

Ekspresi p53 Mutan dan caspase 3 sebagai Faktor Prediksi terhadap Operabilitas Kanker Serviks IIB setelah Mendapat Kemoterapi Neoajuan

TEGUH PRAKOSA,¹ BRAHMANA ASKANDAR², DYAH FAUZIAH³

¹Divisi Onkologi Ginekologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta

²Divisi Onkologi Ginekologi, Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

Diterima 8 Maret 2013; Direview 22 Maret 2013; Disetujui 10 Mei 2013

ABSTRACT

Purpose: to identify caspase 3 and p53 mutant expression in predicting operability response (pre operative) in patients with IIB cervical cancer who obtain paclitaxel-platinum neoadjuvant chemotherapy.

Methods: caspase 3 and p53 mutant expressions were examined by immunohistochemical staining in 40 tissue biopsy samples of patient with IIB cervical cancer who meet inclusion criteria and having treatment in dr. Soetomo Hospital, Department of Obstetric and Gynecology, Faculty of Medicine, Airlangga University started from December 2006 to July 2011. Inclusion criteria included patient with IIB cervical cancer who received paclitaxel-platinum (cisplatin 75 mg/m² or carboplatin AUC 5 – paclitaxel 175 mg/m²) neo-adjuvant chemotherapy regiments of three consecutive serials of three weekly, and their operability have been evaluated post neoadjuvant chemotherapy performed before operation, 3 to 4 weeks after last chemotherapy. This research was analytic study with case control study.

Result: relationship between p53 mutant and caspase 3 expression with paclitaxel-platinum neoadjuvant post chemotherapy operability were analyzed by simple logistic regression test. Of the research 22 (55%) IIB cervical cancer patients who received neoadjuvant chemotherapy provided inoperable response and 18 (45%) patients provided operable response. Highest p53 mutant expression showed negative expression result by score range of 0 – 1, there are 33 (82.5%) patients. Positive expression was obtained on 7 (17.5%) patients, and no significant difference was found ($p = 0.48$; OR: 0,55 (CI 95%:0,11-2,87)). Number of positive and negative caspase-3 expression showed similar value both in inoperable and operable outputs of 13 (72.2%) and 11 (50.0%) respectively with $p=0.158$; OR:2.60 (CI 95%: 0.69-9.81).

Conclusion: caspase 3 and p53 mutant expression could not predict operability response in IIB cervical cancer patients who received Paclitaxel-Platinum neoadjuvant chemotherapy.

Keywords: Stage IIB cervical cancer, paclitaxel-platinum neoadjuvant chemotherapy, post neoadjuvant chemotherapy operability

ABSTRAK

Tujuan: untuk mengetahui ekspresi caspase 3 dan p53 mutan dalam memprediksi respons operabilitas (pra-operatif) pada penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuan *paclitaxel-platinum*.

Metode: ekspresi caspase 3 dan p53 mutan diperiksa dengan pengecatan immunohistokimia pada 40 potongan biopsi jaringan pasien kanker serviks IIB yang memenuhi kriteria inklusi, yang melakukan pengobatan di RSUD dr. Soetomo, Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya mulai bulan Desember 2006 hingga Juli 2011. Kriteria inklusi meliputi penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan rejimen kemoterapi neoajuan *paclitaxel-platinum* (cisplatin 75 mg/m² atau carboplatin AUC 5 – *paclitaxel* 175 mg/m²) sebanyak tiga seri berturut-turut 3 mingguan dan telah dilakukan evaluasi operabilitasnya pasca-kemoterapi neoajuan yang dilakukan sebelum operasi, 3 minggu sampai 4 minggu setelah kemoterapi yang terakhir. Penelitian ini merupakan studi analitik dengan studi kasus kontrol.

