterlibatan berbagai biomarker dalam mekanisme anti-apoptosis NFkB juga merupakan faktor yang patut dipertimbangkan dalam meneliti peran NFkB dalam proses apoptosis pasca radiasi.

Kesimpulan

NFkB sebagai faktor transkripsi yang berperan dalam jalur apoptosis berperan dalam mempengaruhi respons radiasi kanker serviks stadium lokal lanjut. Keterbatasan penelitian ini adalah belum dapat menyingkirkan kemungkinan peran protein maupun biomarker lain dalam jalur apoptosis atau perbedaan tingkat aktivitas NFkB antara mRNA dan protein NFkB. Keterlibatan berbagai biomarker tersebut sebaiknya dinilai dengan melakukan penelitian terhadap aktivitas berbagai biomarker terkait NFkB bersamaan penilaian ekspresi NFkB. Penilaian aktivitas protein NFkB bersamaan dengan penilaian aktivitas translasi informasi genetik NFkB seperti protein dan miRNA dapat memberikan informasi dan pemahaman yang lebih baik mengenai peran NFkB intraseluler dan aktivitasnya dalam apoptosis.

Daftar Pustaka

1. Van der Zee J, Gonzalez DG, van Rhoon GC, van Dijk JDP, van Putten VLJ, Hart AAM. Comparison of radiotherapy alone with radiotherapy plus hyperthermia in locally advanced pelvic tumors: a prospective, randomized, multicentre trial. *The Lancet*. 2000;355:1119-25.
2. Nagy V, Coza O, Ordeanu C, Traila A, Rancea A, Todor N, et al. Radiotherapy versus concurrent 5-day cisplatin and radiotherapy in locally advanced cervical carcinoma: long-term results of a phase III randomized trial. *Strahlenther Onkol*. 2009;185:177-83.
3. FIGO. Annual report on the results of treatment in gynaecological cancer. *J Epidemiol Statist*. 1998;3:5-34.
4. Mayr NA, Taoka T, Yuh WT, Denning LM, Zhen WK, Paulino AC, et al. Method and timing of tumor volume measurement for outcome prediction in cervical cancer using magnetic resonance imaging. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002;52:14-22.
5. Nam H, Park W, Huh SJ, Bae DS, Kim BG, Lee JH, et al. The prognostic significance of tumor volume regression during radiotherapy and concurrent chemoradiotherapy for cervical cancer using MRI. *Gynecol Oncol*. 2007;107:320-5.
6. Dewey WC, Ling CC, Meyn RE. Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy. *Int J radiat Oncol Biol Phys*. 1995;33:781.
7. Hellman S, Weichselbaum RR. Radiation oncology and the new biology. *Cancer J Sci Am*. 1995;1:174.
8. Dolcet X, Llobet D, Pallares J, Matias-Guiu X.-G. NF- κ B in Development and progression of human cancer. *Virchows Arch*. 2005;446:475-82.
9. Takebayashi T, Higashi H, Sudo H, Ozawa H, Suzuki E, Shirado O, et al. NF- κ B-dependent induction of cyclin D1 by retinoblastoma protein (pRB) family proteins and tumor-derived pRB mutants. *J Biol Chem*. 2003;278:14897-905.
10. Magne N, Toillon RA, Bottero V, Didelot C, van-Houtte P, Gerard JP, et al. NF- κ B modulation and ionizing radiation: mechanisms and future directions for cancer treatment. *Cancer Letters*. 2006(231):156-68.
11. Li J, Jia H, Xie L, Wang X, Wang X, He H, et al. Association of constitutive nuclear factor-kappaB activation with aggressive aspects and poor prognosis in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2009(19):1421-6.
12. BioRad Laboratories. Real-time PCR [Applications Guide], 2016.
13. Silbernagl S, Despopoulos A. Color atlas of physiology. New york: Thieme; 2009.
14. Cell Signalling Technology. Signalling Pathways. 2007
15. Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF κ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *The J.Clin. Invest*. 2001(107):135-42.
16. Oeckinghaus A, Hayden MS, Ghosh S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways. *Nature Immunology*. 2011(12):695-708.
17. Wang S, Liu Z, Wang L, Zhang X. NF- κ B Signalling pathway, inflammation and colorectal cancer. *Cell. Mol. Immunol*. 2009(6)5:327-34
18. Sliva D. Signaling pathways responsible for cancer cell invasion as targets for cancer therapy. *Curr. Cancer Drug Targets*. 2004(4):327-36