

**HUBUNGAN NILAI AgNOR PRA DAN PASCA KEMORADIASI
DENGAN RESPON RADIASI PADA PENDERITA KARSINOMA
EPIDERMOID SERVIKS UTERI STADIUM LANJUT**



Irawan

TESIS

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2008**

Judul Tesis : **HUBUNGAN NILAI AgNOR PRA DAN PASCA
KEMORADIASI DENGAN RESPON RADIASI PADA
PENDERITA KARSINOMA EPIDERMOID SERVIKS
UTERI STADIUM LANJUT**

Ruang Lingkup : Obstetri dan Ginekologi

Pelaksana Penelitian : dr. Irawan

NIM : G3D002053

Pembimbing : dr. Bambang Suyono, SpOG(K)
dr. Herman Kristanto, MS, SpOG(K)

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Bambang Suyono, SpOG (K)

SpOG(K)

NIP. 130 354 862

Ketua Bagian
Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran UNDIP

dr. Herman Kristanto, MS,

NIP. 131 844 805

Ketua Program Studi PPDS I
Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran UNDIP

dr. Herman Kristanto,MS, SpOG(K)

SpOG(K)

NIP. 131 844 805

dr. Syarif Thaufik Hidayat,

NIP.140 067 785

KATA PENGANTAR

Teriring doa dengan sejuta asa, puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT, karena berkat Ridlo, Hidayah dan InayahNya penulis dapat menyelesaikan penelitian tesis dengan judul **Hubungan penurunan nilai AgNOR dengan respon radiasi pada penderita karsinoma serviks uteri stadium lanjut yang mendapat terapi kemoradiasi.**

Penelitian ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri Ginekologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Dengan segala kerendahan hati, penulis menyadari bahwa segala kesempurnaan hanya milik Yang Maha Sempurna, oleh karena itu sumbangan asupan, saran dan kritik yang membangun dari berbagai pihak atas penelitian tesis ini sehingga lebih berbobot dan bermanfaat di masa mendatang. Semoga tesis ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan dalam bidang Obstetri dan Ginekologi, khususnya yang berhubungan dengan karsinoma serviks uteri.

Semarang, Januari 2008

Irawan

HUBUNGAN NILAI AgNOR PRA DAN PASCA KEMORADIASI DENGAN RESPON RADIASI PADA PENDERITA KARSINOMA EPIDERMOID SERVIKS UTERI STADIUM LANJUT

Irawan, Bambang Suyono, Herman Kristanto
Bagian Obstetri dan Ginekologi

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro – Semarang

Latar belakang : Karsinoma serviks uteri (KSU) merupakan masalah wanita yang penting, terutama di negara berkembang. Keganasan ini merupakan jumlah terbanyak kedua dari seluruh keganasan pada wanita di seluruh dunia termasuk Indonesia karena kebanyakan penderita datang sudah dalam keadaan terlambat yaitu pada stadium lanjut (KSU-SL) sehingga pengobatan yang dapat diberikan adalah radioterapi. Selama ini faktor histopatologi berupa derajat diferensiasi merupakan faktor prognosis pada penderita KSU. Selama ini KSU berdiferensiasi jelek dianggap mempunyai prognosis lebih buruk oleh karena diduga mempunyai aktivitas proliferasi sel lebih tinggi dibanding diferensiasi baik. Aktivitas proliferasi dapat dinilai dengan hitung AgNOR (*argyrophilic nucleolar organizer region*) merupakan salah satu parameter statis penilaian aktivitas proliferasi yang mudah, sederhana dan tidak mahal.

Tujuan : Untuk membuktikan peran aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) sebagai prediktor respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL.

Metode : Rancangan penelitian adalah uji diagnostik. Penelitian dilakukan di Poliklinik Ginekologi Khusus dan Laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP/RSUP. Dr. Kariadi Semarang mulai Agustus sampai bulan Desember 2007. Didapatkan 56 subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi. Dari 56 subyek penelitian tersebut berdasarkan kriteria eksklusi diperoleh 48 subyek yang tidak dapat dianalisis karena sediaan pasca terapi gambaran bintik AgNOR tidak dapat tervisualisasi.

Hasil : Karakteristik penderita menunjukkan bahwa rerata umur adalah 47,42 tahun. Stadium keganasan yang terbanyak adalah stadium III B yaitu 58,3% dengan sebagian besar diferensiasi sel ganas diketahui diferensiasi baik yaitu 37,5%. Sebanyak 41 (85,4%) penderita mendapatkan Platinin Neoadjuvant sekali dan 23 (47,9%) penderita mendapatkan Platinin Concomitant 5 kali. Pada kedua stadium juga didapatkan jumlah penderita dengan respon radiasi histopatologis terbanyak adalah baik sebesar 36 (75%) penderita. Terdapat hubungan antara hitung AgNOR pra terapi dengan respon radiasi histopatologis dengan *cut of point* adalah 7,6 dimana hitung AgNOR pra terapi >7,6 mempunyai risiko 7,3 kali menyebabkan RRH jelek-moderat dibandingkan hitung AgNOR pra terapi ≤7,6 ($p < 0,05$).

Simpulan : Hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dapat digunakan sebagai prediktor respon radiasi histopatologis dan terdapat hubungan antara penurunan aktivitas proliferasi (nilai hitung AgNOR) dengan respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL yang mendapat terapi kemoradiasi dimana semakin besar penurunan nilai hitung AgNOR semakin jelek RRHnya.

Kata kunci : hitung AgNOR, karsinoma epidermoid serviks uteri, aktivitas proliferasi.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Daftar Isi	iii
Daftar Gambar	v
Daftar Tabel	v
Daftar Lampiran	vi

BAB 1. PENDAHULUAN

Latar belakang	1
Permasalahan	4
Keaslian penelitian	4
Tujuan penelitian	6
Manfaat penelitian	6

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1.Karsinoma serviks uteri	7
2.1.1. Pengertian	7
2.1.2. Epidemiologi	7
2.1.3. Etiologi dan patobiologi	8
2.1.4. Gejala dan tanda	9
2.1.5. Diagnosis	10
2.1.6. Histopatologi	11

2.1.7. Stadium klinis	12
2.1.8. Terapi	14
2.2.Dasar Radiobiologi Terapi Karsinoma Serviks Uteri	15
2.2.1. Faktor prognosis	21
2.2.2. Fraksinasi dalam radiasi	22
2.3. Aktivitas proliferasi dan hitung AgNOR.....	24
2.4.Patofisiologi	31
2.5.Kerangka teori.....	32
2.6.Kerangka konsep	33
BAB 3. HIPOTESIS	26
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN	
4.1. Rancangan penelitian	27
4.2. Tempat dan waktu penelitian	27
4.3. Subyek penelitian	27
4.3.1. Kriteria inklusi	27
4.3.2. Kriteria eksklusi	27
4.3.3. Kriteria drop out	27
4.4. Besar sampel	27
4.5. Cara pengambilan sampel	28
4.6. Teknik kemoradiasi	29
4.7. Penilaian respon terapi	30
4.8. Variabel penelitian	30
4.9. Batasan operasional	30

4.10. Analisis statistik	31
4.11. Etika penelitian	32
4.12. Alur penelitian	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Siklus sel19
Gambar 2. Bintik AgNOR21

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Stadium karsinoma serviks uteri menurut FIGO 200010
--	---------

DAFTAR LAMPIRAN

Lembar Informed Consent	i
Lembar Persetujuan Peserta Penelitian	ii
Lembar Penelitian	iii

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang penelitian

Karsinoma serviks uteri (KSU) merupakan masalah wanita yang penting, terutama di negara berkembang. Keganasan ini merupakan jumlah terbanyak kedua dari seluruh keganasan pada wanita di seluruh dunia¹. Di Amerika Serikat didapatkan 13.000 kasus baru dimana keganasan ini mengakibatkan 4100 kematian pada tahun 2002². Di Indonesia sendiri KSU merupakan keganasan terbanyak pada wanita dengan estimasi insidensi 25-40 per 100.000 wanita per tahun³.

Di Indonesia KSU menjadi perhatian penting karena kebanyakan penderita datang sudah dalam keadaan terlambat yaitu pada stadium lanjut (KSU-SL) sehingga pengobatan yang dapat diberikan adalah radioterapi³⁻⁵. Secara epidemiologi beberapa faktor resiko adalah usia muda saat koitus pertama (<16 tahun), pasangan seksual yang berganti-ganti, merokok, ras, paritas tinggi dan status sosial ekonomi yang rendah⁴.

