



KARSINOMA EPIDERMOID SERVIKS UTERI

Peran Aktifitas Proliferasi Terhadap Respon Radiasi Histologi

Diajukan pada Bagian Patologi Anatomi

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Sebagai syarat untuk menyelesaikan pendidikan dokter spesialis

Dalam bidang Patologi Anatomi

Oleh :

DIK PUSPASARI

BAGIAN PATOLOGI ANATOMI

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO

RSUP. Dr. KARIADI SEMARANG

2 0 0 2

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunianya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis dengan judul "KARSINOMA EPIDERMOID SERVIKS UTERI. Peran Aktifitas Proliferasi Terhadap Respon Radiasi Histologi." Tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Anatomi pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Untuk itu atas segala bantuan dan bimbingan selama mengikuti pendidikan ini, dengan rasa hormat dan segenap kerendahan hati saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. dr. Kasno, SpPA sebagai Ketua Bagian / SMF Patologi Anatomi FK. UNDIP.
2. Prof. Dr. dr. Sarjadi, SpPA atas kesabarannya membimbing penyusunan Tesis ini.
3. dr. Noor Yazid, SpPA sebagai Ketua Program Studi PPDS I Patologi Anatomi FK. UNDIP.
4. Prof.dr.Soebowo,SpPA;Prof.Dr.dr.Djahjono,SpPA,FIAC,serta para guru kami Staf Pengajar di Bagian Patologi Anatomi atas bimbingannya selama pendidikan.
5. dr. Darminto, M.Kes yang telah membantu menganalisis data.
6. Orang tua bapak Alm M Syah Bakri / Ibu Habibah dan mertua Bapak Rasmadi / Ibu Luwiyah, kakak dan adik yang penuh kasih sayang dan pengertian telah membantu dan memberi semangat selama pendidikan.
7. Suami tercinta dr. Inu Mulyantoro yang selalu memberikan dorongan dan membantu segala kesulitan yang saya hadapi, serta anak-anakku tercinta Laras dan Syahdi, yang dengan penuh pengertian dan pengorbanan selalu mendampingi saya dalam suka dan duka selama pendidikan.
8. Staf Bagian Catatan Medik RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah membantu dalam penyelesaian Tesis ini.
9. Sejawat residen, teknisi bagian Patologi Anatomi serta berbagai pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas kerja samanya yang baik selama ini.

Segala kritik dan saran yang disampaikan pada tulisan ini sangat kami harapkan. Kami menyadari bahwa Tesis ini masih jauh dari sempurna, karena kekurangan dan keterbatasan kami. Kami harap semoga tulisan yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi dunia kedokteran, khususnya bidang Patologi Anatomi.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmatNya kepada kita semua. AMIEN

Semarang, April 2002

Dik Puspasari

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : KARSINOMA EPIDERMOID SERVIKS UTERI.
Peran Aktifitas Proliferasi Terhadap Respon Radiasi
Histologi.
Ruang Lingkup : PATOLOGI ANATOMI
Nama Peneliti : Dik Puspasari
Pembimbing : Prof. Dr. dr. Sarjadi, SpPA

Semarang, April 2002

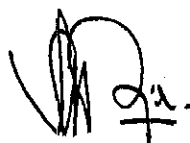
Peneliti,



Dik Puspasari
NIP 140 344 340

Disetujui oleh :

Pembimbing



Prof. Dr. dr. Sarjadi, SpPA
NIP 130 352 547

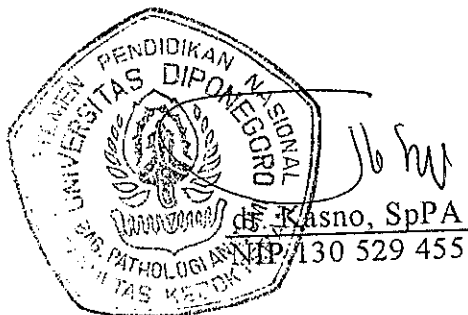
Penelitian ini dilakukan
di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi Semarang
sebagai syarat untuk menyelesaikan pendidikan
Dokter Spesialis Patologi Anatomi

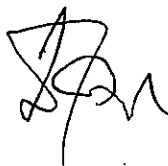
Hasil Penelitian ini merupakan milik :
Bagian/SMF Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi
Semarang

Telah diajukan dan disetujui
Semarang, Mei 2002

Ketua Bagian/SMF
Patologi Anatomi
FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi

Ketua Program Studi PPDS I
Patologi Anatomi
FK UNDIP




dr. Noor Yazid, SpPA
NIP 130 352 547

ABSTRACTS

EPIDERMOID CARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX

The role of Proliferation Activity to the Histological Radiation Response

Backgrounds. The result of radiation therapy for epidermoid carcinoma of the uterine cervix remains unsatisfactory. Among other factors, proliferation activity plays an important role to determine the success of radiation therapy .

Objectives. 1.To prove the proliferation activity of the epidermoid carcinoma of the uterine cervix plays an important role in determining the result of radiation therapy. 2. To study cells proliferation activity of the epidermoid carcinoma of the uterine cervix before radiation therapy both which has poor or good histological radiation response.

Material and Method. Case control study is done,66 samples biopsies of epidermoid carcinoma of the uterine cervix was collected from patient in Dr.Kariadi Hospital before radiation therapy during the year 2000 - 2001. Case study group consisted of 33 samples which have poor histological radiation response, while the rest (33 samples) as control groups which have good histological radiation response .The degree of proliferation activity before radiation therapy was examined using AgNOR staining method.. The mean value of AgNORs of each group were analized using t- test and chi square test.

Result. The profile patient differ unsignificantly between case study group and control group in term of age and degree of differentiation. The proliferation activity differs significantly between poor histological radiation response group with good histological radiation response group ($3,2567 \pm 0,652$ vs $4,5594 \pm 0,6954 \rightarrow P = 0,0001$). Cut off point (COP) of 4 is based on receiver of curve calculation. Odds ratio is 16,7.

Conclusion. It was found that the proliferation activity of the poor histological radiation response group significantly different compared with good histological radiation response. Number of total poor histological radiation response was higher among patient with low proliferation activity (AgNORs droplet < 4) than high proliferation activity (AgNORs droplet ≥ 4). The chance was 16,7 times greater.

Key words : Epidermoid carcinoma of the uterine cervix, proliferation activity, AgNOR, histological response to radiation.

ABSTRAK

KARSINOMA EPIDERMOID SERVIKS UTERI

Peran Aktivitas Proliferasi Terhadap Respon Radiasi Histologi

Latar Belakang. Keberhasilan terapi radiasi pada penderita karsinoma epidermoid serviks uteri masih kurang memuaskan, di mana salah satu faktor yang paling berperan dalam menentukan keberhasilan terapi radiasi adalah aktifitas proliferasi.

Tujuan. Membuktikan bahwa aktifitas proliferasi karsinoma epidermoid serviks uteri berperan terhadap hasil terapi radiasi dengan mengetahui perbedaan tingkat aktifitas proliferasi sel sebelum terapi pada kelompok respon radiasi histologi jelek dan kelompok respon radiasi histologi baik.

Bahan dan Cara. Dengan pendekatan *case control* ditentukan 66 sampel biopsi karsinoma epidermoid serviks uteri sebelum terapi yang dirawat di RSUP Dr. Kariadi pada tahun 2000 – 2001. Sebagai kelompok studi kasus adalah 33 sampel dengan hasil respon radiasi histologi jelek dan sebagai kelompok pembandingan adalah 33 sampel dengan hasil respon radiasi histologi baik. Masing-masing kelompok ditentukan tingkat aktifitas proliferasi sebelum terapi radiasi dengan menggunakan metode pewarnaan AgNORs. Rerata butir AgNORs pada masing-masing kelompok dibandingkan dengan uji statistik *t-test* dan *chi square test*.

Hasil. Karakteristik penderita berbeda secara tidak bermakna antara kelompok studi dan pembandingan dalam hal umur dan derajat diferensiasi. Aktifitas proliferasi berbeda secara bermakna antara kelompok respon radiasi histologi jelek dan kelompok respon radiasi histologi baik. ($3,2567 \pm 0,652$ vs $4,5594 \pm 0,6954 \rightarrow P = 0,0001$). Dengan menggunakan *receiver operator curve* didapatkan *cut of point* = 4 dan rasio *odds* = 16,7.

Kesimpulan. Terdapat perbedaan tingkat aktifitas proliferasi antara kelompok respon radiasi histologi jelek dan kelompok respon radiasi histologi baik, di mana aktifitas proliferasi pada kelompok respon radiasi histologi jelek lebih rendah daripada kelompok respon radiasi histologi baik. Di samping itu, aktifitas proliferasi rendah (*< cut of point*) mempunyai kemungkinan untuk menghasilkan respon radiasi histologi jelek 16,7 kali dibandingkan dengan aktifitas proliferasi tinggi. (*≥ cut of point*)

Kata kunci : Karsinoma epidermoid serviks uteri, aktifitas poliferasi, AgNOR, respon radiasi histologi.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar	v
Abstrak	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Permasalahan	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Karsinoma Epidermoid Serviks Uteri	5
2.1.1. Epidemiologi	5
2.1.2. Patogenesis	5
2.1.3. Perjalanan Penyakit dan Stadium	6
2.1.4. Gambaran Histopatologi	7
2.1.5. Prognosis	7
2.1.6. Pengelolaan	8
2.1.7. Respon Radiasi	9
2.2. Terapi Radiasi pada Keganasan	9
2.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hasil Respon Radiasi ...	11
2.4. Aktivitas Proliferasi	13

2.5. Nucleolar Organizer Regions (NORs) dan Teknik AgNOR	16
2.6. Kerangka Teori	18
2.7. Kerangka Konsep	19
BAB III HIPOTESIS	20
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1. Rancangan Penelitian	21
4.2. Sampel	21
4.2.1. Tempat dan Waktu Pengambilan Sampel	21
4.2.2. Syarat Pengambilan Sampel	21
4.2.3. Besar Sampel	21
4.3. Variabel Penelitian	22
4.4. Bahan dan Alat	22
4.5. Proses Penelitian	22
4.5.1. Pewarnaan AgNOR	23
4.5.2. Analisis Data	23
4.6. Definisi Operasional Variabel	24
4.7. Alur Penelitian	26
4.8. Etika Penelitian	27
BAB V HASIL PENELITIAN	
5.1. Karakteristik Penderita	28
5.1.1. Umur	28
5.1.2. Derajat Diferensiasi	28
5.2. Ekspresi AgNOR pada kelompok respon radiasi histologi ...	29
BAB VI PEMBAHASAN	
6.1. Karakteristik Penderita	32
6.1.1. Umur	32
6.1.2. Derajat Diferensiasi	32
6.2. Peran Aktifitas Proliferasi terhadap Respon Radiasi Histologi	32

BAB VII KESIMPULAN	37
--------------------------	----

BAB VIII SARAN	38
----------------------	----

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Umur penderita pada kelompok RRJ dan RRB	28
Tabel 2. Derajat diferensiasi pada kelompok RRJ dan RRB	29
Tabel 3. Jumlah butir AgNOR pada kelompok RRJ dan RRB ...	29
Tabel 4. Aktifitas proliferasi pada masing-masing kelompok respon radiasi histologi	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Sebaran penderita sesuai respon radiasi histologi dihubungkan dengan jumlah butir AgNOR	29
Gambar 2. "Receiver of Curve" berdasarkan titik potong jumlah butir AgNOR	30

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karsinoma serviks uteri (KSU) merupakan keganasan yang paling banyak dijumpai pada wanita diberbagai negara berkembang. Setiap tahun diperkirakan ditemukan 500.000 kasus baru di seluruh dunia, yang mana 77 % diantaranya ditemukan di negara berkembang ¹. Berdasarkan data kanker dari 12 Pusat Laboratorium Patologi Anatomi di Indonesia, insidensi (frekwensi relatif) KSU tahun 1994 berkisar antara 10,7 – 39,9% ². Sedangkan untuk Kotamadya Semarang, Age Standardized Cancer Incidence Rate (ASR) pada tahun 1990 – 1999 adalah 21,77 per 100.000 penduduk, dimana 89,15% adalah jenis karsinoma epidermoid serviks uteri ³.