Hasil: hubungan antara ekspresi p53 mutan dan caspase 3 dengan operabilitas post kemoterapi neoajuan *paclitaxel-*

KORESPONDENSI:

Dr. Teguh Prakosa, SPOG
Bagian Obgin RSUD
Dr. Moewardi
Jl. Kol. Sutarto 132
Surakarta
Email:
teguhprakosa_spog@
yahoo.com

platinum dianalisis dengan uji regresi logistik sederhana. Dari penelitian ini didapatkan sejumlah 22 (55%) pasien kanker serviks IIB yang mendapat kemoterapi neoajuvan memberikan respons *inoperable* dan 18 (45%) pasien memberikan respons operabel. Ekspresi p53 mutan terbanyak menunjukkan hasil ekspresi negatif, dengan rentang skor 0-1, yaitu sebanyak 33 (82,5%) penderita. Ekspresi positif didapatkan pada 7 (17,5 %) penderita, dan tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p=0,48$; OR: 0,55 (CI 95%:0,11-2,87)). Jumlah ekspresi caspase 3 yang positif dan negatif menunjukkan jumlah yang sama besarnya baik pada luaran inoperabel maupun operabel, yaitu masing-masing 13 (72,2%) dan 11 (50,0%); dengan $p=0,158$, OR:2,60(CI 95%:0,69-9,81).

Kesimpulan: ekspresi caspase 3 dan p53 mutan tidak dapat memprediksi respons operabilitas pada pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvan *paclitaxel-platinum*.

Kata kunci: kanker serviks stadium IIB, kemoterapi neoajuvan *paclitaxel-platinum*, operabilitas pascakemoterapi neoajuvan

PENDAHULUAN

Kanker serviks adalah penyakit keganasan pada serviks. Di seluruh dunia kanker serviks ini adalah nomor 2 tersering pada wanita. Hingga saat ini kanker serviks merupakan penyebab kematian terbanyak akibat kanker di negara berkembang, termasuk Indonesia. Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2005 terdapat lebih dari 500.000 kasus kanker serviks baru dan lebih dari 90% diantaranya ditemukan di negara berkembang.^{1,2}

Standar terapi kanker serviks stadium IIB menurut panduan *the International Federation of Gynecology and Obstetrics* (FIGO) 2008 adalah radiasi yang diberikan sebagai kombinasi radiasi eksternal dan intra kaviter brakhi terapi dengan kemoterapi secara konkuren. Meskipun demikian, ada berbagai penelitian yang menggunakan neoajuvan kemoterapi sebagai terapi pada kasus kanker serviks stadium IIB. Bahkan, di beberapa negara ada yang melakukan tindakan radikal histerektomi pada pasien kanker serviks stadium IIB.^{3,4,5}

Saat ini belum ada faktor prediksi untuk mengetahui respons tidaknya kemoterapi pada kanker serviks, khususnya dalam tingkatan biomolekuler. Pada umumnya, cara kerja kemoterapi dalam melawan sel kanker adalah melalui mekanisme apoptosis. Di antara gen atau protein yang berperan pada mekanisme tersebut adalah p53 dan caspase 3.^{6,7}

p53 mutan diduga berperan dalam mekanisme resistansi terhadap kemoterapi. Ini dibuktikan pada penelitian Saito dkk., yang melaporkan bahwa

ekspresi berlebihan (*overexpression*) p53 mutan banyak didapatkan pada penderita kanker serviks yang tidak respons kemoterapi.⁸

Kehilangan ekspresi caspase 3 diyakini akan berperan dalam mekanisme resistansi kemoterapi, sesuai dengan penelitian Devarajan dkk., yang melaporkan bahwa pada kanker payudara kehilangan ekspresi caspase 3 menyebabkan resistan kemoterapi.⁹

p53 normal (*wild type*) mampu menekan transformasi sel yang disebabkan oleh onkogen dalam kultur dan dapat menghambat potensi tumorigenik sel pada binatang percobaan sehingga p53 kemudian digolongkan sebagai gen supresor. Gen p53 pada manusia terletak pada lengan pendek kromosom 17, terentang sepanjang 20 kb DNA, terdiri atas 11 exon, dan diekspresikan pada hampir semua jaringan tubuh. Bila oleh salah satu hal terjadi kerusakan DNA, ekspresi p53 dalam sel meningkat yang menyebabkan peningkatan transkripsi p21 serta hambatan pada kompleks cyclin-Cdk, telah terungkap juga bahwa p53 menghambat ekspresi atau fungsi gen *c-myc* dan *ras*, karena *checkpoints* di mana p53 bekerja adalah pada fase G1 dan G2/M. Hal itu menyebabkan pertumbuhan sel terhenti pada fase G1 untuk member kesempatan pada *DNA repair genes* untuk memperbaiki DNA sebelum siklus berlanjut ke fase S untuk sintesis DNA, atau pada fase G2/M sebelum terjadi mitosis.¹⁰