Selama ini faktor histopatologi berupa derajat diferensiasi merupakan faktor prognosis pada penderita KSU. Semakin buruk derajat diferensiasi suatu KSU maka semakin buruk pula prognosinya. Pada KSU dengan diferensiasi baik angka ketahanan hidup 5 tahun mencapai 75%, sedangkan pada KSU dengan diferensiasi sedang dan buruk, angka ketahanan hidup 5 tahun turun menjadi 64% dan 51%⁶.

Dengan bertitik tolak dari proses terjadinya kanker (*onkogenesis*) dikaji berbagai faktor yang mungkin berpengaruh. Kanker adalah proliferasi sel yang

berlebih-lebihan, tak terkendali, tak mengikuti kaidah-kaidah pertumbuhan sel normal. Proliferasi berlebihan ini terjadi akibat mutasi gen. Mutasi genetik timbul secara bertahap, akibat *hit* yang merubah urutan nukleotida (*multihit theory*). Pertumbuhan sel normal dipengaruhi oleh keseimbangan antara onkogen, tumor supressor gen, *repair gene* dan *apoptosis gene*. Onkogen merupakan gen yang merangsang proliferasi sel, sedangkan tumor supressor gen menghambat proliferasi. Dengan demikian aktifitas proliferasi sel dipengaruhi oleh ekspresi onkogen, tumor supressor gen maupun *repair gene* dan *apoptosis gene*. Hasil dari aktivitas berbagai gen tersebut menyebabkan proliferasi sel yang tak terkendali, secara klinik akan tumbuh benjolan (kanker) yang pada akhirnya berkembang menjadi stadium lanjut⁷⁻⁹.

Selama ini KSU berdiferensiasi jelek dianggap mempunyai prognosis lebih buruk oleh karena diduga mempunyai aktivitas proliferasi sel lebih tinggi dibanding diferensiasi baik. Untuk menilai aktivitas proliferasi pada keganasan serviks uteri belum digunakan pendekatan tingkat molekuler. Berbagai penelitian pada dekade terakhir ini menunjukkan hubungan yang erat antara potensi keganasan dengan lesi di tingkat molekuler. Aktivitas proliferasi dapat dinilai baik dengan parameter statis maupun dinamis. Hitung AgNOR (*argyrophilic nucleolar organizer region*) merupakan salah satu parameter statis penilaian aktivitas proliferasi yang mudah, sederhana dan tidak mahal. Hitung AgNOR ini berupa bintik kehitaman sebagai protein yang dihasilkan oleh kromosom 13 yang akan tampak dengan pengecatan perak (AgNOR) yang menggambarkan aktivitas proliferasi sel kanker^{8,10-12}.

Proliferasi merupakan salah satu sifat biologik sel yang mempunyai peran dalam mempengaruhi efek radiasi pada sel bersangkutan karena telah diketahui

bahwa sel yang sensitif terhadap radiasi adalah sel dalam fase gap 2 (G2) dan mitosis (M) dalam siklus proliferasi^{8,12-14}.

Berdasar konsep yang telah dijelaskan di atas maka diperlukan suatu sistem untuk mendeteksi dan memprediksi potensi keganasan secara lebih mendasar. Penilaian derajat keganasan dengan *Histological Grading* dan *Clinical Staging* perlu dilengkapi *Molecular Grading System* ini.

1.2 Permasalahan Penelitian

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

- Apakah terdapat perbedaan antara aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) pra dan pasca terapi kemoradiasi pada penderita KSU-SL?
- Apakah terdapat peran aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) sebagai prediktor respon radiasi pada penderita KSU-SL?
- Berapakah nilai batas (*cut of point*) hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi yang dapat digunakan sebagai prediktor respon radiasi histopatologis?
- Apakah terdapat hubungan penurunan aktivitas proliferasi (nilai hitung AgNOR) dengan respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL?

1.3 Keaslian penelitian

Beberapa penelitian mengenai hitung AgNOR dan peran aktivitas proliferasi dalam keganasan telah dilakukan di dalam maupun luar negeri.

Penelitian cross sectional oleh Torres dkk di Cadiz, Spanyol tahun 2000, meneliti 40 kasus penderita penyakit Hodgkin. Penelitian ini mendapatkan hubungan antara hitung AgNOR dan UBF sebagai petanda apoptosis pada penyakit Hodgkin²². Penelitian cohort prospective oleh Derenzini M dkk di Bologna, Italia tahun 2004 meneliti 335 pasien karsinoma mammae. Penelitian ini mendapatkan hubungan hitung AgNOR terhadap ukuran tumor, grading histopatologi dan invasi kelenjar limfe pada keganasan payudara²³. Penelitian cross sectional oleh Korneyev IA dkk di St Petersburg, Rusia tahun 2000 meneliti 62 kasus karsinoma sel transisional kandung kemih. Penelitian ini membuktikan hubungan antara hitung AgNOR dengan grading histopatologi tumor dan rekurensi tumor serta merupakan prediktor periode bebas tumor dan kekambuhan penyakit pada karsinoma transisional kandung kemih²⁴. Penelitian cohort prospective di Zagreb, Croatia oleh Eminovic S dkk tahun 2000, meneliti 94 pasien karsinoma kolorektal. Penelitian ini membuktikan hubungan antara hitung AgNOR, terhadap staging tumor berdasar Dukes, DNA ploidy dan grading histopatologi pada karsinoma kolorektal²⁵. Penelitian cross sectional oleh Lumachi F dkk di Padova, Italia tahun 2004, meneliti 15 penderita karsinoma paratiroid. Penelitian ini membuktikan hubungan antara hitung AgNOR terhadap index DNA pada karsinoma paratiroid²⁶. Penelitian cross sectional oleh Khanna AK dkk di Varanasi, India tahun 2005, meneliti 24 kasus karsinoma pankreas. Penelitian ini

Tabel 1. Keaslian penelitian

Peneliti	Tahun	Tempat	Sampel	Desain	Hasil
Torres dkk	2000	Cadiz, Spanyol	40	Cross sectional	Hubungan hitung AgNOR dan UBF sebagai petanda

						apoptosis pada penyakit Hodgkin.
Derenzini M dkk	M	2004	Bologna, Italia	335	Cohort prospective	Hubungan hitung AgNOR terhadap ukuran tumor, grading histopatologi dan invasi kelenjar limfe pada keganasan payudara.
Korneyev IA dkk	IA	2000	St.Petersburg, Rusia	62	Cross sectional	Hubungan hitung AgNOR dengan grading histopatologi tumor dan rekurensi tumor serta merupakan prediktor periode bebas tumor dan kekambuhan penyakit pada karsinoma transisional kandung kemih.
Eminovic S dkk	S	2000	Zagreb, Croatia	94	Cohort prospective	Hubungan antara hitung AgNOR terhadap staging tumor Dukes, DNA ploidy dan grading histopatologi pada karsinoma kolorektal.
Lumachi F dkk	F	2004	Padova, Italia	150	Cross sectional	Hubungan antara hitung AgNOR terhadap indeks DNA pada karsinoma paratiroid.
Khanna dkk		2005	Varanasi, India	24	Cross sectional	Hubungan antara hitung AgNOR terhadap ukuran tumor dan grading histopatologi pada karsinoma pankreas.
Mudigdo A	A	2002	Surabaya	56	Cross sectional	Peran p53,pRb dan c-myc dalam aktivitas proliferasi sel pada KSU dengan infeksi HPV 16 dan 18
Argadikoesoema SG dkk	SG	1998	Jakarta	47	Cross sectional	Peran aktivitas proliferasi sebagai faktor prediksi respon radiasi pada keganasan nasofaring.

membuktikan hubungan antara hitung AgNOR terhadap ukuran tumor dan grading histopatologi pada karsinoma pankreas²⁷. Penelitian cross sectional oleh Mudigdo A

di Surabaya tahun 2002, meneliti 56 penderita karsinoma serviks uteri. Penelitian ini membuktikan peran p53, pRb dan c-myc dalam aktivitas proliferasi sel pada karsinoma serviks uteri dengan infeksi HPV 16 dan 18²⁸ Penelitian cross sectional oleh Argadikoesoema SG di Jakarta tahun 1998, meneliti 47 kasus karsinoma nasofaring. Penelitian ini membuktikan peran aktivitas proliferasi sebagai faktor prediksi respon radiasi pada keganasan nasofaring²⁹

1.4. Tujuan penelitian

1.4.1. Tujuan umum

- Untuk membuktikan peran aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) sebagai prediktor respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL?