Menurut data Departemen Kesehatan di Indonesia, saat ini KSU menempati urutan pertama dari seluruh kanker yang menyerang penduduk Indonesia. Disamping jumlah penderitanya yang cukup banyak, ternyata sebagian besar penderita KSU datang ke fasilitas pengobatan sudah pada stadium lanjut. Akibatnya penderita memerlukan fasilitas perawatan yang khusus serta biaya yang mahal dengan angka ketahanan hidup lima tahunnya sangat rendah yaitu berkisar antara 20 – 40% ^{4,5}.

Prognosis KSU dipengaruhi oleh beberapa faktor, di mana stadium klinik merupakan faktor yang paling berperan ⁶⁻⁹. Di samping itu tumor dengan stadium klinik dan jenis terapi yang sama, menunjukkan hasil terapi yang berbeda. Hal ini karena masing-masing tumor mempunyai sifat biologik yang berbeda meskipun dalam stadium yang sama. Ini sesuai dengan hasil penelitian Symond (2000) ¹⁰.

Sejak 90 tahun terakhir ini radio terapi tetap digunakan sebagai terapi utama KSU, akan tetapi hasil pengobatan radiasi ini masih kurang memuaskan ¹¹. Kavanagh JJ (1993) melaporkan bahwa

keberhasilan terapi pada pengobatan tunggal radio terapi pada KSU mencapai 80% pada stadium I, 60% pada stadium II, 30% pada stadium III dan 10% pada stadium IV ¹². Di Indonesia, belum diperoleh angka-angka yang representatif, dan dilaporkan angka kelangsungan hidup 5 tahun penderita KSU setelah radioterapi saja adalah 27,27 - 32,05%, di mana sebagian besar pasien berada dalam stadium lanjut lokal ¹³.

Berbagai upaya perbaikan teknik dan metode radiasi telah dilakukan untuk meningkatkan hasil terapi radiasi KSU dengan efek samping yang tidak melebihi toleransi jaringan normal terhadap radiasi. Usaha-usaha tersebut ternyata masih belum dapat meningkatkan angka kelangsungan hidup secara bermakna ^{11,14}.

Biologi molekuler sel merupakan lahan penelitian yang menjanjikan untuk membantu upaya peningkatan hasil terapi KSU. Studi biologi molekuler sel merupakan upaya yang bersama dengan pemeriksaan histopatologi diharapkan mampu memberikan perkiraan prognosis KSU, sehingga tindakan klinik yang lebih optimal dapat dilaksanakan. Salah satu studi biologi molekuler sel tersebut adalah meneliti tingkat proliferasi sel kanker.

Untuk mempertahankan keseimbangan pada pembelahan sel diperlukan interaksi antara stimulasi proliferasi dan inhibisi proliferasi yang merupakan peran utama regulator proliferasi sistem gen DNA. Apabila terjadi perubahan atau kelainan DNA sel di mana keseimbangan tersebut terganggu maka dapat terjadi perubahan sifat maupun perilaku sel (*transformed cell*) yang dapat menyebabkan terjadinya sel ganas ¹⁵⁻¹⁸.

Walaupun aktifitas proliferasi merupakan salah satu sifat biologi sel yang berperan dalam mempengaruhi efek radiasi pada sel yang bersangkutan, akan tetapi hal ini masih menjadi perdebatan ¹⁹. Menurut beberapa peneliti dikatakan bahwa semakin tinggi aktifitas proliferasi sel semakin baik respon sel tersebut terhadap radiasi ²⁰⁻²².

Sedangkan Begg (1990) dengan menggunakan parameter proliferasi Tpot pada *invivo labelling index* menyatakan bahwa tumor dengan waktu proliferasi yang cepat mempunyai respon yang buruk terhadap radiasi ²³.

Beberapa cara untuk mendeteksi aktifitas proliferasi sel yaitu dengan bahan pelabel DNA dan *flow cytometry* ²⁴⁻²⁶ atau menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia seperti PCNA ²⁷ dan Ki 67 ^{21,28,29}. Cara yang lebih sederhana, yang dapat digunakan untuk mengukur aktifitas proliferasi dengan mikroskop cahaya adalah teknik pewarnaan AgNOR ^{27,30}. Teknik pewarnaan AgNOR ini merupakan teknik sederhana yang dengan menggunakan sediaan yang diproses secara rutin dengan fiksasi formalin. Oleh karenanya dapat dilakukan oleh laboratorium Patologi Anatomi yang belum mempunyai fasilitas pewarnaan imunohistokimia. Penilaian aktifitas proliferasi sel dengan menggunakan teknik AgNOR ini dilaksanakan pada berbagai penelitian, diantaranya untuk membedakan antara lesi jinak, *border line* maupun ganas ³¹⁻³⁴ serta sebagai faktor prognostik dari berbagai tingkatan jenis keganasan ³⁵⁻³⁸.

Penelitian yang dilakukan ini adalah untuk mendapatkan karakteristik salah satu sifat biologi seluler dengan mengetahui peran aktifitas proliferasi yang dideteksi dengan metode pewarnaan AgNOR terhadap hasil respon radiasi histologi penderita karsinoma epidermoid serviks uteri.

1.2 Permasalahan

Berdasarkan uraian di atas, maka permasalahan pada penelitian ini adalah :

Bagaimana peran aktifitas proliferasi sel kanker terhadap hasil respon radiasi histologi penderita karsinoma epidermoid serviks uteri ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan membuktikan bahwa aktifitas proliferasi tumor berperan terhadap hasil terapi radiasi histologi pada karsinoma epidermoid serviks uteri.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Mengetahui perbedaan tingkat aktifitas proliferasi sel sebelum terapi radiasi pada kelompok respon radiasi histologi jelek dan kelompok respon radiasi histologi baik.
- Mengetahui berapa besar risiko hasil respon radiasi histologi jelek pada tingkat aktifitas proliferasi rendah dibandingkan pada tingkat aktifitas proliferasi tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan akan menjadi masukan kepada dokter klinik untuk peningkatan pengelolaan penderita Karsinoma Epidermoid Serviks Uteri. Sedangkan bagi dokter patologi anatomi dapat lebih menyempurnakan makna diagnosis yang diberikan kepada dokter klinik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karsinoma Epidermoid Serviks Uteri

2.1.1 Epidemiologi

Karsinoma epidermoid serviks uteri adalah salah satu jenis KSU yang paling banyak ditemukan ^{8,39,40}. Di Kotamadya Semarang tahun 1990 – 1999, terkumpul 1170 kasus baru dari serviks uteri, dengan insiden puncak pada umur 45 – 54 tahun. Berdasarkan pemeriksaan histopatalogik didapatkan 89,15 % karsinoma epidermoid serviks uteri, 3,42 % adenokarsinoma dan 7,43 % adenosquamokarsinoma ³.

Beberapa faktor risiko telah banyak diuraikan dalam kaitannya dengan epidemiologi, diantaranya adalah aktifitas seksual pertama pada usia muda, riwayat berganti-ganti pasangan seksual, wanita dengan suami yang berhubungan seksual dengan banyak wanita, sosial ekonomi rendah, riwayat penyakit menular seksual pada penderita atau pasangan, transmisi virus yaitu Herpes Simplex tipe 2 dan Human Papiloma Virus (HPV) terutama tipe 16 dan 18 ^{5,6}.

2.1.2 Patogenesis

Epitel yang terus berproliferasi merupakan salah satu faktor risiko untuk terjadinya kanker. Perubahan genetik yang multipel sangat mungkin terjadi atau diekspresikan pada waktu sel berproliferasi. Pada kanker serviks, ekspresi protein virus menyebabkan hilangnya supresi terhadap proliferasi. Perubahan menjadi ganas melibatkan juga gen-gen yang mengatur pertumbuhan sel, dimana pengaturan pertumbuhan ini menghilang pada proses terjadinya keganasan ⁴.

Ada 3 komponen utama pada patogenesis kanker serviks, yaitu ⁴² :

1. Efek protein E₆ dan E₇ HPV yang memutuskan jalur regulasi kritikal siklus sel.
2. Integrasi DNA virus pada bagian kromosom yang berkaitan dengan fenotip tumor. Beberapa dari integrasi ini terjadi berulang pada lokasi kromosom khusus, seperti 8q₂₄ dan 12q₁₅ yang keduanya mengandung HPV₁₈ dan HPV₁₆.
3. Ada perubahan genetik berulang yang tak berkaitan dengan HPV.

2.1.3 Perjalanan Penyakit dan Stadium

Karsinoma epidermoid serviks uteri biasanya bermula dari daerah transformasi antara ektoserviks dan endoserviks. Daerah ini rentan terhadap perubahan akibat adanya mutagen pada saat aktif metaplasia ⁴³. Sel-sel yang mengalami mutasi ini dapat berkembang menjadi sel displastik sehingga terjadi kelainan epitel yang disebut displasia, mulai dari displasia ringan, displasia sedang, displasia berat sampai karsinoma insitu yang akhirnya menjadi karsinoma invasif. Tidak semua kelainan displasia akan menjadi karsinoma, karena proses ini dapat menetap atau berkurang tingkatannya ^{39, 40, 44}.

Pada stadium dini, kelainan yang ditimbulkan belum dapat dilihat dengan pemeriksaan klinis. Sedangkan pada stadium lanjut yang biasanya disertai dengan gejala klinis akan memberikan gambaran makroskopik serviks uteri yang membesar dengan pertumbuhan eksofitik atau endofitik, portio tampak berbenjol-benjol, rapuh dan mudah berdarah. Kelainan ini hanya dapat didiagnosis secara pasti berdasarkan pemeriksaan histopatologi dari hasil biopsi serviks uteri yang dicurigai ^{40,44}.

Stadium klinik pada KSU yang sekarang digunakan adalah pembagian berdasarkan *International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO)* tahun 1998⁴⁵.

2.1.4 Gambaran Histopatologi

Karsinoma epidermoid serviks uteri memberikan gambaran histopatologi berupa kelompok sel-sel epitelial dengan bentuk pleiomorf, rasio inti sitoplasma meningkat, inti hiperkromatik, membran inti kasar serta aktivitas mitosis yang dapat ditemukan. Kadang-kadang ditemukan bentuk mutiara tanduk⁴⁰.