Protein caspase 3 adalah anggota dari keluarga caspase. Aktivasi dari sekuensial caspase berperan penting pada fase eksekusi dari apoptosis sel. Caspase terdapat sebagai pro-enzim in aktif yang mengalami proses proteolitik pada residu aspartic yang disimpan menghasilkan dua sub unit, besar dan kecil, yang mengalami dimerisasi untuk membentuk enzim aktif. Protein ini memecah dan mengaktifkan caspase 6 dan 7. Protein itu sendiri diproses dan diaktifkan oleh caspase 8, 9 dan 10.¹⁰

Caspase 3 diaktifkan di dalam sel jalur ekstrinsik (*death ligan*) dan intrinsik (mitokondia). Adanya zymogen dari caspase 3 diperlukan karena jika tidak diatur (diregulasi), aktivitas caspase akan membunuh semua sel.¹¹

Sebagai caspase eksekutor, zymogen caspase 3 tidak mempunyai aktivitas sampai dipecah oleh caspase inisiator setelah ada sinyal apoptotik. Salah satu sinyal tersebut adalah terdapatnya granzym B yang dapat mengaktifkan caspase inisiator kepada sel yang menjadi target apoptosis oleh sel T *killer* (pembunuh). Aktivasi ekstrinsik ini akan memicu rangkaian caspase dari jalur apoptotik di mana caspase 3 berperan penting di dalamnya.¹⁰

MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan analitik observasional pada penderita kanker serviks IIB yang mendapat rejimen kemoterapi neoajuvan *Paclitaxel-Platinum*. Bentuk penelitian adalah *case control study*.

Pada penelitian ini, sampel jaringan serviks diperoleh dari 40 penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvan *Paclitaxel* yang memenuhi kriteria inklusi. Seluruh penderita didiagnosis dan mendapatkan kemoterapi neoajuvan antara Desember 2006 hingga Juli 2011 di RSUD Soetomo Surabaya. Kriteria inklusi: penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan rejimen kemoterapi neoajuvan paclitaxel-platinum tiga seri berturut-turut 3 mingguan dan telah dilakukan evaluasi operabilitasnya pasca-kemoterapi neoajuvan yang dilakukan sebelum operasi serta 3 minggu sampai 4 minggu setelah kemoterapi yang terakhir.

Pewarnaan imunohistokimia dilakukan dengan teknik paraffin blok fiksasi neutral buffer formalin dan menggunakan metode *Labelled Streptavidin Biotin II (LSAB II)*. Slide dicelupkan dalam larutan Xilol 1, Xilol 2, dan Xilol 3 masing-masing selama 5 menit, dilanjutkan dengan mencelupkan dalam larutan alkohol secara bertahap dengan konsentrasi menurun, berturut-turut alkohol 99 % hingga 70 %, masing-masing selama 2 menit. Lalu preparat dimasukkan dalam H₂O₂ 0,3% dalam Dakocytomation (Peroxidase blocking reagen S200/30-2) pada suhu kamar selama 5 menit. Kemudian dibilas dengan aquadest selama 5 menit. TRS dihangatkan pada microwave selama 2 menit, kemudian *low microwave* selama 20 menit, lalu cuci dengan aquadest selama 5 menit. Cuci dengan TRIS Buffer/TWEEN 20 selama 5 menit dan diisap menggunakan tisu di sekitar area sayatan. Jaringan dibuat *marking pen immunologic* di sekeliling sayatan jaringan sesuai kebutuhan. Kemudian ditetaskan *Protein Block Serum Free.X. 0909*, pada suhu kamar selama 5 menit dan diisap dengan menggunakan tisu sekitar area *marking pen immunologic*. Kemudian ditetaskan antibodi primer dalam area *marking pen immunologic*, dilanjutkan dengan inkubasi pada *magnetic Immunostaining* dalam keadaan tertutup pada suhu kamar selama 1 jam, kemudian dilanjutkan pada suhu 4°C. Kemudian dicuci dengan TRIS Buffer/tween. 20 dengan *shaker* selama 5 menit dan diisap menggunakan tisu di sekitar area *marking pen immunologic* meneteskan antibodi sekunder (Universal LSAB), dilanjutkan dengan meneteskan HRP (*streptavidin peroxidase conjugate*), lalu DAB dalam area *marking pen immunologic* pada suhu kamar selama 5-10 menit.