1.4.2. Tujuan khusus

- Untuk membuktikan apakah terdapat perbedaan aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) pra dan pasca terapi kemoradiasi.
- Untuk mencari nilai batas (*cut of point*) hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi yang dapat digunakan sebagai prediktor respon radiasi histopatologis.
- Untuk membuktikan apakah terdapat hubungan penurunan aktivitas proliferasi (nilai hitung AgNOR) dengan respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL.

1.5 Manfaat penelitian

- **Manfaat keilmuan** : memberikan wawasan ilmiah tentang aktivitas proliferasi khususnya pemeriksaan hitung AgNOR dengan mengetahui

perubahan nilai hitungnya (pra dan pasca terapi kemoradiasi) dan hubungannya dengan respon radiasi histopatologis.

- **Manfaat pelayanan kesehatan** : diharapkan penelitian ini dapat menambah alternatif pemeriksaan yang mudah dan untuk meramalkan respon radiasi.
- **Manfaat penelitian** : diharapkan penelitian ini sebagai pelengkap penelitian tentang faktor-faktor yang berpengaruh terhadap respon radiasi pada penderita KSU-SL.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Karsinoma Serviks Uteri

2.1.1. Pengertian

KSU adalah tumor ganas serviks uteri yang biasanya dimulai dari epitel serviks daerah transformasi antara ektoserviks dengan endoserviks. Terdapat 2 jenis histologi utama karsinoma yang sesuai dengan epitel yang terdapat pada serviks yaitu epidermoid yang berasal dari epitel skuamosa yang melapisi ektoserviks dan adenokarsinoma yang berasal dari epitel kelenjar di daerah kanalis endoserviks²⁴.

2.1.2. Epidemiologi

KSU masih merupakan keganasan yang sering dijumpai pada wanita dan lebih dari 90% merupakan jenis karsinoma sel skuamosa atau epidermoid²⁵. Di Amerika Serikat keganasan ini menempati urutan ketiga dari semua kanker ginekologi dan didapatkan lebih kurang 15.000 kasus baru pada tahun 1994. Sedangkan di negara berkembang penyakit ini masih menempati urutan pertama diantara penyakit kanker lainnya yang dialami oleh wanita²⁶

Di Indonesia diperkirakan angka kejadian kasus baru KSU sebesar 80-100 per 100.000 penduduk wanita²⁷. Data dari 15 laboratorium Patologi Anatomi menunjukkan kasus yang terbanyak adalah karsinoma serviks yaitu 16,5% pada tahun 1983 dan 18,4% pada tahun 1988²⁸. Di Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo selama kurun waktu 9 tahun yaitu sejak tahun 1984 sampai dengan tahun 1992, ditemukan sebanyak 1717 penderita kanker ginekologi, dimana 76,2% adalah kanker

serviks dan 62% penderita datang dalam stadium lanjut (stadium IIB – IV) 40,7% diantaranya adalah stadium IIIB²⁶. Sedangkan di RSUP dr. Kariadi Semarang selama tahun 1994 – 1996 karsinoma serviks menempati urutan pertama yaitu 76,2%²⁹ Pada tahun 1996 di RSUP dr Kariadi Semarang didapatkan 66% penderita datang pada stadium III dan IV sedangkan pada tahun 2000 didapatkan 87% penderita datang pada stadium III dan IV³⁰.

2.1.3. Etiologi dan patobiologi

Etiologi kanker serviks sampai saat ini masih belum diketahui secara pasti, tetapi faktor-faktor predisposisi keganasan ini telah banyak dikenal. Data epidemiologi yang tersusun selama akhir abad ini menyingkap kemungkinan adanya hubungan antara kanker serviks dengan agen yang dapat menimbulkan infeksi. Karsinogen ini bekerja pada daerah transformasi, menghasilkan suatu gradasi kelainan permulaan keganasan dan paling berbahaya bila terpapar dalam waktu 10 tahun setelah *menarche*. Risiko meningkatnya tumor ini terjadi pada wanita yang melakukan hubungan seksual pertama kali pada usia muda atau wanita yang mempunyai pasangan seksual berganti-ganti³¹.

Proses terjadinya karsinoma serviks sangat erat hubungannya dengan proses metaplasia. Masuknya bahan-bahan yang dapat mengubah perangai sel secara genetik atau mutagen pada fase aktif metaplasia dapat menimbulkan sel-sel yang berpotensi ganas. Perubahan ini biasanya terjadi di daerah transformasi. Mutagen tersebut berasal dari agen-agen yang ditularkan secara hubungan seksual, seperti sperma, virus herpes simpleks tipe 2 (VHS), klamidia dan *human papilloma virus* (HPV)³²⁻³⁶

Infeksi virus Epstein-Barr ditemukan juga pada bilasan serviks dan arena positif ratelya tinggi pada KSU virus ini diperkirakan juga berperan pada karsinogenesis KSU³⁵ Sel yang mengalami mutasi dapat berkembang menjadi sel displastik sehingga terjadi kelainan epitel yang disebut displasia. Dimulai dari displasia ringan, displasia sedang, displasia berat dan karsinoma in situ untuk kemudian berkembang menjadi karsinoma invasif. Meskipun suatu analisis statistik menetapkan jarak 3-10 tahun bagi perkembangan mencapai tahap perkembangan karsinoma in situ, kebanyakan kajian-kajian sitopatologik dan epidemiologik menunjukkan bahwa karsinoma in situ memerlukan waktu 10 tahun untuk berkembang menjadi karsinoma invasif³⁶⁻³⁷.

3 komponen utama pada patogenesis keganasan serviks, yaitu³¹ :

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.
3. Ada perubahan genetik berulang yang tak berkaitan dengan HPV.

2.1.4. Gejala dan tanda

KSU stadium dini biasanya tanpa gejala, namun jika lesi dapat terlihat secara makroskopis gejala yang umum ditemukan adalah perdarahan pervaginam yang abnormal. Sering perdarahan pervaginam ini terjadi setelah melakukan hubungan seksual. KSU akan membentuk pembuluh darah baru saat tumbuh. Pembuluh darah baru ini biasanya abnormal dan mudah pecah sehingga perdarahan merupakan tanda KSU. Pertumbuhan KSU yang berlebihan menyebabkan gangguan aliran darah

sehingga terjadi hipoksia. Hipoksia akan menyebabkan kematian sel dan jaringan mudah terinfeksi. Sehingga akan terjadi keputihan yang encer dan berbau busuk yang tidak sembuh walaupun telah mendapatkan terapi antibiotika²⁶.

Pertumbuhan KSU umumnya akan meluas ke dinding samping panggul dan sering menimbulkan obstruksi pada ureter yang melalui daerah panggul. Jika kedua ureter terkena maka akan menimbulkan gagal ginjal, koma dan kematian. Selain itu juga akan menekan persyarafan tungkai bawah dan menyebabkan nyeri tungkai yang menetap. Penyebaran sel-sel kanker melalui sistem limfatik juga sering menimbulkan obstruksi sehingga timbul edema pada tungkai. Umumnya gejala ini ditemukan pada stadium lanjut²⁶.

2.1.5. Diagnosis

Lesi tumor yang semakin besar akan semakin mudah pula untuk menegakkan diagnosis pada stadium lanjut, karena lesi yang besar mudah dilakukan biopsi. Hasil patologi anatomi biopsi ini merupakan diagnosis pasti. Pada lesi tumor yang hanya dapat dilihat secara mikroskopis perlu dilakukan tes Pap yang dilanjutkan dengan kolposkopi dan biopsi terarah. Tes Pap dengan hasil mencurigakan atau ditemukan sel ganas serta jika hasil kolposkopi tidak memberikan hasil yang memuaskan maka memerlukan biopsi konus untuk menegakkan diagnosis²⁶.

Pemeriksaan lain sebagai penunjang adalah darah rutin, faal ginjal, faal hepar, foto paru atau tulang, pielografi intravena, sistoskopi dan atau rektoskopi harus dilakukan pada stadium lanjut. Apabila terdapat kecurigaan penyebaran ke vesica urinaria dan rektum maka harus ditegakkan secara histopatologi biopsi. Pemeriksaan lain yang dapat dilakukan jika diduga terdapat metastasis dapat dilakukan *enema*

barium, *CT scan*, MRI dan limfangiografi. Pemeriksaan ini tidak selalu dikerjakan untuk menegakkan diagnosis³⁸.