Pembagian diferensiasi histologik yang sekarang digunakan adalah : diferensiasi baik, sedang, berat dan tanpa diferensiasi (anaplastik). Dikatakan diferensiasi baik apabila sel menunjukkan bentuk sel dewasa. Diferensiasi jelek jika sebagian besar sel masih menunjukkan bentuk sel muda yang pleiomorf sehingga sulit menentukan jenis dewasanya. Diferensiasi sedang merupakan bentuk diantara diferensiasi yang baik dan jelek. Jika semua sel dalam bentuk muda, sangat pleiomorf, tanpa dapat dilacak bentuk dewasanya, maka dimasukkan ke dalam bentuk anaplastik⁴⁰.

2.1.5 Prognosis

Beberapa faktor prognostik yang mempengaruhi kelangsungan hidup penderita karsinoma epidermoid serviks uteri, diantaranya adalah : stadium klinis, ukuran tumor, tipe histopatologi, perluasan ekstra servikal, serta pengelolaan medis lengkap⁸.

Selain itu beberapa serum tumor marker yang sering digunakan sebagai faktor prognostik adalah : *squamous cell carcinoma antigen*, *cancer antigen 125 (CA 125)*, dan *cytokeratin*⁶.

Akhir-akhir ini telah banyak dikembangkan faktor prognostik yang bersifat molekuler, misalnya : mutasi pada kodon 12 dari gen HRAS sangat berkaitan erat dengan prognosis yang jelek penderita KSU ⁴⁶.

2.1.6 Pengelolaan

Prinsip pengobatan KSU adalah mengobati lesi primer serta mencegah kemungkinan adanya penyebaran dari kanker. Pada stadium I – IIA dilakukan histerektomi total atau histerektomi radikal, sedangkan stadium IIB – IV dilakukan radioterapi. Pada stadium IV dengan metastasis ke kandung kemih dan rektum atau komplikasi fistula dilakukan pembedahan eksenterasi pelvis. Kemoterapi dapat juga diberikan sebagai pengobatan *adjuvan* dan jika untuk yang residif, resisten dan metastasis diberikan kemoterapi sebagai pengobatan paliatif ⁴⁷.

Radioterapi dilakukan dengan memberikan penyinaran dengan dosis tertentu pada tumor untuk menghancurkan sel-sel tumor tersebut dan sedapat mungkin menghindari jaringan yang sehat dari kerusakan.

Untuk memperhitungkan dosis radioterapi digunakan titik imajinasi pada pelvis yang disebut titik A, yang terletak kira-kira 2 cm di atas osteum uteri eksternum dan 2 cm ke lateral, serta titik B yang terletak kira-kira 3 cm di lateral titik A. Dengan sistem ini titik A diharapkan akan mendapat kira-kira 70 – 80 Gy, sedangkan titik B mendapat kira-kira 50 – 60 Gy ^{44,47}.

Teknik penggunaan radioterapi disesuaikan dengan tujuan pengobatan, kuratif atau paliatif. Pengobatan kuratif diberikan pada penderita stadium I sampai IIB dengan metode radiasi gabungan yaitu radiasi intra kaviter (brakhiterapi) serta radiasi eksternal (teleterapi). Pengobatan paliatif digunakan untuk KSU stadium lanjut yang tidak memenuhi syarat-syarat untuk pemberian dosis kuratif, berupa radiasi eksterna dan dosis yang diberikan $\pm 2/3$ dosis kuratif ⁴⁴.

2.1.7 Respon Radiasi

Respon radiasi merupakan tolok ukur untuk menilai keberhasilan pengobatan setelah dilakukan pengobatan radiasi pada KSU serta untuk menentukan apakah diperlukan sitostatika tambahan pada penderita. Respon radiasi ini dapat dibedakan atas :

- Respon radiasi klinis, meliputi : perdarahan berhenti, porsio licin, tidak ada infiltrat serta tidak didapatkan keganasan pada pemeriksaan sitologi maupun histopatologi ⁴⁸.
- Respon radiasi histologis, meliputi ⁴⁴:
 - a. Respon radiasi baik, bila tidak ditemukan sel ganas pada biopsi pasca radiasi. Pada sediaan hanya ditemukan jaringan granulasi atau jaringan nekrotik.
 - b. Respon radiasi cukup, bila sarang-sarang sel tumor mengalami kerusakan hebat, nekrosis dan hanya ditemukan beberapa *viable cell*.
 - c. Respon radiasi jelek, bila dalam sediaan tidak ditemukan kerusakan sarang-sarang sel tumor atau derajat kerusakan masih rendah, walaupun beberapa sel tumor telah lisis karena pengaruh radiasi.

2.2 Terapi Radiasi Pada Keganasan

Radio terapi atau terapi radiasi adalah suatu upaya pengobatan dengan menggunakan sinar pengion yang hingga saat ini merupakan salah satu jenis terapi utama bagi penyakit kanker disamping pembedahan dan kemoterapi ^{49,50}.

Sinar pengion tersebut merupakan suatu gelombang elektromagnetik atau partikel berenergi yang akan menimbulkan proses ionisasi bila melewati berbagai materi biologik. Radiasi pengion ini akan menyebabkan terjadinya reaksi yang bertahap dengan molekul-molekul dalam sel tubuh manusia sehingga membentuk radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan senyawa kimia di dalam tubuh termasuk DNA ^{49,50}.

Gelombang elektromagnetik terdiri atas sinar rontgen dan sinar gamma. Perbedaan keduanya terletak pada produksi sinar tersebut. Sinar x dihasilkan dari generator listrik, sedangkan sinar gamma dihasilkan dari peluruhan radioisotop. Kelompok elektromagnetik ini merupakan kelompok sinar yang tidak mempunyai masa maupun muatan sehingga mempunyai daya tembus yang dalam ^{50,51}.

Kelompok lain dari sinar pengion adalah kelompok partikel berenergi. Kelompok ini mempunyai massa dan/atau muatan, misalnya : elektron (muatan negatif), proton dan helium (muatan positif) serta neutron (muatan netral). Daya tembus sinar kelompok ini biasanya tidak dalam dibandingkan dengan kelompok elektromagnetik ^{50,51}.

Jika radiasi ionisasi elektromagnetik maupun partikel mengenai jaringan, maka suatu peristiwa kompleks akan terjadi dan kemudian menyebabkan kerusakan sel-sel tumor yang akhirnya mengeradikasi tumor tersebut ^{51,52}.

Telah diketahui bahwa penyebab utama kematian sel adalah kerusakan DNA. Kerusakan DNA yang mungkin terjadi adalah :

- *single* atau *double strand breaks* rantai DNA
- perubahan atau kehilangan basa-basa pembentuk DNA
- terjadi *cross-links* antara DNA dengan protein kromosom

Adanya kerusakan-kerusakan DNA ini akan menginduksi proses reparasi, di mana reparasi yang akan berlangsung tergantung pada derajat kerusakan DNA. Pada derajat kerusakan tertentu terutama pada *double strand breaks* maka tidak dapat lagi dilakukan proses reparasi dan sel tersebut akan diprogram untuk mati (apoptosis) ⁵².

Kerusakan akibat terjadinya ionisasi DNA dikenal sebagai efek langsung, sedangkan efek tidak langsung timbul akibat terjadinya ionisasi molekul air terutama yang terdapat pada sitoplasma. Proses ionisasi ini menyebabkan timbulnya radikal bebas (misalnya : hidroksil radikal, super oksida, dan hidrogen peroksida) yang bersifat sangat destruktif ^{51,52}.

Integritas efek biologi yang terpenting adalah yang berhubungan dengan reproduksi sel. Berbagai proses akibat trauma radiasi dapat terjadi pada sel yang memasuki periode pembelahan sel. Proses-proses tersebut diantaranya adalah sel mengalami kematian saat mencoba membagi diri, sel dapat melangsungkan pembelahan tetapi membentuk sel anak yang tidak normal, sel tidak mengalami pembelahan akan tetapi masih dapat berfungsi sebagai sel normal (sel steril), sel mengalami beberapa kali pembelahan membentuk sel anak sebelum sel menjadi steril, dan yang terakhir adalah sel tersebut mengalami gangguan minimal tanpa mengalami gangguan dalam proses pembelahan^{51,52}.

Adapun perubahan-perubahan pada tingkat seluler yang mungkin tampak akibat radiasi adalah⁴⁴:

- Kerusakan kromosom
- Mutasi sel
- Hambatan pembelahan sel
- Kehilangan kemampuan reproduksi.

2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil respon radiasi

Seperti kita ketahui bahwa tumor yang radiosensitif mudah dihancurkan dengan penyinaran. Pada karsinoma epidermoid serviks uteri keberhasilan terapi dipengaruhi berbagai faktor, diantaranya umur, stadium, jenis histopatologi dan metode terapi yang diberikan⁴⁷.

Menurut dua orang ahli radiobiologi dari Perancis (Bergonie dan Tribondeau) sel cenderung radiosensitif jika sel tersebut :

1. Mempunyai aktivitas pembelahan yang tinggi.
2. Selalu membelah selama kehidupan.
3. Belum mempunyai bentuk khusus (matur).

Sehingga disimpulkan bahwa sel yang muda dan tumbuh dengan cepat merupakan sel yang sangat radiosensitif²⁰.

Faktor-faktor lain yang mempengaruhi radiosensitifitas seluler adalah ^{44,49,50} :

1. "4 R Radiobiologik"

- *Repair*. Sel mempunyai kesempatan untuk memperbaiki diri. Jika kemampuan reparasi DNA baik maka sel tersebut mempunyai sensitifitas yang rendah terhadap radiasi.
- *Reoxygenation*. Dengan mengecilnya masa tumor akibat radiasi, maka akan terjadi perbaikan oksigen sehingga sel menjadi lebih sensitif terhadap radiasi.
- *Repopulation*. Pembentukan sel baru yang memberi kesempatan sel tumor melakukan percepatan proliferasi.
- *Redistribution*. Terjadi pengisian kembali fase-fase siklus sel.

2. Kualitas radiasi.

3. Temperatur jaringan.

Peningkatan suhu jaringan sekurang-kurangnya 41⁰ C, disamping merupakan faktor yang berdiri sendiri untuk melakukan perusakan sel juga dapat meningkatkan respon radiasi.

4. Pengaruh obat-obatan.

Beberapa jenis obat dapat diberikan bersamaan dengan radiasi untuk meningkatkan efek radiasi (kelompok Taksan). Bila radiasi diberikan setelah pemberian obat tersebut, akan terjadi peningkatan efek radiasi.

5. Hipoksia

Dalam keadaan hipoksik akan terjadi perlambatan siklus sel, sehingga sel dapat mengadakan perbaikan terhadap kerusakan yang tidak fatal dan sel tersebut menjadi kurang sensitif terhadap radiasi.