Tahap VI (*counter stain*). Memasukkan preparat /slide imunohistokimia ke dalam *meyer's haematoxyllin* pada suhu kamar selama 2 menit. Selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir selama 5 menit. Proses dilanjutkan dengan mencelupkan preparat dalam larutan alkohol secara bertahap dengan konsentrasi meningkat, selanjutnya slide dicelupkan dalam larutan Xilol dan terakhir dilakukan *mounting medium* dengan EZ-Mount.

Derajat ekspresi pewarnaan caspase 3 dan p53 mutan dilihat dari persentase kelompok sel yang terwarna dan intensitas pewarnaan. Persentase didapatkan dari hasil penjumlahan sel yang positif pada seluruh lapangan pandang sediaan tumor yang diperiksa dengan memakai mikroskop cahaya. Saat ini tidak terdapat sistem *scoring* yang baku, namun berdasarkan berbagai referensi, sistem *scoring* yang lazim digunakan adalah: Skor 0 bila tidak ada sel yang terwarnai atau tidak terdapat sel imunoreaktif; Skor 1 bila sel positif berjumlah <10%; Skor 2 bila sel positif antara 10-50%; dan skor 3 bila sel positif >50%. Hasil skoring selanjutnya diinterpretasi negatif (-) jika skor 0 atau 1, dan diinterpretasi positif (+) bila skor 2 atau 3.¹²

HASIL

Uji statistik untuk menganalisis hubungan antara ekspresi p53 mutan dan caspase 3 dengan operabilitas adalah uji regresi logistik sederhana. Uji statistik untuk menganalisis hubungan antara operabilitas dengan beberapa faktor klinikopatologik adalah uji regresi logistik sederhana, dengan metode *case control*.

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel 40 sediaan blok parafin jaringan biopsi serviks uteri dari pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvan dan melalui pemeriksaan operabilitas pra-operasi oleh tim Onkologi Poli Onkologi Ginekologi Satu Atap (POSA) Bagian Ginekologi Onkologi dan Ruang Kandungan RSUD Soetomo, Surabaya, dari Desember 2006 hingga Juli 2011. Penelitian ini dilakukan dengan metode *case-control*. Pasien yang operabel setelah mendapat kemoterapi neoajuvan sebagai kelompok kasus, sedangkan pasien yang inoperabel setelah mendapat kemoterapi neoajuvan sebagai kelompok kontrol. Pemeriksaan dilakukan di bagian Patologi Anatomi untuk menilai level ekspresi caspase 3 dan p53 dengan menggunakan metode imunohistokimia pada April-Juli 2012.

Tabel di bawah ini menyajikan profil klinikopatologik penderita. Karakteristik yang dievaluasi adalah umur, paritas, BMI, dan jenis histopatologi kanker serviks.

Tabel 1: Karakteristik data subjek penelitian

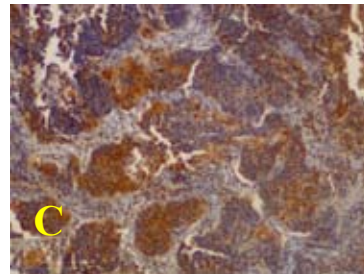
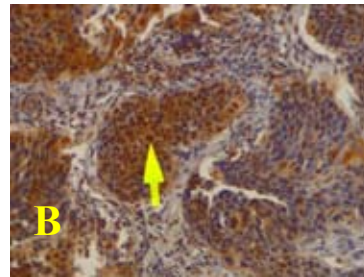
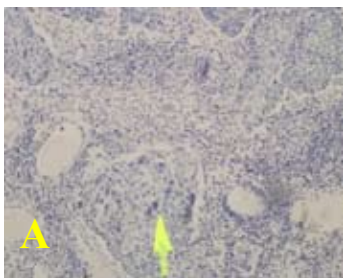
Variabel	N	Minimum	Maksimum	Rerata	SD
Umur	40	32,00	62,00	47,75	6,75
Paritas	40	1,00	6,00	3,22	1,47
Berat badan	40	33,00	75,50	54,23	10,48
Tinggi badan	40	141	161	152,74	5,25
BMI	40	14,52	35,67	23,26	4,52

Dari data di atas didapatkan bahwa rerata variabel umur adalah berusia $47,75 \pm 6,75$ tahun dengan paritas rerata $3,22 \pm 1,47$ kali; berat badan rerata $54,23 \pm 10,47$ kg; tinggi badan rerata $152,74 \pm 5,25$ cm; BMI rerata $23,26 \pm 4,52$.