2.1.6. Histopatologi

Beberapa jenis histopatologik yang ditemukan pada KSU adalah sebagai berikut³⁹ :

2.1.6.1.Squamous cell carcinoma

2.1.6.1.1.Keratinizing

2.1.6.1.2.Nonkeratinizing

2.1.6.1.3.Verrucous

2.1.6.1.4.Warty

2.1.6.1.5.Papillary

2.1.6.1.6.Lymphoepithelioma-like carcinoma

2.1.6.2.Adenocarcinoma

2.1.6.2.1.Mucinous adenocarcinoma

2.1.6.2.2.Endocervical type

2.1.6.2.3.Intestinal type

2.1.6.2.4.Endometrioid adenocarcinoma

2.1.6.2.5.Clear cell adenocarcinoma

2.1.6.2.6.Mesonephric adenocarcinoma

2.1.6.3.Other epithelial tumours

2.1.6.3.1.Adenosquamous carcinoma

2.1.6.3.2.Glassy cell carcinoma

2.1.6.3.3.Adenoid cystic carcinoma

2.1.6.3.4. Adenoid basal carcinoma

2.1.6.3.5. Carcinoid tumour

2.1.6.3.6. Small cell carcinoma

2.1.6.3.7. Undifferentiated carcinoma

Penggolongan derajat histopatologi karsinoma epidermoid serviks uteri adalah berdasarkan modifikasi sistem Broder seperti ditetapkan oleh WHO sebagai berikut⁴⁰ :

1. Gx-jenis histopatologi tidak dapat ditentukan.
2. G1-berdiferensiasi baik: sebagian besar berbentuk sel dewasa dengan aktivitas mitosis minimal dan sedikit pleiomorfik.
3. G2-berdiferensiasi moderat; ditemukan sedikit sel dengan sitoplasma berlebihan, aktivitas mitosis dan sel pleiomorfik lebih banyak dan batas antar sel kabur.
4. G3-berdiferensiasi jelek atau tidak berdiferensiasi, sebagian besar berbentuk sel muda yang pleiomorfik dengan aktivitas mitosis tinggi serta rasio inti-sitoplasma sangat meningkat.

2.1.7. Stadium klinis

Stadium klinis KSU adalah berdasarkan pemeriksaan klinis dan tidak akan berubah meskipun ditemukan adanya perkembangan lain. Stadium klinis ini ditentukan berdasarkan pemeriksaan ginekologi dengan menilai serviks, vagina, parametrium dan dinding samping panggul juga dengan memeriksa limfonodi di luar rongga panggul.

Tabel 2. Stadium Karsinoma Serviks Uteri menurut FIGO 2000³⁸

Stadium	Kategori
---------	----------

FIGO		TNM
	Tumor primer tidak diketahui	TX
	Tumor primer tidak terbukti	T0
0	Karsinoma pra invasif (karsinoma insitu)	Tis
I	Karsinoma serviks hanya pada uterus (penyebaran ke korpus uteri diabaikan)	T1
IA	Karsinoma invasif hanya terdiagnosis secara mikroskopis. Semua lesi yang tampak secara makroskopis bahkan dengan invasi yang superficial adalah stadium IB	T1a
IA1	Invasi ke stroma ≤ 3 mm dan penyebaran horizontal ≤ 7 mm	T1a1
IA2	Invasi ke stroma > 3 mm dan < 5 mm dengan penyebaran horizontal ≤ 7 mm	T1a2
IB	Lesi klinis tampak pada serviks atau lesi mikroskopis $> IA2$	T1b
IB1	Lesi ≤ 4 cm dalam ukuran terbesar	T1b1
IB2	Lesi > 4 cm dalam ukuran terbesar	T1b2
II	Tumor keluar dari uterus tapi tidak sampai dinding samping pelvis atau sepertiga distal vagina	T2
IIA	Tanpa invasi ke parametrium	T2b1
IIB	Dengan invasi ke parametrium	T2b2
III	Tumor menyebar ke dinding pelvis dan atau sampai sepertiga distal vagina atau menyebabkan hidronefrosis atau kegagalan fungsi ginjal	T3
IIIA	Tumor sampai sepertiga distal vagina tanpa penyebaran ke dinding samping Pelvis	T3a
IIIB	Tumor menyebar sampai dinding samping pelvis dan atau menyebabkan hidronefrosis atau kegagalan fungsi ginjal	T3b
IVA	Tumor menginvasi mukosa kandung kemih atau rectum dan atau keluar dari rongga panggul	T4
IVB	Metastasis jauh	M1

2.1.8. Terapi

Terapi karsinoma serviks uteri adalah berdasarkan stadium penyakit. Terapi bervariasi mulai dari terapi ablasi sampai dengan terapi radiasi dan atau terapi sitostatika. FIGO 2000 menetapkan prosedur tetap dalam penentuan terapi karsinoma serviks uteri⁴⁰.

2.1.8.1 Neoplasia Intraepitelial Serviks (NIS)/ Karsinoma In Situ

Terapi dapat berupa ablasi seperti terapi krio, kauter listrik, eksisi atau vaporisasi laser atau konisasi dengan laser, LEEP atau cold-knife.

2.1.8.2 Stadium IA1

Konisasi dapat dilakukan apabila kedalaman lesi diukur dari membran basalis kurang dari 3 mm dan jika tidak ditemukan infiltrasi pada kelenjar limfe dan pembuluh darah dan batas eksisi konus terlihat. Dapat juga dilakukan histerektomi total.

2.1.8.3 Stadium IA2,IB dan IIA

Terapi utama dapat berupa histerektomi radikal dan limfadenektomi pelvis bilateral. Terapi radiasi eksterna dan brakiterapi merupakan alternatif terapi pada stadium ini. Jika suatu infertilitas ingin dipertahankan maka dapat dilakukan trakelektomi radikal dan parametrektomi dengan limfadenektomi pelvis yang merupakan alternative terapi baru pada lesi yang kecil.

Lesi stadium IB2 yang dalam dan lesi serviks yang berbentuk silinder dapat diterapi dengan radiasi saja atau dengan histerektomi radikal dan limfadenektomi radikal. Tumor umumnya meluas ke samping dan daerah di tengahnya mengalami hipoksia sehingga tidak memberikan respon terapi radiasi yang baik. Terapi pada stadium ini adalah terapi radiasi yang dilanjutkan dengan limfadenektomi atau radiasi kelenjar limfe paraaorta pada saat operasi.

2.1.8.4 Stadium IIB,III dan IVA

Terapi yang utama adalah terapi radiasi eksterna dan brakiterapi. Dapat juga diberikan terapi kombinasi sitostatika Cisplatin dan radiasi yang menghasilkan hasil lebih baik sebesar 20% pada terapi karsinoma epidermoid serviks uteri dengan metastasis.

2.1.8.5 Stadium IVB

Pemberian terapi pada stadium ini hanya untuk mengurangi gejala yaitu terapi kombinasi kemoradiasi.

2.2. Dasar Radiobiologi Terapi Karsinoma Serviks Uteri

Terapi radiasi dapat digunakan untuk setiap stadium KSU namun pada stadium dini umumnya dicadangkan untuk penderita yang tidak layak operasi. Terapi radiasi eksterna ditambah brakiterapi adalah baku emas untuk karsinoma serviks uteri stadium lanjut⁴¹.

Radiasi eksterna digunakan untuk terapi pada daerah pelvis, lateral dari serviks yang dialiri limfonodi dan jaringan paraservikal. Keberhasilan terapi radiasi tergantung pada keadaan-keadaan sebagai berikut⁶ :

1. Perbedaan sensitivitas sel kanker terhadap radiasi terionisasi yang lebih besar dibandingkan dengan sel yang normal.
2. Kemampuan intraseluler sel normal untuk memperbaiki diri setelah radiasi lebih besar dari sel kanker.
3. Kondisi fisik penderita yang baik.

Terapi radiasi dapat diberikan melalui tiga cara, yaitu⁴²⁻⁴⁴ :

1. Teleterapi yaitu terapi sinar X yang diberikan dari jarak tertentu dari tubuh (terapi radiasi eksterna).
2. Brakiterapi yaitu sumber radiasi ditempatkan di dalam atau di dekat masa tumor (terapi intrakaviter atau interstitial)
3. Solusio radioaktif yaitu solusio yang mengandung radioisotop yang dimasukkan ke dalam kavum peritoneum untuk memberikan terapi pada dinding kavum tersebut.