2.4 Aktivitas Proliferasi

Siklus sel merupakan suatu proses yang pada akhirnya secara genetis menurunkan sepasang sel anak yang bersifat identik dengan sel induknya¹⁵. Berdasarkan kinetika sel yang berproliferasi, dalam suatu populasi sel terdapat 4 kompartemen yang berbeda. Kompartemen pertama adalah kelompok sel yang aktif melakukan proses pembelahan sel (*growth fraction* = *Gfr*). Kedua adalah sel dalam keadaan diferensiasi terminal, yang akan meninggalkan siklus pertumbuhan dan mengalami kematian setelah melakukan fungsinya. Ketiga adalah sel dalam fase G_0 yang tidak membelah tetapi tidak mati, dan mungkin akan masuk kembali ke dalam siklus pembelahan sel jika diperlukan atau mengalami kematian. Terakhir adalah kelompok sel mati yang berasal dari kelompok kedua maupun ketiga⁵⁰.

Siklus pembelahan sel dibagi ke dalam 4 periode yaitu fase *Gap* 1 (G_1), fase Sintesis (S), fase *Gap* 2 (G_2) dan fase Mitosis (M). Waktu diantara dua mitosis atau pembelahan sel dikenal sebagai waktu siklus sel. Fase antara akhir mitosis sampai dimulainya proses mitosis selanjutnya dikenal sebagai interfase (G_1 , S, G_2) yang lama waktunya bervariasi antara satu sel dengan sel lainnya^{15,53}.

Fase G_1 adalah fase pembentukan berbagai RNA dan protein yang berperan dalam proses proliferasi. Protein siklin yang disintesis selama fase G_1 (siklin D, E dan A) merupakan protein pengatur bagi aktivitas protein *cell division control kinases* (CDCK) yang dikenal juga sebagai protein *mitosis promoting factor* (MPF)¹⁵.

Pada saat transisi dari fase akhir G_1 ke fase S terjadi aktivasi transisi melalui proses fosforilasi protein Rb oleh aktivitas siklin D_1 – cyclin dependent kinase (CDK) yaitu CDK 4, sehingga terjadi proses replikasi DNA¹⁵.

Selama fase S sejumlah enzim menjadi aktif (DNA polymerase, thymidine kinase, dan lain-lain). Molekul yang aktif pada fase S adalah Proliferatif Cell Nuclear Antigen (PCNA). Molekul ini

berhubungan dengan polymerase DNA dan beberapa pengatur yang membantu dalam replikasi DNA. Pengendalian proses duplikasi dilakukan oleh cyclin E dan CDK₂, sementara kombinasi lain yaitu cyclin A dan CDK₂ menghentikan duplikasi. Selama fase S jumlah DNA keseluruhan akan bertambah dari diploid (2n) hingga replikasi lengkap (4n). Karena dalam fase S terjadi kenaikan jumlah DNA, maka dengan mengukur banyaknya DNA dapat ditentukan banyaknya sel dalam fase S dari siklus sel. Fase ini dianggap fase yang dapat mewakili aktivitas proliferasi sel, karena pada saat tersebut terjadi sintesis DNA ¹⁵.

Fase G₂ adalah fase antara akhir fase S sampai terjadinya mitosis. Pada fase ini sel akan mempersiapkan diri untuk membelah. Fase G₂ ini merupakan tahapan pertumbuhan ke 2 setelah terjadinya replikasi DNA di fase S. Stimulasi oleh faktor pertumbuhan dan berbagai protein pengatur yang disintesis selama fase G₁ terus berlanjut. Enzim siklin yang teraktifasi pada fase ini adalah siklin A dan B dengan fungsi meregulasi aktifitas protein katalitik CDCK₂ ¹⁵.

Fase terakhir dari proses proliferasi adalah fase M (mitosis), yang merupakan fase terpendek. Proses mitosis ini terdiri atas profase, metafase, anafase dan telofase. Pada saat sel mulai memasuki fase mitosis maka CDK₂ akan berikatan dengan siklin B untuk membentuk suatu kompleks yang disebut *mitosis promoting factor* (MPF). Pada proses mitosis ini membran inti pecah, lalu terjadi kondensasi inti menjadi kromosom yang dapat dilihat dan akhirnya terpisah. Kromosom bergerak ke kutub di mana terjadi dekonkondensasi serta pembentukan kembali inti yang utuh. Kemudian sel membelah menjadi dua (sitokinesis) ^{15,53}.

Fase G₁ dan G₂ merupakan kontrol yang penting dalam mengendalikan proses-proses yang kompleks yang mengatur penggandaan DNA. Secara alami DNA harus dikopi dengan tepat. Jika ada kesalahan harus dikoreksi. Jika kerusakan terlalu luas, sel akan

mengeliminasi melalui proses apoptosis dari pada membiarkan keturunannya mempunyai DNA yang salah. Kontrol pertama pada fase G_1 merupakan kontrol yang lebih dominan dan kontrol kedua hanya merupakan kelanjutan dari kontrol pertama. Protein yang paling berperan dalam fase G_1 dan G_2 ini adalah P_{53} . P_{53} ini akan menahan sel pada fase G_1 dan G_2 dan merupakan instrumen yang mengawali proses apoptosis jika kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki^{15,53}.

Mekanisme molekuler yang mengontrol proliferasi sel meliputi regulator positif dan negatif. Beberapa protein regulator positif yang berperan dalam stimulasi proliferasi, misalnya faktor pertumbuhan dan reseptor faktor pertumbuhan yang berperan dalam transduksi signal. Selain itu identifikasi gen regulator negatif yang terlibat dalam pertumbuhan sel juga sangat berperan. Beberapa protein regulator negatif yang telah diteliti diantaranya retinoblastoma dan P_{53} ¹⁶.

Berbagai parameter dapat digunakan untuk menilai aktivitas proliferasi. Penilaian tersebut dapat secara dinamik dengan menggunakan ukuran waktu maupun secara statik yaitu dengan menilai perbandingan jumlah sel yang berproliferasi dalam suatu populasi sel⁵⁴.

Parameter aktivitas proliferasi dinamik yang dikenal saat ini adalah : waktu sel untuk melakukan seluruh proses pembelahan (*cell cycle time* = T_c), waktu sel untuk melakukan replikasi DNA (*S-phase time* = T_s) dan waktu populasi sel menggandakan volumenya (*volume doubling time* = T_d), yang meliputi nilai G_{fr} , T_c , dan *cell loss*. Waktu populasi sel menggandakan volumenya secara efektif tanpa memperhitungkan nilai *cell loss* dikenal sebagai *potential doubling time* (T_{pot}). Sedangkan parameter aktivitas proliferasi statik meliputi nilai indeks mitosis ($MI = \text{Mitotic Index}$), nilai fraksi pertumbuhan (G_{fr}), dan fraksi sel dalam fase S ($Spf = \text{S-phase fraction}$) serta nilai fraksi sel dalam fase $G_1 - S - G_2$ seperti yang terdeteksi pada pewarnaan AgNOR^{30,54,55}.

2.5 Nucleolar Organizer Regions (NORs) dan Teknik AgNOR

Nukleolus (anak inti) merupakan ekspresi morfologik dari proses sintesa dan pematangan RNA (rRNA) dari transkripsi ribosomal DNA (rDNA). Dengan mikroskop cahaya, anak inti tersebut tampak sebagai struktur paling nyata di dalam inti sel pada keadaan tidak bermitosis³⁵.

Nukleolus berisi gelung – gelung DNA yang berasal dari beberapa kromosom, dimana tiap gelung DNA mengandung sekumpulan gen r RNA. Tiap kumpulan gen dikenal sebagai nukleolar organizer region (NOR). NORs terdapat pada gelung DNA yang menempati area khusus dalam kromosom, yaitu pada lengan pendek 5 kromosom akrosentrik 13, 14, 15, 21 dan 22³⁰.

NORs merupakan sub unit fungsional anak inti dimana terjadi transkripsi r DNA secara aktif dan dikelilingi oleh banyak protein regulator. Beberapa protein tersebut bersifat argirofilik dan asidik (RNA polymerase I, protein C 23(nukleolin), protein B 23). NOR yang tercat dengan warna silver disebut AgNOR, sedangkan protein NOR argirofilik disebut AgNOR protein (NOR – associated protein/ NORAPs)³⁰.

Teknik pewarnaan AgNOR adalah suatu teknik pulasan perak koloidal dimana perak tersebut akan berikatan dengan NORAPs dan membentuk senyawa AgNOR (endapan perak). Dengan mikroskop cahaya NORAPs dan secara tidak langsung NORs divisualisasikan berdasarkan sifat argirofiliknya, berupa butir – butir hitam di dalam inti³⁰.

Beberapa penelitian melaporkan bahwa jumlah NOR interfase lebih banyak pada sel – sel kanker daripada sel normal maupun hiperplasia. Hal ini mengacu pada peran sentral NOR interfase di dalam r RNA. Meningkatnya jumlah NOR interfase pada sel kanker merupakan konsekuensi dari peningkatan kebutuhan untuk biogenesis ribosomal. Ketika suatu sel distimulasi untuk berproliferasi, jumlah NOR interfase dan sintesis r RNA meningkat. Selain itu juga ada variasi dalam jumlah kromosom akrosentris yang membawa NOR yang dapat terjadi di dalam sel neoplastik. Pada lesi jinak endapan