Tabel 2: Karakteristik klinik penderita kanker serviks berdasarkan kategori stadium, jenis histopatologi, dan derajat diferensiasi kanker serviks

Karakteristik Klinik	Kanker Serviks		Total
	Inoperabel	Operabel	
Umur (tahun)			
30-39	1	3	4 (10%)
40-49	11	10	21 (52,5%)
> 50	10	5	15 (37,5%)
Paritas			
< 1 anak	1	2	3 (7,5%)
2-4 anak	17	11	28 (70%)
>5 anak	4	5	9 (22,5%)
BMI			
Kurus	4	1	5 (12,5%)
Normal	10	11	21 (52,2%)
Overweight	5	6	11(27,5%)
Obesitas	3	0	3 (7,5%)
Jenis histopatologi			
Adenokarsinoma	6	4	10 (25%)
Squamous	13	13	26 (65%)
Adenosquamous	3	1	4 (10%)

Pada tabel di atas, golongan umur ibu terbanyak antara 40-49 tahun, yaitu 21 kasus (52,5%); paritas terbanyak pada anak 2-4 sebanyak 28 kasus (70%); BMI terbanyak adalah BMI kriteria normal, yaitu 21 kasus (52,2%); dan sebaran jenis histopatologi terbanyak adalah jenis squamous, yaitu 26 kasus (65%).



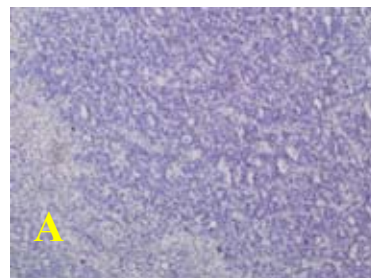
Gambar 1: Gambaran hasil pengecatan imunohistokimia p53 mutan dengan ekspresi negatif (A), pada pembesaran 100x (B), pada pembesaran 200x (C).

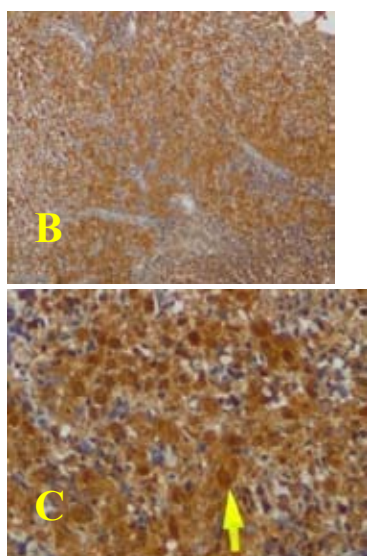
Tabel 2: Hubungan ekspresi p53 mutan dengan operabilitas

Ekspresi p-53 mutan	Outcome		Total, n=40	Harga p	OR	CI95%
	Operabel, n=18	Inoperabel, n=22				
Negatif	14 (77,8)	19 (86,4)	33 (82,5)	0,481	0,55	0,11-2,87
Positif	4 (22,2)	3 (13,6)	7 (17,5)			

Eksprei p53 mutan paling banyak menunjukkan hasil ekspresi negatif, dengan rentang skor 0-1, sebanyak 33 (82,5%) penderita. Ekspresi positif didapatkan pada 7 (17,5 %) penderita. Dari ekspresi p53 mutan yang negatif, didapatkan terbanyak pada pasien dengan respons inoperabel, yaitu 19 (86,4%); diikuti 14 (77,8%) pasien yang operabel. Perbedaan antara ekspresi p53 mutan pada kasus inoperabel dan operabel tidak signifikan ($p=0,481$).

Berlawanan dengan harapan kami di mana secara teoritis bila ekspresi p53 mutan positif maka akan memberi luaran inoperabele. Pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan antara ekspresi p53 mutan yang positif dengan operabilitas yang rendah pada pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvan *Paclitaxel-Platinum*.





Gambar 2: Gambaran hasil pengecatan imunohistokimia caspase 3 dengan ekspresi negatif (A), pada pembesaran 100x (B), pada pembesaran 200x (C).