Radiasi eksternal dapat berasal dari radiasi terionisasi yang berasal dari Co yang menghasilkan energi foton rata-rata sebesar 1,2 MeV. Selain itu dapat juga berasal dari pesawat *linear accelerator* yang menghasilkan sinar X energi tinggi dengan cara membombardir target seperti tungsten dengan partikel elektron yang dipercepat. Masing-masing teknik ini mempunyai kelebihan dan kekurangan dilihat dari segi efektivitas terapi, efek samping dan kelangsungan hidup penderita. Penelitian yang dilakukan di Semarang tahun 1996 menyimpulkan tidak ada perbedaan bermakna terhadap respon radiasi histopatologis dan klinis dari penggunaan kedua teknik teleterapi tersebut⁴⁵.

Efek maksimal dari radiasi terionisasi pada sel kanker akan didapatkan pada keadaan sirkulasi yang utuh dan baik serta oksigenasi sel yang adekuat. Persiapan penderita yang akan menjalani terapi radiasi harus sebaik mungkin. Kondisi penderita harus ditingkatkan semaksimal mungkin dengan diet tinggi protein, vitamin dan kalori. Kehilangan darah yang berlebihan harus dikendalikan dan hemoglobin harus dipertahankan di atas 10 g%^{6,46-47}.

Sel tumor memiliki kemampuan untuk tumbuh yang tidak terbatas dan mengalami angiogenesis yang berlebihan. Saat hal ini terjadi, beberapa daerah tertentu dari tumor mengalami defisiensi nutrisi tertentu termasuk oksigen. Pada keadaan ini sel-sel tumor masuk dalam fase istirahat di mana oksigen dihabiskan dan sel-sel menjadi hipoksia atau bahkan anoksia dan mengalami nekrosis. Terdapat dua jenis hipoksia pada keadaan ini, yaitu hipoksia karena keterbatasan difusi dan hipoksia karena keterbatasan perfusi. Hipoksia karena keterbatasan difusi sebagai akibat angiogenesis yang tidak adekuat. Pada keadaan ini sel-sel tumor pada radius

100-180 μm dari pembuluh darah tumor mengalami hipoksia kronis, karena oksigen dikonsumsi oleh sel-sel yang berada di dekat pembuluh darah^{42,45}. Sedangkan hipoksia karena keterbatasan perfusi adalah sebagai akibat tertutupnya pembuluh darah yang berulang sehingga terjadi keadaan hipoksia yang akut pada seluruh sel-sel tumor yang terletak di distal daerah obstruksi. Hal ini sangat penting dilihat dari sudut pandang radiobiologi karena sel dalam fase istirahat dapat memperlihatkan kemampuan yang lebih besar untuk memperbaiki kerusakan akibat radiasi. Sedangkan sel yang hipoksia kurang lebih tiga kali lebih radioresisten dibandingkan sel yang normal. Sehingga tumor yang besar mungkin sulit diterapi dengan radiasi saja, selain karena lebih banyak sel yang harus disterilisasi juga karena proporsi sel-selnya relatif hipoksik dan resisten terhadap radiasi⁴⁵.

Pada tingkat awal pengobatan dengan radiasi, perubahan dapat dilihat secara histopatologis. Perubahan tersebut dapat berupa peningkatan aktivitas mitosis yang abnormal, terjadinya pembengkakan inti serta sitoplasma sel. Meningkatnya jumlah dosis radiasi yang diterima menyebabkan pembengkakan sitoplasma lebih nyata terlihat. Kemampuan sitoplasma untuk menyerap zat warna juga berkurang diikuti dengan menggumpalnya membran inti sel. Pada keadaan ini vakuolisasi sitoplasma dan inti mudah ditemukan. Karena adanya mitosis yang abnormal maka sel kanker akan mengalami lisis atau terbentuk sel raksasa berinti satu atau multipel. Pembengkakan dan vakuolisasi sel kanker yang diikuti sitolisis ini akan berakhir dengan hilangnya sel kanker. Sebagai hasil akhir terbentuk struktur mirip sisa-sisa gigitan serangga tanpa sel. Struktur ini dibatasi oleh stroma jaringan ikat yang mengandung sel limfoid. Kontraksi jaringan sekitar mengakibatkan struktur sisa

tempat sel kanker memadat. Seringkali pada beberapa sel tumor menjadi besar dengan bentuk tidak teratur dan menyerap warna berlebihan pada pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) serta kromatin menjadi kasar dan ireguler. Pada daerah yang terkena radiasi juga ditemukan adanya nekrosis. Tahapan perubahan sel tersebut dapat ditemukan bersama-sama dalam satu sediaan, dapat pula hanya salah satu tahapan²⁸.

Penilaian respon radiasi berdasarkan kerusakan sel kanker dan ada tidaknya sel tumor yang viabel. Termasuk dalam kelompok sel tumor yang viable adalah semua sel tumor baik yang dengan pembengkakan atau vakuolisasi atau sel dengan inti yang banyak serta belum diketahui apakah perubahan tersebut irreversible bagi sel kanker. *National Cancer Hospital* di Jepang membuat derajat respon terapi radiasi sebagai berikut²⁸ :

1. Grade I : struktur kelompok sel kanker masih baik, perubahan terbatas pada beberapa sel kanker. Sarang-sarang tumor tersusun baik tanpa kerusakan karena lisisnya sel kanker.
2. Grade II : karena hilangnya sel kanker maka struktur sarang sel kanker mengalami kerusakan. Pada tingkat ini sel yang masih viabel masih dapat ditemukan.
 - a. IIA : kerusakan struktur sarang tumor masih ringan dan sel viabel masih banyak ditemukan.
 - b. IIB : kerusakan struktur sarang tumor lebih berat dan sedikit ditemukan sel viabel.
3. Grade III : perubahan lebih banyak ditemukan dan sangat sulit

ditemukan sel tumor viable.

4. Grade IV : tidak ditemukan sama sekali adanya sel kanker.

a. IVA : sebagian besar sediaan terdiri atas jaringan nekrotik.

b. IVB : terdapatnya jaringan granulasi dengan atau tanpa bagian-bagian kecil jaringan nekrotik.

c. IVC : hanya ditemukan jaringan nekrotik.

Di laboratorium Patologi Anatomi FK Undip/ RSUP Dr Kariadi Semarang membagi kriteria respon radiasi histopatologis dengan memodifikasi kriteria tersebut menjadi tiga yaitu respon radiasi baik yang sesuai dengan grade IV, respon radiasi jelek yang sesuai grade I-IIA dan respon radiasi moderat yang sesuai dengan grade IIB-III. Penilaian respon radiasi histopatologis tersebut dilakukan 3 bulan setelah penderita mendapatkan radiasi lengkap (radiasi eksterna dan radiasi intrakaviter) oleh karena dalam waktu 3 bulan konsolidasi jaringan diharapkan sudah tercapai^{2,41}. Penilaian respon radiasi histopatologis dilakukan dengan pemeriksaan oleh ahli Patologi Anatomi.

Beberapa cara digunakan untuk mengurangi hipoksia pada tumor antara lain dengan memberikan oksigen berkonsentrasi tinggi atau melakukan terapi radiasi pada penderita di dalam ruangan oksigen hiperbarik, pemberian analog vitamin B3, transfusi darah dan berhenti merokok. Selain itu sensitivitas sel terhadap radiasi bervariasi tergantung pada keberadaannya dalam siklus sel. Sel-sel yang berada pada fase G2 akhir dan fase mitosis sangat radiosensitif sedangkan sel-sel pada akhir fase S dan fase G1 awal sangat radioresisten⁶.

Sel-sel yang hipoksia membutuhkan dosis radiasi tiga kali lebih besar dibandingkan dengan sel-sel dengan oksigenasi yang baik. Sel yang hipoksia dapat dibuat sensitif terhadap radiasi terionisasi oleh bahan kimia yang mengandung unsur bersifat elektrofilik. Mekanisme kerja yang tepat dari radiosensitisasi ini belum diketahui. Beberapa bahan dapat berperan sebagai radiosensitisator yaitu dari kelompok sitostatika seperti cisplatin, mitomycin, hidroxyurea dan dari kelompok non sitostatika seperti nitroimidazole, misonidazole, TNF, interferon dan asklovir⁴².