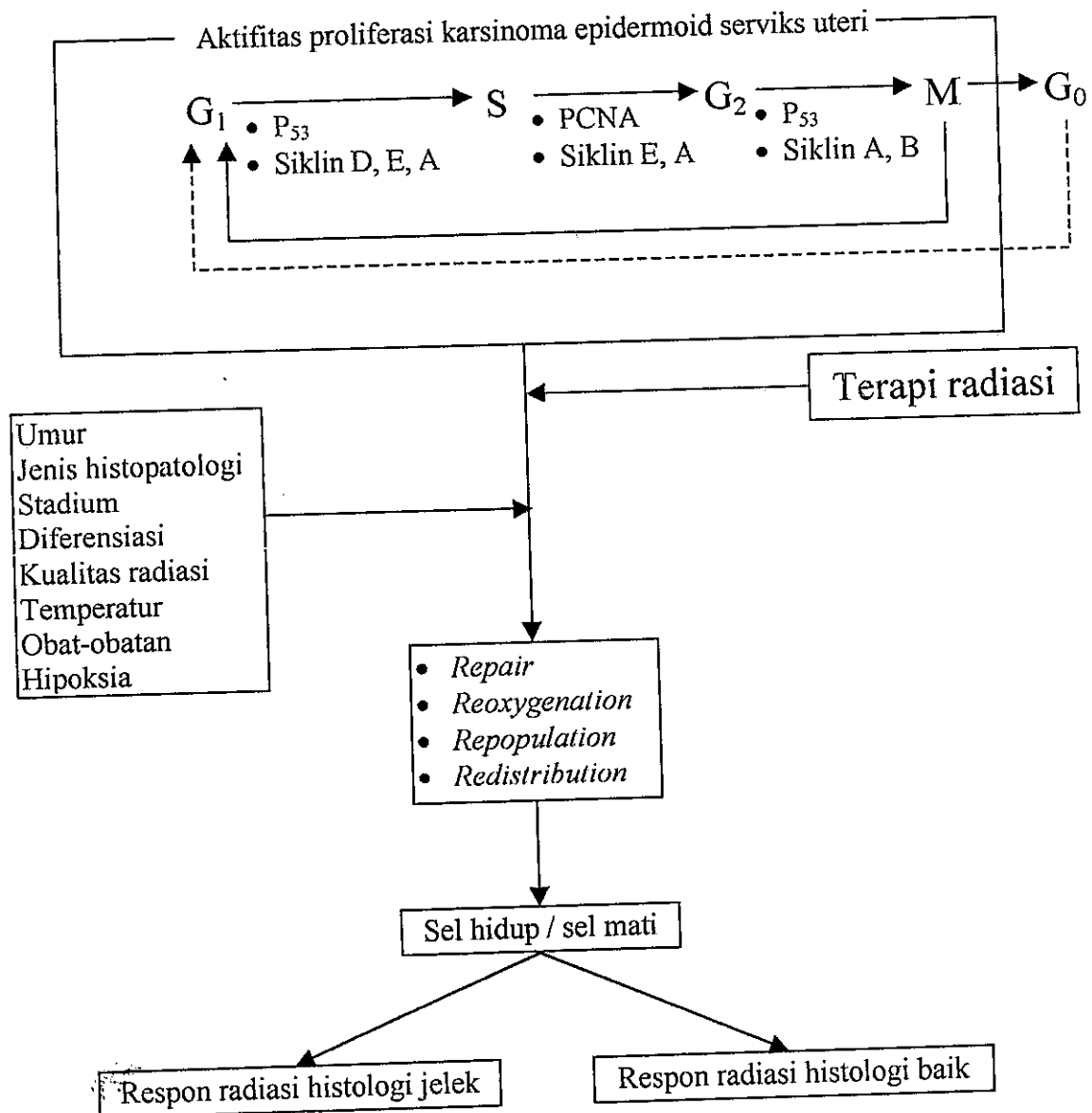
perak AgNOR berbentuk bulat dengan tepi rata dan berukuran besar, sedangkan pada lesi ganas butir hitam AgNOR bentuknya lebih tidak teratur, berukuran lebih kecil dan penyebaran di seluruh nukleoplasma^{28,30,34}

Telah dibuktikan bahwa aktifitas pembelahan yang terus menerus menyebabkan peningkatan NOR interfase, hal ini dapat dimengerti karena³⁰ :

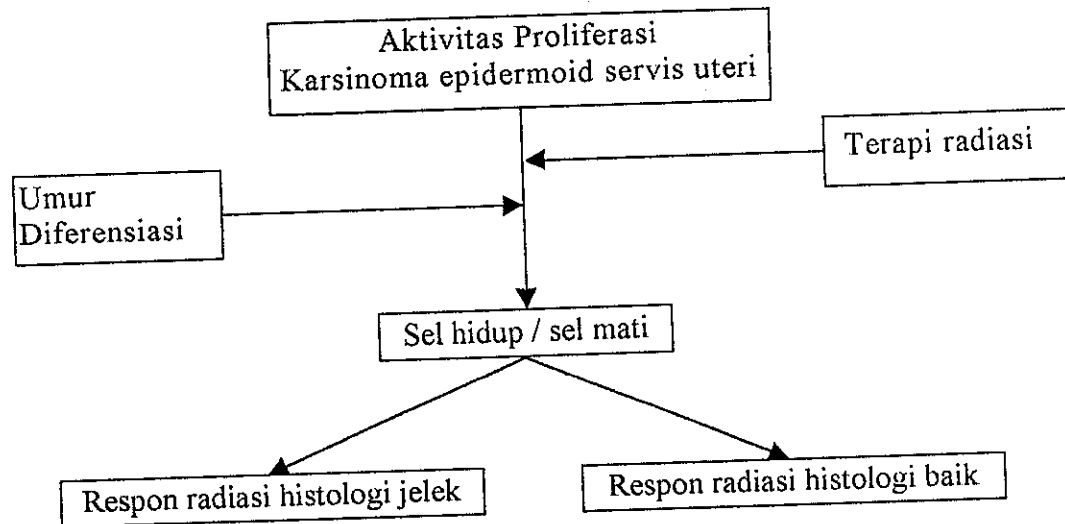
1. Pada sel – sel istirahat yang distimulasi untuk berproliferasi, jumlah NOR interfasanya secara progresif meningkat dari G₁ sampai S.
2. Perbandingan distribusi NOR interfase dengan parameter kinetik sel telah menunjukkan suatu hubungan linier antara jumlah NOR interfase dengan aktivitas proliferasi sel.
3. Di dalam sel – sel kanker yang dikultur invitro, penurunan progresif dari aktivitas proliferasi oleh deprivasi serum disertai dengan penurunan progresif NOR interfase.

Jumlah NORs interfase dapat dipertimbangkan sebagai parameter kinetik sel untuk evaluasi kecepatan proliferasi. Hal ini diperkuat dengan ditemukannya nilai AgNOR interfase berhubungan erat dengan kecepatan proliferasi sel, pada percobaan yang menggunakan invitro sel tumor^{27,30}.

2.6 Kerangka Teori



2.7 Kerangka Konsep



BAB III

HIPOTESIS

Berdasarkan pada studi kepustakaan seperti yang telah diuraikan di atas, maka hipotesis penelitian ini adalah :

1. Ada perbedaan tingkat aktifitas proliferasi tumor sebelum terapi antara hasil respon radiasi histologi jelek dan respon radiasi histologi baik pada karsinoma epidermoid serviks uteri.
2. Respon radiasi histologi jelek mempunyai tingkat aktifitas proliferasi sebelum terapi yang lebih rendah dari pada respon radiasi histologi baik.
3. Tingkat aktifitas proliferasi rendah sebelum terapi radiasi memberikan hasil respon radiasi histologi jelek yang mempunyai risiko lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat aktifitas proliferasi tinggi.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi observasional yang dilakukan dengan cara *case control*.

4.2 Sampel

4.2.1 Tempat dan Waktu Pengambilan Sampel

Penelitian dilaksanakan di Bagian/SMF Patologi Anatomi FK UNDIP – RSUP Dr. Kariadi Semarang. Sampel diambil dari arsip blok parafin biopsi serviks uteri penderita karsinoma epidermoid serviks uteri yang dirawat di RSUP Dr. Kariadi tahun 2000 – 2001, secara acak.

4.2.2 Syarat Pengambilan Sampel

4.2.2.1 Penerimaan Sampel

Biopsi karsinoma epidermoid serviks uteri stadium III yang hanya mendapat terapi eksternal radiasi lengkap (5000 rad terbagi dalam 25 kali penyinaran) dengan waktu total pemberian terapi radiasi tidak lebih dari 12 minggu. Hb penderita tidak kurang dari 10 gr %.

4.2.2.2 Penolakan Sampel

Biopsi serviks uteri tidak representatif untuk diperiksa.

4.2.3 Besar Sampel

Untuk menolak atau menerima hipotesis, dengan angka kejadian karsinoma serviks uteri berdasarkan data tahun 1990 – 1999 di Semarang adalah 23,7% dan populasi karsinoma epidermoid serviks uteri adalah 104 dengan tingkat ketepatan absolut yang diinginkan (d) 15% dan tingkat kemaknaan $\alpha = 0,05$; maka besar sampel yang diperlukan ditentukan dengan rumus⁵⁶ :

$$n = \frac{NZ^2 p (1-p)}{Nd^2 + Z^2 p (1-p)}$$

$$n = \frac{104 \times 1,67^2 \times 0,237(1-0,237)}{104 \times 0,15^2 + 1,67^2 \times 0,237(1 - 0,237)}$$

$$n = \frac{52,2}{1,54}$$

$$= 33$$

n = besarnya sampel

N = besarnya populasi (jumlah populasi acuan)

Z = nilai standar normal yang tergantung α

p = probabilitas suatu kejadian

α = tingkat kemaknaan : $\alpha = 0,05 \rightarrow z = 1,67$

d = tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki, yaitu 15%.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel tergantung : respon radiasi histologik.

Variabel bebas : aktifitas proliferasi.

Variabel perancu : umur, diferensiasi

4.4 Bahan dan Alat

1. Kertas HVS untuk mengetik formulir, proses data dan buku.
2. Alat tulis, kalkulator dan seperangkat komputer.
3. Seperangkat alat untuk pembuatan slide.
4. Seperangkat alat untuk proses pewarnaan.
5. Bahan-bahan pewarnaan AgNOR.
6. Mikroskop.
7. Seperangkat alat pemotretan.

4.5 Proses Penelitian

Data diambil dari buku register patologi anatomi dan catatan medik rawat inap. Kasus dengan respon radiasi baik dan jelek dicatat, dibuat tabulasinya. Dikumpulkan blok parafin hasil biopsi kasus-kasus

serviks uteri sebelum terapi radiasi serta sediaan histopatologinya untuk diperiksa kembali. Jika memenuhi syarat penerimaan sampel, blok parafin dipotong ulang untuk diwarnai dengan metode pewarnaan AgNOR.

4.5.1 Pewarnaan AgNOR

Larutan perak koloid dipersiapkan dengan cara melarutkan bubuk gelatin dengan konsentrasi 2 % di dalam air yang telah mengalami ionisasi di atas waterbath bertemperatur $60^{\circ} - 70^{\circ}$ C, kemudian dicampur dengan 50 % larutan perak nitrat dalam aquabidestilata (perbandingan 1 : 2)⁵⁷.

Blok parafin dipotong (ketebalan 4 μ m). Dilakukan deparafinisasi menggunakan xylol 2 x diikuti dengan proses rehidrasi (alkohol absolut – alkohol 95 % - alkohol 70 %) yang dilanjutkan dengan air (yang telah mengalami ionisasi) selama 8 –10 menit. Sediaan tersebut ditetesi dengan larutan perak koloidal melalui filter 0,22 μ m millipore dan didiamkan dalam kamar gelap 45 – 60 menit (pada suhu kamar). Kemudian dicuci dengan air yang telah mengalami ionisasi selama 10 – 15 menit dan diinkubasi dalam larutan natrium tiosulfat 5 % selama 2 menit. Sediaan kemudian didehidrasi (alkohol 70 % – alkohol 98 % – alkohol absolut). Kemudian dengan xylol 2 kali. Sediaan ditetesi kanada balsam dan ditutup dengan kaca penutup⁵⁷.

4.5.2 Analisis Data

Masing-masing sediaan yang telah dilakukan pengecatan AgNOR dikelompokkan berdasarkan hasil respon radiasinya. Kemudian masing-masing kelompok yaitu respon radiasi baik dan respon radiasi jelek, dihitung nilai AgNOR pada biopsi sebelum diterapi radiasi. Perhitungan dilakukan secara manual dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000 x.

10 lapangan pandang (dihitung 10 sel tiap 1 lapangan pandang). Perhitungan diulang 1 jam kemudian pada sediaan yang sama. Butir AgNOR dijumlah dan dihitung rata – rata per inti.

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel distribusi dan dianalisis secara statistik. Uji statistik dilakukan dengan *t-test* dan *chi square test*. Probabilitas dianggap bermakna secara statistik apabila didapatkan nilai $p < 0,05$ dengan selang kepercayaan 95%.