Tabel 3: Hubungan ekspresi caspase 3 dengan operabilitas

Ekspresi caspase 3	Outcome		Total, n=40	Harga p	OR	CI95%
	Operabel, n=18	Inoperabel, n=22				
Negatif	13 (72,2)	11 (50,0)	24 (60,0)	0,158	2,60	0,69-9,81
Positif	5 (27,8)	11 (50,0)	16 (40,0)			

Ekspresi caspase 3 paling banyak menunjukkan hasil ekspresi positif, yaitu 24 (60,0%) penderita. Ekspresi positif negatif didapatkan pada 16 (40,0%) penderita. Dari ekspresi caspase 3 yang positif, didapatkan terbanyak pada pasien dengan respons operabel, yaitu 13 (72,2%), diikuti 11 (50,0%) pasien yang inoperabel. Perbedaan antara ekspresi caspase 3 pada kasus operabel dan inoperabel tidak signifikan ($p=0,158$).

Pada penelitian ini, tidak didapatkan hubungan antara ekspresi caspase 3 yang positif dengan operabilitas yang rendah pada pasien kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuan *Paclitaxel-Platinum*.

DISKUSI

Kemoterapi neoajuan pada penderita kanker serviks IIB merupakan suatu manajemen alternatif selain terapi radiasi atau kemoterapi secara simultan, bahkan radikal histerektomi.¹³

Kemoterapi itu sendiri bekerja sebagian besar melalui mekanisme apoptosis yang melibatkan banyak gen dan protein. Gen dan protein yang paling

berperan adalah p53 dan caspase-3. Secara teori, mekanisme apoptosis akan memerlukan adanya p53 dan caspase 3 khususnya pada jalur intrinsik.¹⁴

Karena p53 secara teknis tidak bisa diperiksa secara imunohistokimia maka p53 mutan yang diperiksa. Dengan demikian, adanya p53 mutan akan menghambat fungsi apoptosis.¹⁵

Pada penelitian ini, kami mengambil sampel sebanyak 40 subyek, yaitu penderita kanker serviks IIB yang telah mendapatkan kemoterapi neoajuan yang memenuhi kriteria, 18 kasus (45%) yang operabel dan 22 kasus (55%) inoperabel, masing-masing merupakan kelompok kasus dan kelompok kontrol.

Pada penelitian ini kami mencoba untuk membuktikan peran p53 mutan dan caspase -3 pada penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuan untuk memprediksi respons terapi, dalam hal ini operabilitasnya. Pasien kanker serviks IIB yang diberi kemoterapi neoajuan kemudian parametrium bisa bebas dari infiltrasi tumor dianggap operabel dan bisa dilakukan operasi radikal histerektomi.

Diharapkan dengan tidak adanya ekspresi p53 mutan, yaitu dengan adanya ekspresi caspase 3, akan bisa memprediksi tingginya tingkat operabilitas.

Ekspresi p53 mutan paling banyak menunjukkan hasil ekspresi negatif, dengan rentang skor 0-1, yaitu sebanyak 33 (82,5%) penderita. Ekspresi positif didapatkan pada 7 kasus (17,5%). Dari ekspresi p53 mutan yang negatif, didapatkan terbanyak pada pasien dengan respons inoperabel sebanyak 19 kasus (86,4%), sedangkan yang operabel sebanyak 14 kasus (77,8%). Hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan harga $p=481$ ($p>0,05$) yang berarti p53 tidak berpengaruh terhadap operabilitas.

Jika ekspresi p53 mutan negatif maka kemungkinan besar operabilitas akan semakin besar, tetapi pada penelitian ini hal tersebut tidak terjadi. Kenyataan menunjukkan bahwa ekspresi p53 mutan pada kelompok yang operabel dan yang inoperabel tidak ada perbedaan. Dengan demikian, p53 mutan tidak dapat dijadikan faktor prediksi pada penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuan.

Hal ini mungkin disebabkan oleh banyak hal, yaitu: (1) Kemungkinan memang ekspresi p53 mutan negatif tetap, tetapi fungsi p53 *wildtype* terganggu karena onkogen virus E6 yang menginaktifkan p53 *wildtype* sehingga meskipun tidak ada ekspresi p53 mutan tetap *operabilitas* rendah.^{15,16} (2) Kemungkinan adanya infeksi virus HPV-16 yang memicu onko

protein virus E7 menginduksi *B-cell lymphoma-extra large* (Bcl-XL) yang merupakan anti-apoptosis.¹⁷ (3) Kemungkinan adanya mekanisme resistansi obat, dengan meningkatnya kemampuan *efflux pump*, penurunan *uptake*, dan peningkatan mekanisme repair DNA.¹⁸ (4) Karena p53 mutan hanya terekspresi sedikit pada kanker serviks ± 11%.^{19,20}