Penelitian di Semarang membuktikan bahwa pemberian sitostatika adjuvant (Mitomycin) pada penderita KSU meningkatkan respon radiasi histopatologis dan klinis serta meningkatkan angka kelangsungan hidup 5 tahun yang lebih besar pada kelompok dengan respons radiasi baik⁴⁸. Penggunaan cisplatin sebagai terapi neoadjuvan telah dimulai sejak tahun 1990-an. Pemberian cisplatin baik sebagai obat tunggal maupun kombinasi pada KSU-SL dapat meningkatkan respon terapi radiasi⁴⁹. Beberapa penelitian mengenai pemberian terapi kemoradiasi menggunakan cisplatin sebagai sitostatikanya. Penelitian oleh *Radiation Therapy Oncology Group* pada 403 penderita karsinoma serviks uteri stadium IB yang besar serta stadium IIB-IVA mendapatkan terapi radiasi dikombinasi dengan cisplatin dan fluorourasil. Angka bebas penyakit dan angka kelangsungan hidup secara signifikan lebih tinggi pada kelompok yang menerima terapi kombinasi. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Rose untuk *Gynecologic Oncology Group (GOG)* membandingkan terapi radiasi dengan 3 regimen sitostatika yang berbeda yaitu cisplatin saja, kombinasi cisplatin/5 fluorourasil/hidroksiurea dan hidroksiurea saja pada penderita karsinoma serviks uteri

stadium IIB, III atau IVA. Angka kelangsungan hidup secara signifikan lebih tinggi pada dua kelompok yang menerima regimen cisplatin³³.

2.2.1. Faktor prognosis

Prognosis penderita kanker serviks sangat dipengaruhi oleh respon masing-masing penderita terhadap radiasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi respon radiasi pada penderita KSU antara lain meliputi usia, stadium klinik, radiosensitivitas jaringan kanker (oksigenisasi dan derajat diferensiasi sel) serta kualitas radiasi (dosis dan tehnik radiasi)^{43,50}.

2.2.1.1.Usia

Usia penderita memainkan peranan penting atas keberhasilan pengobatan. Pada penderita muda lebih sering ditemukan sel-sel anaplastik dimana sifat pertumbuhannya sangat cepat^{5,51}.

2.2.1.2.Stadium Kanker

Saat ini parameter yang digunakan untuk menilai perluasan penyakit adalah secara klinik. Penentuan stadium klinik dilakukan berdasarkan pembagian yang dikeluarkan oleh FIGO tahun 2000. Stadium klinik tidak diragukan lagi mempunyai korelasi erat dengan respon pengobatan dan angka ketahanan hidup penderita. Dengan meningkatnya stadium klinik maka metastasis ke kelenjar getah bening regional dan paraaorta juga akan meningkat yang pada gilirannya angka ketahanan hidup akan lebih menurun lagi sebesar hampir 50%^{5,50-52}

Penetapan stadium klinik tidak selalu mencerminkan penyebaran tumor yang sebenarnya. Pada berbagai penelitian ditemukan kesenjangan antara stadium klinik

dengan stadium pembedahan yang dibuktikan secara histopatologi, secara keseluruhan kesenjangan tersebut mencapai 22-45%. Masalah kesenjangan ini menyebabkan teknik radiasi tidak dilakukan dengan baik demikian juga dosis radiasi yang diberikan kurang optimal. Oleh karena itu sering ditemukan perbedaan respons pengobatan pada kasus-kasus dengan stadium klinik yang sama³⁷.

2.2.1.3.Oksigenasi

Kadar hemoglobin merupakan faktor yang penting untuk meningkatkan kepekaan radiasi dan hal ini berkaitan dengan oksigenasi jaringan. Kadar hemoglobin yang rendah akan menyebabkan berkurangnya oksigenasi jaringan yang pada gilirannya akan mengurangi respon radiasi³⁶.

2.2.1.4.Derajat diferensiasi sel

Pada tahun-tahun terakhir ini diferensiasi sel dan kecepatan reproduktif sel dianggap menjadi dasar radiosensitivitas⁵¹. Efek radiasi pada sel hidup erat kaitannya dengan besarnya aktivitas reproduksi sel, lamanya fase mitosis sel dan buruknya morfologi dan diferensiasi sel⁵⁴.

Secara umum jaringan embriologik imatur lebih mudah mendapat trauma radiasi dibanding jaringan yang berdeferensiasi baik. Pada sisi lain, derajat diferensiasi sel yang buruk mempunyai kemampuan yang lebih besar untuk menginvasi vaskuler, menyebar ke parametrium ataupun bermetastasis ke kelenjar getah bening⁴⁷.

2.2.2.Fraksinasi dalam radiasi

Untuk mendapatkan rasio terapeutik yang baik, yaitu efek seminimal mungkin pada jaringan sehat dan maksimal pada tumor, radiasi diberikan dalam dosis terbagi menjadi fraksi-fraksi. Hal ini dilakukan karena sifat biologi tumor yang

menjadikannya lebih radiosensitif dari jaringan normal di sekitarnya dengan dilakukannya fraksinasi. Sifat-sifat biologi tersebut adalah^{44,50}:

2.2.2.1.Repair (reparasi)

Adalah proses sel normal untuk melakukan perbaikan kerusakan DNA akibat radiasi. Pada sebagian besar tumor ganas terjadi gangguan dalam proses reparasi DNA (termasuk akibat radiasi) sehingga pada radiasi berikutnya terjadi kematian atau kerusakan sel-sel tumor yang lebih banyak dibandingkan sel-sel normal sekitarnya. Sel-sel normal tersebut dapat menjalani proses reparasi secara sempurna saat interval radiasi. Terjadinya pemulihan memerlukan waktu 4-6 jam.

2.2.2.2.Reoxygenation (reoksigenasi)

Terjadi karena berkurangnya massa tumor akibat radiasi yang berlangsung, sehingga terjadi perbaikan vaskularisasi tumor. Tekanan oksigen dalam jaringan merupakan faktor penentu kepekaan tumor terhadap radiasi. Tumor dengan vaskularisasi yang jelek akan mengalami hipoksia dan nekrosis. Sel tumor yang hipoksik 2-3 kali lebih resisten terhadap radiasi dibanding sel-sel yang oksigenasinya baik. Fraksi sel-sel hipoksik pada tumor bervariasi tetapi rata-rata 10-15%. Setelah radiasi sebagian sel tumor akan mati, volume tumor berkurang dan sel-sel tumor yang semula hipoksik akan bergeser mendekati pembuluh darah sehingga oksigenasinya membaik dan menjadi lebih radiosensitif.

2.2.2.3.Redistribution (redistribusi)

setelah radiasi pertama terjadi kematian sebagian sel (terutama sel yang sedang berada pada fase peka radiasi) sedang sel-sel lain yang resisten akan tetap hidup. Sel yang sensitif terhadap radiasi adalah yang berada pada fase G2 dan M. Sel-sel dalam

fase ini akan mati oleh satu pukulan radiasi sedangkan sel-sel yang berada pada fase G1 dan S akan mampu bertahan (resisten) dan akan mengisi kembali kekosongan pada fase G2 dan M. Karena sebagian besar tumor mempunyai aktivitas proliferasi yang lebih tinggi dari sel normal asalnya, maka sifat ini tampak lebih mencolok pada jaringan tumor.

2.2.2.4.Repopulation (repopulasi)

meupakan aktivitas sel untuk melanjutkan proses proliferasi dalam masa radiasi baik pada jaringan sehat maupun pada jaringan tumor. Setelah suatu fraksi radiasi akan terjadi kematian sel baik sel tumor maupun sel sehat. Sel-sel yang mati tersebut akan diganti oleh sel-sel yang berada pada fase G0 (fase istirahat) untuk masuk dalam siklus sel. Kecepatan repopulasi berbeda-beda pada berbagai tumor dan repopulasi jaringan sehat (*acute responding normal tissues*) dibanding tumor. Pemberian beberapa dosis kecil dalam satu hari secara teratur akan menghambat repopulasi tumor.

Pada jaringan normal terdapat mekanisme homeostatik yang menjamin keseimbangan antara sel yang mati dan pembentukan sel yang baru. Bila terjadi penurunan jumlah sel secara berlebihan akan terjadi kompensasi dengan jalan mempertinggi produksi sel. Efek biologi pada tumor dapat dicapai dengan memberikan dosis yang berbeda dengan menggunakan program fraksinasi.