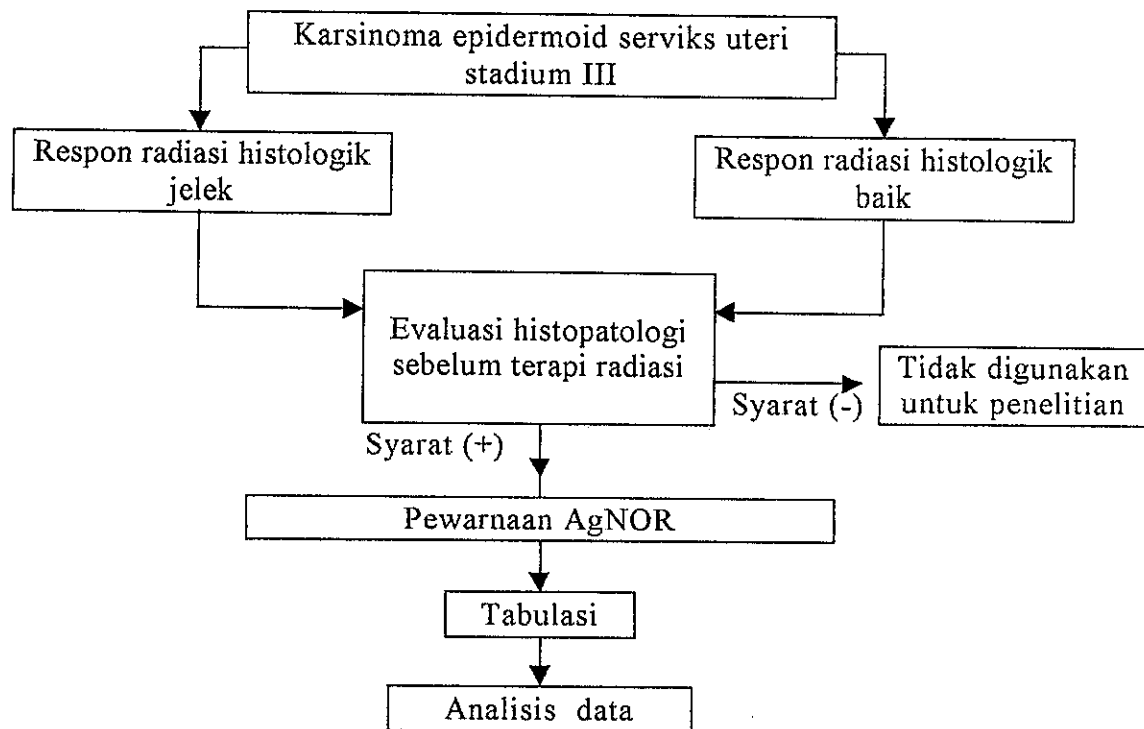
4.6 Definisi Operasional Variabel

1. Respon radiasi histologi adalah penilaian respon radiasi secara histopatologi pada hasil biopsi serviks uteri setelah dilakukan terapi radiasi lengkap, yang dikelompokkan sebagai berikut :
 - Respon radiasi baik : pada biopsi tidak ditemukan sama sekali sel ganas yang poten, hanya ditemukan sel ganas yang telah mati atau degeneratif.
 - Respon radiasi jelek : pada biopsi masih ditemukan sel ganas yang poten, disamping yang telah mati
2. Tingkat aktifitas proliferasi dinilai dengan menentukan perhitungan rata – rata titik granul AgNOR pada 100 sel untuk tiap sediaan dengan menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 1000 x).
3. Karsinoma epidermoid serviks uteri ditentukan berdasarkan hasil biopsi serviks uteri yang sudah ditegakkan diagnosisnya secara histopatologi.
4. Stadium III : menurut FIGO (1998), yaitu karsinoma meluas di luar serviks dan mencapai dinding pelvis atau melibatkan vagina $\geq 1/3$ bagian bawah vagina, atau bila disertai hidronefrosis/tidak berfungsinya ginjal (kecuali bila diketahui terjadi oleh sebab lain). Pada penelitian ini, penentuan stadium dilakukan oleh dokter spesialis Obstetri Ginekologi konsultan onkologi.

5. Diferensiasi adalah gambaran histopatologik karsinoma epidermoid serviks uteri :
 - Diferensiasi baik : sel menunjukkan bentuk sel dewasa.
 - Diferensiasi jelek : sebagian besar sel masih menunjukkan bentuk sel muda yang pleiomorf sehingga sulit menentukan jenis dewasanya.
 - Diferensiasi moderat : merupakan bentuk diantara diferensiasi yang baik dan jelek.
6. Blok parafin : hasil biopsi yang diblok dengan menggunakan bahan parafin.
7. Pengecatan AgNOR : melakukan pewarnaan pada sediaan histopatologi dengan menggunakan bahan perak koloidal.

UPT-PUSTAK-UNDIP

4.7 Alur Penelitian



4.8 Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan tanpa melibatkan penderita maupun dokter klinik secara langsung, karena sampel menggunakan arsip blok parafin yang dikirim dokter klinik saat menegakkan diagnosis penderita.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Sampel penelitian diambil dari biopsi serviks uteri sebelum terapi radiasi penderita karsinoma epidermoid serviks uteri stadium III, yang dirawat di RSUP Dr. Kariadi tahun 2000-2001. Diambil 66 sampel yang memenuhi kriteria inklusi penelitian yang terdiri dari 33 sampel dengan hasil respon radiasi histologi jelek (RRJ) dan sebagai kelompok pembanding adalah 33 sampel dengan hasil respon radiasi histologi baik (RRB). Pengambilan sampel melalui randomisasi dengan menggunakan tabel random.

5.1 Karakteristik penderita

Pada penelitian ini umur dan derajat deferensiasi merupakan variabel kendali, sedangkan faktor kendali lain telah termasuk dalam kriteria inklusi.

5.1.1 Umur

Profil umur penderita karsinoma epidermoid serviks uteri terpaparkan pada tabel 1, sebagai berikut :

Tabel 1. Umur penderita pada kelompok RRJ dan RRB.

Umur (tahun)	RRJ n = 33	RRB n = 33	P (<i>t-test</i>)
Mean	44,27	45,30	0,612
SD	7,89	8,51	

Uji *t-test* didapatkan perbedaan umur yang tidak bermakna pada kelompok RRJ dan RRB ($p = 0,612$).

5.1.2 Derajat Diferensiasi

Derajat diferensiasi penderita karsinoma epidermoid serviks uteri sebagai berikut :

Tabel 2. Derajat diferensiasi pada kelompok RRJ dan RRB.

Diferensiasi	RRJ n = 33	RRB n = 33	P (<i>Chi square test</i>)
Baik	3	9	0,082
Moderat	18	18	
Jelek	12	6	

Uji *chi-square* didapatkan perbedaan derajat diferensiasi yang tidak bermakna pada kelompok RRJ dan RRB ($p = 0,082$).

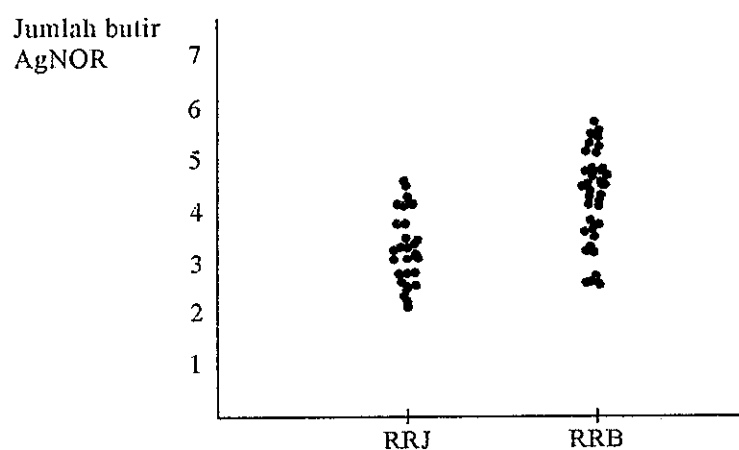
5.2 Ekspresi AgNOR pada kelompok respon radiasi histologi

Banyaknya butir AgNOR per sel pada kelompok RRJ dan RRB sebagai berikut :

Tabel 3. Jumlah butir AgNOR pada kelompok RRJ dan RRB.

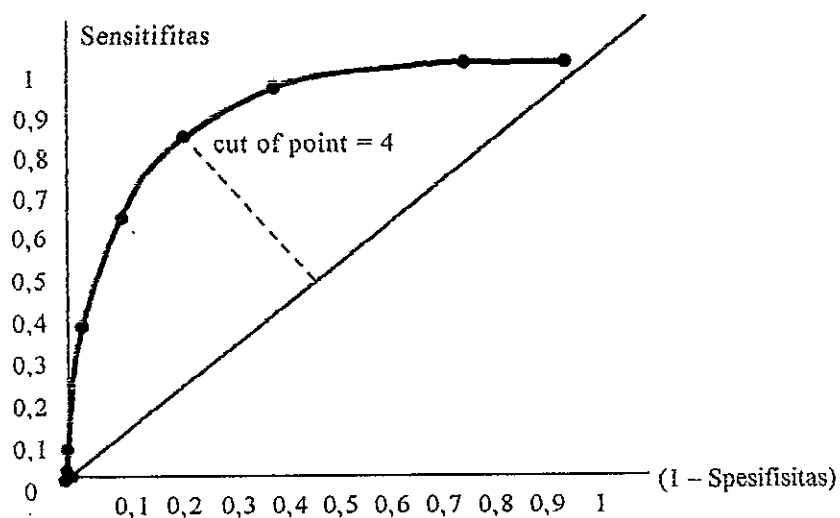
Jumlah butir AgNOR/sel	RRJ n = 33	RRB n = 33	P (<i>t-test</i>)
Mean	3,2567	4,5594	0,0001
SD	$\pm 0,6520$	$\pm 0,6954$	

Uji *t* didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah butir AgNOR sebelum terapi pada kelompok RRJ dan RRB ($p = 0,0001$).



Gambar 1. Sebaran penderita sesuai respon radiasi histologi dihubungkan dengan jumlah butir AgNOR.

Tinggi rendahnya aktifitas proliferasi ditentukan berdasarkan atas 10 titik potong (*cut of point*) dari nilai sensitifitas pada *receiver operator curve* (ROC). Dari ROC didapatkan titik potong terbaik yaitu yang terletak paling jauh dari garis diagonal, di mana besarnya COP adalah 4 (sensitifitas = 0,82 dan spesifitas = 0,79).



Gambar 2. *Receiver Operator Curve* berdasarkan titik potong jumlah butir AgNOR

Berdasarkan nilai titik potong maka aktifitas proliferasi dibagi menjadi 2 kelompok yaitu aktifitas proliferasi rendah jika jumlah butir AgNOR kurang dari 4 (lampiran, gambar 3) dan aktifitas proliferasi tinggi jika jumlah butir AgNOR lebih besar atau sama dengan 4 (lampiran, gambar 5). Berdasarkan perhitungan ini maka didapatkan aktifitas proliferasi pada masing-masing kelompok respon radiasi histologi sebagai berikut (tabel 4) :

Tabel 4. Aktifitas ploriferasi pada masing-masing kelompok respon radiasi histologi

Aktifitas proliferasi	RRJ n = 33	RRB n = 33	P (<i>Chi square test</i>)
Rendah (< 4)	27	7	0,0001
Tinggi ($\geq$ 4)	6	26	

Uji *Chi-Square* didapatkan hubungan yang bermakna antara aktifitas proliferasi sebelum terapi pada kelompok RRJ dan RRB ($p = 0,0001$).