Berbeda dengan penelitian Saito dkk., yang meneliti ekspresi p53 mutan pada 29 pasien kanker serviks stadium I B – IV B (*Locally advance stage*) dengan pemberian kemoterapi neoajuvan cisplatin, aclacinomycin-A, dan mitomycin-C yang diikuti dengan operasi radikal histerektomi atau radiasi. Penelitian ini melaporkan bahwa kebanyakan pasien yang non-respons terapi neoajuvan terdapat over ekspresi p53 mutan.⁸

Ekspresi caspase3 paling banyak menunjukkan hasil ekspresi positif, dengan rentang skor 2-3, yaitu sebanyak 24 (60%) penderita. Ekspresi negatif didapatkan sebanyak 16 kasus (40%). Dari ekspresi caspase-3 yang positif didapatkan terbanyak pada pasien dengan respons operabel sebanyak 13 kasus (72,2%), sedangkan yang inoperabel sebanyak 11 kasus (50%). Dengan hasil uji regresi logistik sederhana didapatkan harga $p = 0,158$ ($p > 0,05$), yang berarti caspase-3 tidak berpengaruh terhadap operabilitas.

Semua jalur apoptosis, baik yang intrinsik maupun yang ekstrinsik, melalui caspase 3 yang merupakan caspase eksekutor. Oleh karena itu, keberadaan caspase 3 mutlak diperlukan untuk terjadinya apoptosis.

Jadi, bila ekspresi caspase 3 positif maka kemungkinan besar operabilitas akan semakin besar. Tetapi, pada penelitian ini hal tersebut tidak terjadi. Pada kenyataannya, ekspresi caspase 3 pada kelompok yang operabel dan yang inoperabel tidak ada perbedaan yang bermakna. Dengan demikian, ekspresi caspase 3 tidak bisa dijadikan faktor prediksi operabilitas yang tinggi pada penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvan.

Hal ini mungkin terjadi karena: (1) Tidak semua penderita kanker serviks terdeteksi caspase 3 dengan pemeriksaan imunohistokimia dan tidak semua ekspresi caspase 3 positif mempunyai aktivitas imunologi. (2) Adanya mekanisme resistensi obat. (3) Kemungkinan karena adanya mekanisme apoptosis yang tidak tergantung pada caspase, yaitu melewati *apoptosis inducing factor* (AIF).^{15, 21, 22}

Berbeda dengan Devarajan dkk., penelitian pada 2002 terhadap penderita kanker payudara menyimpulkan bahwa kehilangan ekspresi caspase 3 menyebabkan resisten kemoterapi.⁹

Pada mekanisme apoptosis yang melalui jalur intrinsik, akan membutuhkan protein dari p53 dan caspase 3. Bila salah satu dari protein tersebut inaktif atau tidak berfungsi, apoptosis tidak berjalan dengan baik.

Secara teori, bila ekspresi p53 mutan negatif dan ekspresi caspase 3 positif maka kemungkinan besar operabilitas semakin tinggi. Tetapi, pada penelitian ini hal tersebut tidak terjadi. Pada kenyataannya, yang ekspresi p53 mutan negatif dan ekspresi caspase 3 positif. Bila dibandingkan, perbedaan kelompok yang operabel dan inoperabel perbedaannya tidak bermakna, sehingga ekspresi p53 mutan negatif dan ekspresi caspase 3 positif tidak bisa dijadikan faktor prediksi operabilitas yang tinggi pada penderita kanker serviks IIB yang mendapatkan kemoterapi neoajuvan.

Hal tersebut mungkin karena hal-hal yang terjadi pada p53 mutan dan caspase 3 seperti yang diterangkan di atas.

Pada penelitian ini, ekspresi kombinasi selain p53 mutan negatif dan ekspresi caspase 3 positif dibandingkan dengan yang tidak pada kelompok yang operabel dan inoperabel perbedaannya tidak bermakna secara statistik.

Pada penelitian ini, terdapat beberapa keterbatasan yang mungkin dapat dilakukan penelitian pada waktu/peneliti lain sehingga dapat menyempurnakan penelitian ini. Yaitu belum dilakukan pemeriksaan *Magnetic Resonance Imaging (MRI)* atau Ultrasonografi transvaginal untuk menilai ukuran tumor sebelum dan sesudah pemberian neoajuvan kemoterapi.