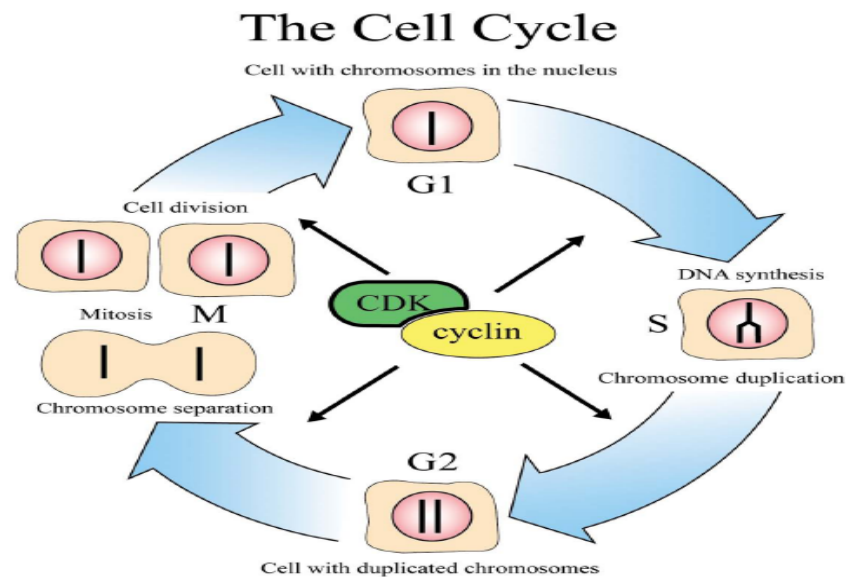
2.3 Aktivitas proliferasi dan hitung AgNOR

Berdasar kinetika sel yang mengalami proliferasi terdapat 4 kompartemen dalam populasi sel. Kompartemen pertama adalah kelompok sel yang aktif

melakukan proses pembelahan sel (*growth fraction=Gfr*). Kelompok kedua adalah sel dalam keadaan pembelahan terminal yang akan meninggalkan siklus pertumbuhan dan mengalami kematian setelah melakukan fungsinya. Kelompok ketiga adalah sel dalam fase G0 yang tidak membelah tetapi tidak mati dan mungkin akan masuk kembali ke dalam siklus pembelahan sel jika diperlukan atau mengalami kematian. Kelompok terakhir adalah kelompok sel mati yang berasal dari kelompok kedua maupun ketiga^{7,8}

Siklus dalam pembelahan sel dibagi 4 periode yaitu fase Gap 1 (G1), fase sintesis (S), fase Gap 2 (G2) dan fase mitosis (M). Waktu diantara dua mitosis atau pembelahan sel dikenal sebagai waktu siklus sel. Fase antara akhir mitosis sampai dimulainya proses mitosis dikenal sebagai interfase (G1,S,G2) yang bervariasi waktunya antar sel⁸

Fase G1 merupakan fase pembentukan berbagai RNA dan protein yang berperan dalam proses proliferasi. Protein siklin yang disintesis selama fase G1 (siklin D,E dan A) merupakan protein pengatur bagi aktivitas protein *cell division control kinase*.(CDCK) yang dikenal juga sebagai protein *mitosis promoting factor* (MPF). Saat transisi dari fase akhir G1 ke fase S terjadi aktivasi transisi melalui proses fosforilasi protein Rb oleh aktivitas siklin D1-*cyclin dependent kinase* (CDK) yaitu CDK 4 sehingga terjadi proses replikasi DNA^{7,8}.



Gambar 1. Siklus sel¹⁴

Selama fase S sejumlah enzim menjadi aktif (DNA polymerase, thymidine kinase, dll). Molekul aktif pada fase S adalah *Proliferatif Cell Nuclear Antigen* (PCNA). Molekul ini berhubungan dengan polimerase 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 hingga replikasi lengkap. 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 DNA⁸.

Fase G2 merupakan fase antara akhir fase S sampai terjadinya mitosis. Pada fase ini sel akan mempersiapkan diri untuk membelah. Fase G2 ini merupakan tahapan pertumbuhan kedua setelah terjadinya replikasi DNA di fase S. Stimulasi oleh faktor pertumbuhan dan berbagai protein pengatur yang disintesis selama fase G1 terus berlanjut⁸.

Fase terakhir dari proses proliferasi adalah fase M (mitosis) yang merupakan fase terpendek. Proses mitosis ini terdiri atas profase, metafase, anafase dan telofase. 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 ini membran inti pecah dan terjadi kondensasi inti menjadi kromosom yang dapat dilihat dan akhirnya terpisah. Kromosom bergerak ke kutub di mana terjadi dekondensasi serta pembentukan kembali inti yang utuh. Sel akan membelah menjadi dua.

Fase G1 dan G2 merupakan kontrol yang penting dalam mengendalikan proses-proses kompleks yang mengatur pengandaan DNA. Secara alami DNA harus dikopi dengan tepat dan dikoreksi jika ada kerusakan. Jika kerusakan terlalu luas, sel akan mengeliminasi melalui proses apoptosis daripada membiarkan keturunannya mempunyai DNA yang salah. Kontrol pertama pada fase G1 merupakan kontrol yang lebih dominan dan kontrol kedua hanya merupakan kelanjutan dari kontrol pertama. Protein yang paling berperan dalam fase G1 dan G2 ini adalah P53. P53 ini akan menahan sel pada fase G1 dan G2 dan merupakan instrumen yang mengawali proses apoptosis jika kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki^{7,8}.

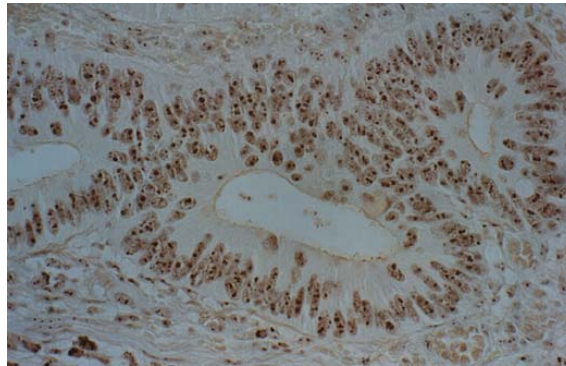
Mekanisme molekular yang mengontrol proliferasi sel meliputi regulator positif dan negatif. Beberapa protein regulator positif yang berperan dalam stimulasi proliferasi, misalnya faktor pertumbuhan dan reseptor faktor pertumbuhan yang berperan dalam transduksi signal. Selain itu identifikasi gen regulator negatif yang terlibat dalam pertumbuhan sel juga sangat berperan.

Berbagai parameter dapat digunakan untuk menilai aktivitas proliferasi. Penilaian tersebut dapat secara dinamik dengan menggunakan ukuran waktu maupun secara statik dengan menilai perbandingan jumlah sel yang berproliferasi dalam suatu populasi sel. Beberapa parameter aktivitas proliferasi dinamik adalah waktu sel untuk melakukan seluruh proses pembelahan sel (*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 Gfr, 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 =*Mitosis index*), nilai fraksi pertumbuhan (Gfr) dan fraksi sel dalam fase S (Spf =*S-phase fraction*) serta nilai fraksi sel dalam fase G1-S-G2 seperti yang terdeteksi pada hitung AgNOR^{7,8,22}.

Nukleolus (anak inti) merupakan ekspresi morfologik dari proses sintesis dan pematangan RNA dari transkripsi ribosomal DNA. Pada pemeriksaan mikroskop cahaya tampak gambaran nukleolus sebagai struktur paling nyata di dalam inti sel pada keadaan tidak bermitosis. Nukleolus terdiri dari gelung-gelung DNA dari beberapa kromosom yang masing-masing gelung DNA mengandung sekumpulan gen rRNA. Tiap kumpulan gen ini dikenal sebagai *nucleolar 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 22^{8,13-14}.

NORs merupakan sub unit fungsional nukleolus di mana terjadi transkripsi rDNA secara aktif dan dikelilingi banyak protein regulator. Beberapa protein tersebut bersifat argirofilik dan asidik, yang tercat dengan pewarnaan perak disebut AgNOR sedangkan protein NOR argirofilik disebut bintik AgNOR/ NORAPs (*NOR-associated proteins*)^{8,13-16}.



Gambar 2. Bintik AgNOR⁸

Pada neoplasia terjadi perubahan nucleolus yaitu ukuran membesar, bentuk ireguler, marginasi letak ke bagian perifer inti. Transformasi sel neoplastik ditandai dengan peningkatan sintesis protein. Dengan demikian peningkatan jumlah protein yang berhubungan dengan NORs menggambarkan peningkatan transkripsi rRNA. Gambaran ini mencerminkan peningkatan aktivitas proliferasi sel. Teknik pewarnaan AgNOR merupakan suatu teknik pulasan perak koloidal dimana perak tersebut akan berikatan dengan NORAPs dan membentuk senyawa AgNOR (endapan perak).

Dengan mikroskop cahaya bintik AgNOR divisualisasikan berdasar sifat argirofiliknya berupa butir-butir hitam dalam inti^{8,13-16}.