Dengan demikian rasio *odds* didapatkan sebesar $27 \times 26/7 \times 6 = 16,7$.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Penderita

6.1.1 Umur

Umur merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi hasil respon radiasi. Hal ini berhubungan dengan kemampuan sel untuk berproliferasi, di mana pada umur muda kemampuannya lebih besar dibanding umur tua⁵⁸. Di samping itu secara umum, reaksi tubuh atau imunitas pada umur muda lebih baik dari pada umur tua⁵⁹.

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan umur yang tidak bermakna antara kelompok RRJ dan RRB (tabel 1). Hal ini berarti umur yang merupakan salah satu faktor perancu terhadap hasil respon radiasi tidak berperan pada masing-masing kelompok respon radiasi histologi tersebut, karena dianggap mempunyai pengaruh yang sama pada kedua kelompok respon radiasi histologi.

6.1.2 Derajat Diferensiasi

Menurut hukum Bergonie – Tribondeau, semakin embrional dan tidak berdiferensiasi suatu sel maka semakin sensitif sel tersebut terhadap radiasi.

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan derajat diferensiasi yang tidak bermakna antara kedua kelompok respon radiasi (tabel 2). Hal ini berarti derajat diferensiasi mempunyai kesamaan proporsi antara kelompok RRJ dan RRB, sehingga tidak dianggap sebagai faktor perancu pada penelitian ini.

6.2 Peran Aktifitas Proliferasi Terhadap Respon Radiasi Histologi

Proliferasi merupakan salah satu sifat biologi sel yang sangat berperan dalam mempengaruhi efek radiasi terhadap jaringan. Semua sel mamalia

yang berproliferasi akan melewati siklus sel yang terdiri dari beberapa fase yaitu mitosis, sintesis protein dan sintesis RNA, sintesis DNA dan preparasi untuk pembelahan sel. Aktivitas yang meningkat pada sintesis protein ataupun sintesis RNA dalam nukleolus dikaitkan dengan peningkatan aktivitas proliferasi sel tersebut⁵².

Berbagai parameter telah banyak digunakan untuk menilai aktivitas proliferasi sel tumor. Metode pewarnaan AgNOR biasa digunakan untuk membedakan suatu jaringan normal hiperplasia dan keganasan. Darnton (1992) menyimpulkan bahwa metode pewarnaan Ag NOR ini lebih efektif digunakan untuk menilai aktivitas proliferasi dibandingkan dengan metode pewarnaan imunohistokimia (PCNA). Pada penelitian tersebut didapatkan sel-sel yang negatif untuk PCNA ternyata masih mengandung banyak butir Ag NOR²⁷.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa jumlah butir AgNOR sel kanker sebelum terapi radiasi pada kelompok respon radiasi histologi jelek lebih sedikit daripada jumlah butir AgNOR sebelum terapi pada kelompok respon radiasi histologi baik (tabel 3). Hal ini berarti bahwa aktivitas proliferasi sel sebelum terapi radiasi pada kelompok RRJ lebih rendah dibandingkan dengan kelompok RRB. Hasil ini sesuai dengan Hukum Bergonie – Tribondeau yang menyatakan bahwa semakin tinggi aktivitas proliferasi suatu sel maka semakin sensitif sel tersebut terhadap radiasi, sehingga aktivitas proliferasi yang rendah cenderung memberikan respon radiasi histologi yang jelek²⁰.

Hasil penelitian di atas juga sesuai dengan hasil penelitian Nakano, dkk (1993) yang melakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal Ki-67 pada penderita KSU stadium Ib - IVa dan mengamati bahwa penderita-penderita yang ber indeks Ki-67 sebesar 33% atau lebih menunjukkan respon yang lebih baik secara bermakna dibandingkan dengan penderita yang berindeks Ki-67 kurang dari 33%, sehingga disimpulkan bahwa tumor-tumor dengan fraksi pertumbuhan yang tinggi menunjukkan suatu prognosis yang baik terhadap terapi radiasi²¹.

Agar hasil penelitian ini dapat digunakan dalam aplikasi klinik, terutama dalam kaitannya dengan terapi radiasi atau perencanaan pemberian kombinasi sitostatika, maka perlu ditetapkan batasan aktifitas proliferasi tinggi dan rendah. Melalui penentuan nilai titik potong (*cut of point*) jumlah butir AgNOR (gambar 2 dan tabel 4), didapatkan jumlah butir AgNOR yang sesuai dengan *cut of point* yaitu sebesar 4. Berdasarkan jumlah butir AgNOR ini, ditemukan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok aktifitas proliferasi rendah dan kelompok aktifitas proliferasi tinggi, berhubungan dengan hasil terapi radiasi. Sebanyak 27 penderita (91,8%) diantara penderita dengan aktifitas proliferasi rendah memperlihatkan hasil RRJ. Sebanyak 6 penderita (16,2%) diantara penderita dengan aktifitas proliferasi tinggi menunjukkan hasil RRJ.

Dari perhitungan rasio odds didapatkan bahwa penderita karsinoma epidermoid serviks uteri dengan aktifitas proliferasi yang rendah, akan memberikan hasil RRJ 16,7 kali daripada aktifitas proliferasi tinggi. Ini berarti bahwa sel dengan aktifitas proliferasi yang tinggi lebih sensitif terhadap radiasi daripada sel dengan aktifitas proliferasi rendah.

Sensitifitas sel terhadap radiasi sangat berhubungan dengan posisi sel secara individual pada fase-fase dalam siklus sel. Pada populasi sel yang sedang tumbuh, proporsi sel pada tiap-tiap fase tersebut konstan, proporsi sel tersebut proporsional sampai waktu yang diperlukan untuk aktifitas seluler utamanya. Beberapa penulis menyatakan bahwa sel-sel yang berada pada fase $G_2 - M$ relatif lebih sensitif terhadap radiasi dibandingkan sel-sel pada fase $G_1 - S$. Ini sesuai dengan penelitian secara eksperimental oleh Terasima dan Tolmach (1963) yang dikutip oleh Belli (1993) yang mensinkronkan sel-sel pada fase M dan menetapkan ketahanan masing-masing sel terhadap radiasi. Jika terjadi satu penyinaran radiasi, maka populasi sel dalam fase $G_2 - M$ menjadi sangat berkurang dan diikuti oleh proses redistribusi, yaitu proses pengisian kembali fase tersebut. Pada penyinaran berikutnya diharapkan fase $G_2 - M$ ini telah

terisi kembali oleh populasi sel yang rentan terhadap radiasi, sehingga semakin cepat sel berproliferasi maka semakin cepat redistribusi sel-sel masuk ke dalam fase $G_2 - M$, dan semakin cepat waktu yang diperlukan untuk membunuh seluruh sel-sel pada tumor tersebut ⁵⁰.

Dalam jaringan tumor biasanya terdapat sejumlah sel-sel yang hipoksik. Keadaan ini akan menyebabkan sel-sel tersebut mengalami perlambatan dalam pertumbuhannya. Oleh karena itu waktu siklus sel akan bertambah panjang termasuk fase sintesis. Sel-sel yang tidak mengadakan sintesis dan masih hidup akan tetap dalam keadaan diam (G_0). Setelah terkena radiasi, sel-sel eusik yang mati akan digantikan oleh sel-sel hipoksik yang berada dalam fase G_0 untuk masuk ke fase G_1 . Dengan demikian radiasi yang dilakukan secara fraksinasi akan menyebabkan terjadinya reoksigenasi, sehingga sel-sel tumor yang hipoksik akan lebih sensitif pada fraksi penyinaran berikutnya ⁶⁰.

Penelitian ini menggunakan metode pewarnaan AgNOR yang mengekspresikan aktifitas proliferasi pada fase interfase ($G_1 - S - G_2$). Jika aktifitas proliferasi ini tinggi maka semakin cepat sel-sel tersebut masuk ke dalam fase $G_2 - M$, di mana kondisi ini juga akan memberikan prognosis yang baik terhadap respon radiasi. Jika terjadi aktifitas proliferasi yang lambat pada siklus sel, maka akan memberi waktu kepada sel untuk memperbaiki kerusakan DNA (*repair*), sehingga sel-sel tersebut menjadi lebih resisten dan akan memberikan prognosis yang buruk terhadap respon radiasi ⁵².

Salah satu penyebab kegagalan terapi radiasi adalah adanya percepatan proliferasi yang terjadi dalam waktu terapi radiasi (*accelerated tumor clonogen repopulation*). Hal ini dapat terjadi apabila masih terdapat sel-sel kanker yang bertahan hidup setelah pemberhentian sementara sejumlah dosis radiasi sebelum terapi selesai. Beberapa penulis berpendapat bahwa lama waktu total radiasi dapat mengurangi efektifitas terapi radiasi dan menurut Oka (1993) yang dikutip oleh Tsang (1999) pada karsinoma serviks uteri menunjukkan bahwa aktifitas proliferasi

dapat meningkat setelah 12 minggu pada waktu terapi radiasi fraksinasi, sehingga waktu total pemberian sejumlah dosis radiasi yang direncanakan hendaknya selesai sesuai yang ditentukan, sehingga sel-sel tumor tersebut belum sempat melakukan percepatan proliferasi ²⁶.

BAB VII

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini :

1. Terdapat perbedaan tingkat aktifitas proliferasi sebelum terapi antara hasil respon radiasi histologi jelek dan respon radiasi histologi baik.
2. Respon radiasi histologi jelek mempunyai aktifitas proliferasi sebelum terapi yang lebih rendah daripada respon radiasi histologi baik.
3. Aktifitas proliferasi rendah (butir Ag NOR < 4) mempunyai risiko hasil respon radiasi histologi yang jelek 16,7 kali dibanding aktifitas proliferasi tinggi (butir Ag NOR ≥ 4).