KESIMPULAN

Ekspresi p53 mutan dan caspase3 tidak bisa dijadikan faktor prediksi operabilitas pada kanker serviks stadium IIB setelah mendapatkan kemoterapi neoadjuvan Paclitaxel-Platinum.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bankes EP, *Cervical cancer research trends*, 2007
2. World Health Organization, *Comprehensive Cervical Cancer Control: a Guide to Essential Practice*, Switzerland: WHO, 2006 : 16-23
3. Barakat R.R, Markman M, Randall M.E, *Principles and practice of Gynecologic Oncology*, fifth ed., 2010
4. Benedet JL, Pecorelli S, Staging Classifications and Clinical Guidelines for Gynaecologic Cancers, *Int J of Gyn Obstet* 2000(70):207-312

5. Oren M, Regulation of the p53 Tumor Suppressor Protein, *J Biol Chem* 1999;274(51):36031-34
6. Rubin SC, *Chemotherapy of gynecologic cancer, society of Gynecologic Oncologists*, Lippicott Williams & Wilkins,2004, second edition
7. Jiang XH, Yu Wong BC, Yuen ST,et al, Arsenic trioxide induced apoptosis in human gastric cancer cells through up regulation of p53 and activation of caspase-3, *Int. J. Cancer* 2001;91: 173-179
8. Saito T, Takehara M, Tanaka R, Lee R, Horie M, Wataba K, et.al. Correlation between responsiveness of neoadjuvant chemotherapy and apoptosis-associated proteins for cervical adenocarcinoma, *Gynecologic Oncology* 2003;92:284-92
9. Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, et.all., Down-regulation of caspase 3 in breast cancer : a possible mechanism for chemoresistance, *Oncogene* 2002;21(57): 8843-51
10. Pecina-Slaus N. *Wnt signal transduction pathway and apoptosis: a review. Cancer Cell Internl* 2010;10: 22. Diunduh dari <http://www.carcerci.com/content/10/1/22>
11. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. "Caspases: pharmacological manipulation of cell death". *J. Clin. Invest.*, 2005;115(10): 2665-72.
12. Yamashita H, Nishio M, et.al. Coexistensi of HER2 Over-Expressing and p53 Protein accumulation ia a strong prognostic molecular marker in breast cancer, *Am J of Pathol* 2004;164(3):1031-38
13. Costa S, Terzano P, Santini D, et.al. Regulators of cell cycle, apoptosis, and proliferation as determinants of response to therapy and disease outcome, *Am J Clin Pathol* 2001;116:729-37
14. Kaufmann SH. *The Intrinsic Pathway of Apoptosis* in Apoptosis, Senescence and Cancer, Humana Press Totowa, New Jersey. 2007, P. 3-30
15. Expression of maspin, caspase-3 and COX-2 in Human Cervical Cancer and Influence of sinomenine and DDP on it, *Cancer Research Center*, 28 Nov 2011, www.rescancer.com/cancer.research/9746.html
16. Sultana H, Kigawa J, Kanamori Y, Itamochi H, et.all. Chemosensitivity and p53-Bax pathway-mediated apoptosis in patients with uterine cervical cancer, *Annals of Oncology* 2003;14: 214-19
17. Aungsumart S, Vaeeteewoottacham K . et al, Chemo-radio resistance in cervical cancer induced by HPV16 E7, *Science Asia* 2007;33: 5-11
18. Raguz S, Yague E. Resistance to chemotherapy : new treatments and novel insights into an old problem, *British Journal of Cancer* 2008;99: 387-91
19. Tommasino M, Accardi R, Caldeira S, et.al. The role of TP53 in cervical carcinogenesis, *Human Mutation* 2003;21: 307-12
20. Pinheiro NA, Villa L.L. Low frequency of p53 mutations in cervical carcinomas among Brazillian women, *Barz J Med Biol Res* 2001;34(6): 727-33
21. Gottesman M.M, Mechanisms of cancer drug resistance, *Annu Rev Med* 2002; 53: 615-27
22. Cande C, Cohen I, Daugas E, Ravagnan L, Larochette N, Zamzami N, Kroemer G., Apoptosis-inducing factor (AIF): a novel caspase-independent death effector released from mitochondria, *Biochimie* 2002; 84(2-3): 215-22