BAB VIII

SARAN

1. Penggunaan secara rutin metode pewarnaan AgNOR sebagai parameter aktifitas proliferasi sel.
2. Penderita dengan aktifitas proliferasi yang rendah (jumlah butir AgNOR < 4) dapat dipertimbangkan untuk pemberian terapi radiasi sitostatika.
3. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik, perlu dilakukan penelitian prospektif lanjut yang dikaitkan dengan *5 years survival rate*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sianturi HR. Deteksi dan penanganan prakanker genitalia wanita. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995.p.1 – 7.
2. Sarjadi, Hartini PT. Cancer registration in Indonesia. Asian Pasific J Cancer Prev 2001; IACR Supplement ,2: 21 – 4.
3. Sarjadi, Padmi T. Insiden kanker penduduk Semarang tahun 1990 – 1999. Media Medika Indonesia. Fakultas Kedokteran Undip Semarang2001;36 ,1 : 15 – 21.
4. Sahli MF. Karsinoma serviks uteri. Deteksi dini dan penanggulangannya. Cermin dunia kedokteran1992; edisi khusus, 80:14-6.
5. Schiffman MH, Brinton LA. The epidemiology of cervical carcinogenesis. Cancer suplement 1995 ; 76,10: 1888 – 901
6. Warsito B. Management of cervical cancer. Presented at the 2nd course on immunopathology, basic and clinical immunopathology on cancer. Yoyakarta ; 2000.
7. Hatch KD, Fu YS. Cervical and vaginal cancer. In : Berek JS, Adashi EY, Hillard PA. Novak's Gynecology. 12th ed. Baltimore : Williams & Wilkins; 1996 .p. 1111 – 41.
8. Rosai J. Ackerman's. Surgical pathology. 8th ed. Philedelphia : Mosby Year Book; 1996 .p. 1353 – 91.
9. Files AW, Pintilie M, Kirbride P, Levin W, Manchul LA, Rawlings GA. Prognostic factors in patiens with cervix cancer treated by radiation therapy : results of a multiple regression analysis. Radiotherapy and oncology 1995;35: 107 – 17.
10. Symonds P. Tumor growth rate, not delayed presentation, determine cervical cancer stage. Br. J. Cancer 2000; 83 : 556 – 68.
11. Djuita F, Pengalaman klinis kemoradiasi pada karsinoma leher rahim di Rumah Sakit Kanker “ Dharmais “. Raker Perhimpunan Onkologi Radiasi Indonesia. Jakarta; 2001.

12. Kavanagh JJ, Kudelka AP, Edwards LC. Gynecologic cancer. In: weiss GR. Clinical Oncology. London : Prentice – Hall International, Inc; 1993 .p. 202 – 3.
13. Sutoto, Wibowo B. Management result of gynecological cancer. Jakarta International Cancer Conference (JICC); 1995.
14. Feldmeier JJ. Radiation oncology. In : Weiss GR. Clinical oncology. London : Prentice – Hall International, Inc; 1993 .p. 74 – 88.
15. Van Der Valk P. Practical pathology of the cel cycle. Dalam: Simposium dan lokakarya teknik mutakhir dalam bidang patologi untuk pelayanan dan penelitian kanker. Jakarta ; 1998.
16. Constantinides P. General pathobiology. USA : Appleton Lange; 1994.p. 239 – 85.
17. Hanham IWF. Radiation therapy. In: Hossfeld DK, Sherman CD. Manual of clinical oncology. 5th ed. New York : Springer – Verlag; 1990 .p. 114 – 21.
18. Bosman FT. Aspek – aspek fundamental kanker. Dalam : Van de Velde CJH, Bosman FT, Wagener DJTh Onkologi. Alih bahasa : Arjono. Panitia Kanker RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta; 1996.p. 3 – 35.
19. Begg AC. Cell proliferation in tumor. In: Steel G. Basic clinical radiology. 2nd ed. New York : Oxford University Press, Inc; 1997 .p.14– 5.
20. Http: // www 2. slac.stanford. edu/vvc/egs/real/cancer theory.html. Golnick;1994.
21. Nakano T, Oka K, Differential values of ki – 67 index and mitotic index of proliferating cell population. An assessment of cell cycle and prognosis in radiation therapy for cervical cancer. Cancer 1993; 72 : 2401 – 8.
22. Paxton JR, Bolger BS, Armour A, Symonds RP, Mao JH, Burnett RA. Apoptosis in cervical squamous carcinoma : predictive value for following radiotherapy. J Clin Pathol 2000 ; 53, 3 : 197 – 200.
23. Begg AC, Hofland I, Moonen L, Bartelink H, Schraub S. The predictive values of cell kinetic measurements in a European trial of accelerated fractionation in advanced head and local tumours: an interim report. Int. J. Radiation. Oncology biol. Phys 1990;19 :1949–53.

24. Dauglas E, Merkel , William L, Mc Guire . Ploidy, proliferative activity and prognosis. DNA flow cytometry of solid tumour .Cancer 1990 ; 65: 1191 – 205.
25. Tsang RW, Fyles AW, Li Y, Rajaraman MM, Chapman W, Pintilie M, et al. Tumor proliferation and apoptosis in human uterine cervix carcinoma I : correlations between variables. Radiotherapy and oncology 1999; 50 : 85 – 92.
26. Tsang RW, Wong CS, Fyles AW, Lewin W, Manchul LA, Milosevic M, et al. Tumor proliferation and apoptosis in human uterine cervix carcinoma II : correlations with clinical outcome. Radiotherapy and oncology 1999; 50 : 93 – 101.
27. Darnton SJ, Gray MR, Crocker J. Another cautionary note on the use of PCNA and AgNORs as markers of proliferations. Journal of pathology 1992; 168 : 87.
28. Coates PJ, Hales SA, Hall PA. The association between cell proliferation and apoptosis. Studies using the cell cycle – associated protein Ki 67 and DNA polymerase alpha. Journal of pathology 1996 ;178: 71 – 7.
29. Cole DJ, Brown DC. Crossley E, Alcock CJ, Gatter KC. Carcinoma of the cervix uteri : an assesment of the relationship of tumour proliferations to prognosis.Br.J.Cancer 1992; 65: 783-5.
30. Derenzini M, Sirri V, Trere D. Necleolar organizer regions in tumor cell. The cancer journal 1994; 7, 2.
31. Ghozali A, Harijadi. Pewarnaan nucleolar organizer region (AgNOR) pada perubahan fibrokistik payudara. Berkala ilmu kedokteran 1997;29,2 : 47 – 52.
32. Schwint AE, Savino TM, Lanfranchie HE, Warschoff E, Cabrini RL, Itolz ME. Ephithelium adjacent to squamous cell carcinoima of human oral mucosa. Cancer 1994; 73,11 : 2774 – 8.
33. Taufik E, Kanoko M, Lestari S. Pewarnaan AgNORs pada epitel normal dan karsinoma serviks. Kumpulan makalah lengkap KONAS IAPI X. Jakarta; 1990 : 82 – 3
34. Fonseca LMS, Do Carmo MAV. AgNORs in hiperplasia, papilloma dan oral squamous cell carcinoma. Braz. Dent J 2000; 11,2 : 105 – 10.
35. Pich A, Chirole R, Chiusa L, palestro G. Argyrophilic nucleolar organizer regions counts predict survival in thymoma. American Journal 1994; 74,5 : 1568 – 73.

36. Miller B, Flax S, Docter M, Photopolus G. Nucleolar organizer in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1994;74,12 : 3142 – 5.
37. Arumi M, Alameda F, Galite E, Serrano S. Value of AgNORs in predicting behavior of meningioma. *Journal of pathology and histology* 1996;2,4 : 964 – 5.
38. [Http : // www.bhj.org/journal/2000 – 4204 – oct 00/or – 589 – htm](http://www.bhj.org/journal/2000-4204-oct00/or-589-htm). Singhal R, Pandey LK. Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in pre cancerous and cancerous lesions of cervix.
39. Shingleton HM, Orr JW. The cytology and histopathology of cervical cancer. In : *Cancer of the cervix*. Philadelphia: JB. Lippincott Company; 1995 .p. 71 – 91.
40. Sarjadi. *Patologi ginekologik*. Cetakan pertama. Jakarta : Hipokrates; 1982 .p. 44 – 64.
41. Drinkwater NR, Sugden B, Mechanism of carcinogenesis. In: Hossfeld DK, Sherman CD. *Manual of clinical oncology*. 5th ed. New York : Springer Verlag; 1990 .p. 7 – 19.
42. Lazo PA. The molecular genetics of cervical carcinoma. *Br. J. Cancer* 1999 ; 80 ,12 : 1008 – 18.
43. Crum CP. Female genital tract. In : Contran RS, Kumar V, Robbins SL. *Pathologic basis of disease*. 5th ed. Philadelphia : WB. Saunders Company; 1994 .p. 1047 – 53.
44. Wiknyosastro H. *Ilmu kandungan*. 2nded. Jakarta:Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirorahardjo; 1997 .p. 380 – 446.
45. FIGO. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. *Int. J. Gynecol & obstet* 2000 ; 70 : 209 – 62.
46. Maadonald F, Ford CHJ. *Molecular biology of cancer*. 1st ed. Oxford: BIOS Scientific Publishers Limited; 1997.p.131 – 5.
47. Barber HRK. *Manual of gynecologic oncology*. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott ; 1989 .p. 106 – 16.
48. Sutoto, Suprijono, Adiyono W. Uterine cervix carcinoma treated with radiotherapy and high – dosage mitomycin C, result after 4 years. *Proceeding 2nd Asean Conference on Gynecological Cancer Chemotherapy Trials*. Bali; 1988.
49. Young RC, Thomas GM. General principles of cancer therapy. In : Berek JS, Adashi EY, Hillard PA. *Novak's Gynecology*. 12nd ed. Baltimore : Williams & Wilkins; 1996 .p. 1015 – 20.

50. Belli JA. The radiobiologic basic for radiation therapy. In : Knapp RC, Berkowit RS. Gynecologic oncology. 2nd ed. New York : Mc Graw – Hill International; 1993 .p. 109 – 38.
51. Leer JWH, Van Der Schueren E. Prinsip – prinsip radioterapi. Dalam: Van de Velde CJH, Bosman FT, Wagener DJT. Oncologi. ed 5. Alih bahasa : Arjono. Panitia Kanker RSUP Dr. Sarjito Yogyakarta; 1996.p. 202 – 15.
52. Mc Millan TJ. Genetic control of the cellular response to ionizing radiation. In : Steel GG. Basic clinical radiobiology. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 1997 .p. 71 – 7.
53. Nur Azhar T, Wijaya I, Zulfa A. Dasar biologi molekular. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2000.p. 29-38.
54. Argadikoesoema SG. Faktor prediksi respons radiasi pada karsinoma nasofaring. Tinjauan khusus pada aktivitas proliferasi dan ekspresi epstein barr virus-latent membrane protein (disertasi). Jakarta: Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia; 1998.
55. Fingert HJ, Campisi J, Pardee AB. Molecular biology and bio chemistry of cancer. In : Knapp RC, Berkowitz RS. Gynecologic oncology. New York: Mc Graw – Hill, Inc; 1993 .p. 3 – 30.
56. Pudjirahardjo WJ, Poernomo H, Machfoed H. Metode penelitian dan statistik terapan. Surabaya : Airlangga University Press; 1993 .p. 49 – 58.
57. Tenka L, Yuwono VD, Marwoto W. Hubungan antara nilai AgNORs dengan tipe histologik, derajat histologik dan invasi perineural karsinoma adenoid kistik kelenjar liur. Majalah Patologi 2000;9,1dan2.
58. Cohen HJ. Biology of aging as related to cancer. Cancer (Suppl) : 74, 1994 : 2092 – 100.
59. Prehn RT. Neoplasia. In : Hill RD. Lavia MF. Principles of pathobiology. New York. Oxford University Press, 1980 : 200 – 44.
60. Cholid B. Pengaruh hipoksia dalam radioterapi. Majalah Radiologi Indonesia 1996;2 : 44 – 9.