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 rRNA. 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 rRNA meningkat. Selain itu juga ada variasi dalam jumlah kromosom akrosentris yang membawa NOR yang dapat terjadi di dalam sel neoplastik. Pada lesi jinak ekspresi bintik AgNOR berbentuk bulat dengan tepi rata dan berukuran besar, sedangkan pada lesi ganas ekspresi bintik AgNOR bentuknya lebih tidak teratur, berukuran lebih kecil dan penyebaran di seluruh nukleoplasma^{8,13}.

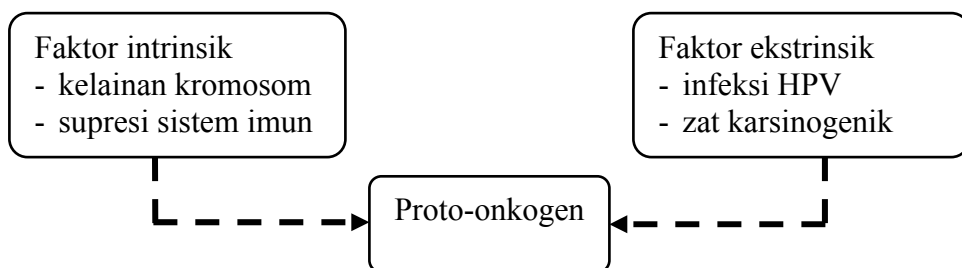
Telah dibuktikan bahwa aktivitas pembelahan yang terus menerus menyebabkan peningkatan NOR interfase, hal ini dapat dimengerti karena pada sel-sel istirahat yang distimulasi untuk proliferasi, jumlah NOR interfasesnya secara progresif meningkat dari G1 sampai S, perbandingan distribusi NOR interfase dengan parameter kinetik sel telah menunjukkan suatu hubungan linier antara jumlah NOR interfase dengan aktivitas proliferasi sel, dalam sel-sel kanker yang dikultur in vitro, penurunan progresif dari aktivitas proliferasi oleh deprivasi serum disertai dengan penurunan progresif NOR interfase⁸.

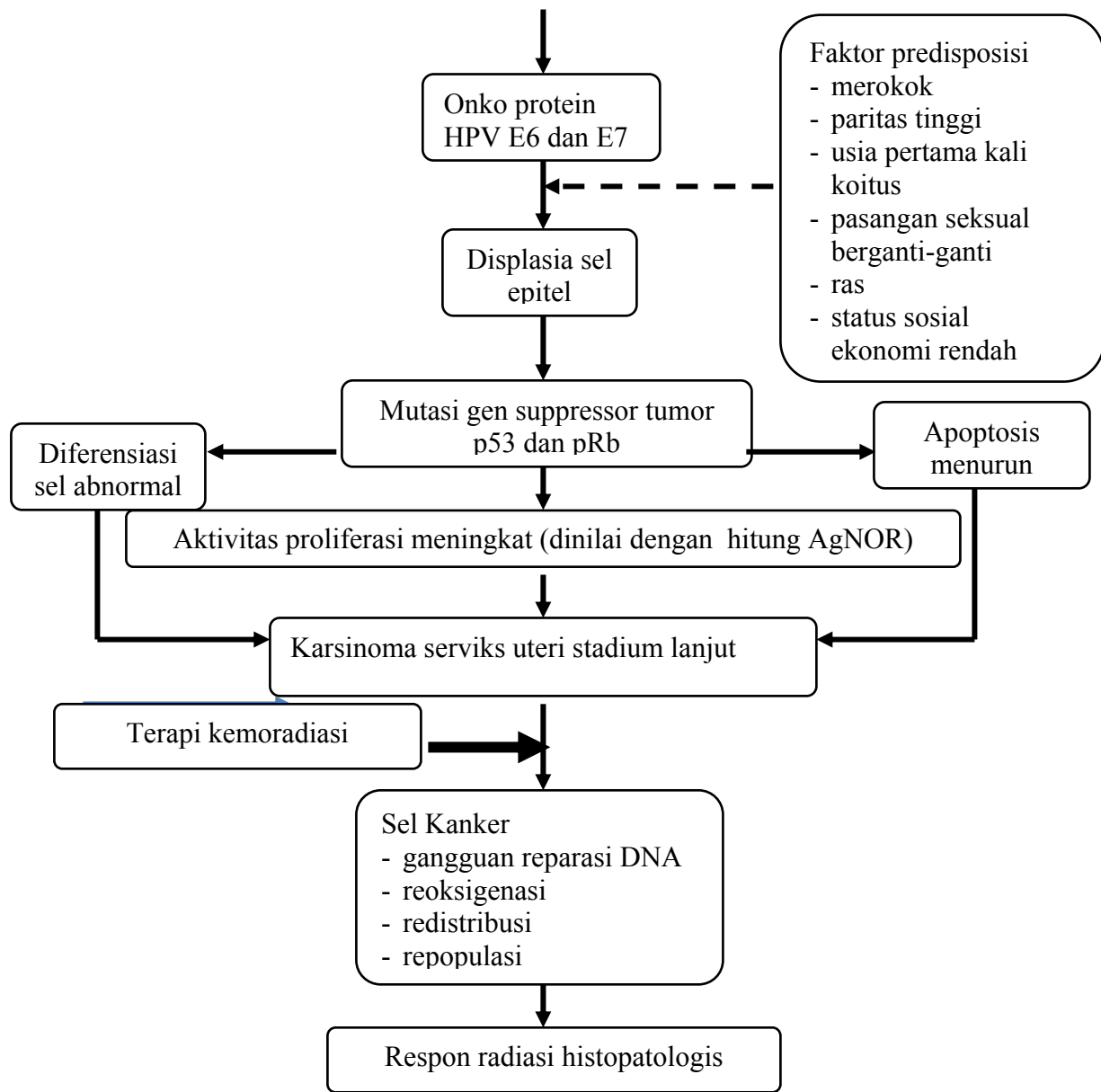
Jumlah NORs interfase dapat dipertimbangkan sebagai parameter kinetik sel untuk evaluasi kecepatan proliferasi. Hal ini diperkuat dengan ditemukannya nilai

AgNOR interfase berhubungan erat dengan kecepatan proliferasi sel pada percobaan yang menggunakan invitro sel tumor.

Pada keganasan termasuk pada KSU dimana terjadi pembelahan sel yang tak terkendali sehingga aktivitas proliferasi sel akan tinggi. Jika keganasan tersebut telah diberikan terapi maka aktivitas proliferasi akan mengalami penurunan sebagai tanda keberhasilan terapi. Gambaran penurunan aktivitas proliferasi ini dapat dilihat dengan pemeriksaan hitung AgNOR dimana hitung AgNOR pasca terapi akan lebih rendah dibandingkan sebelum terapi diberikan.

2.4. Patofisiologi

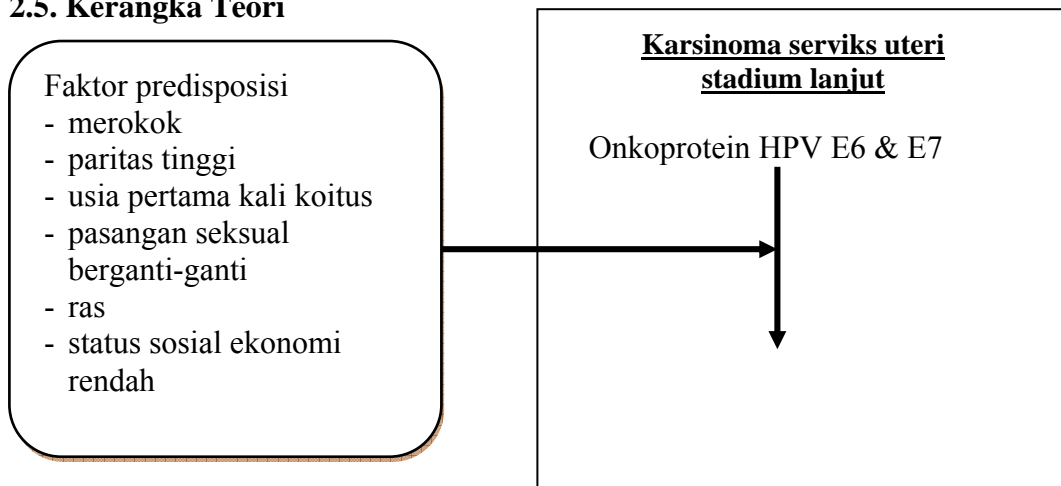


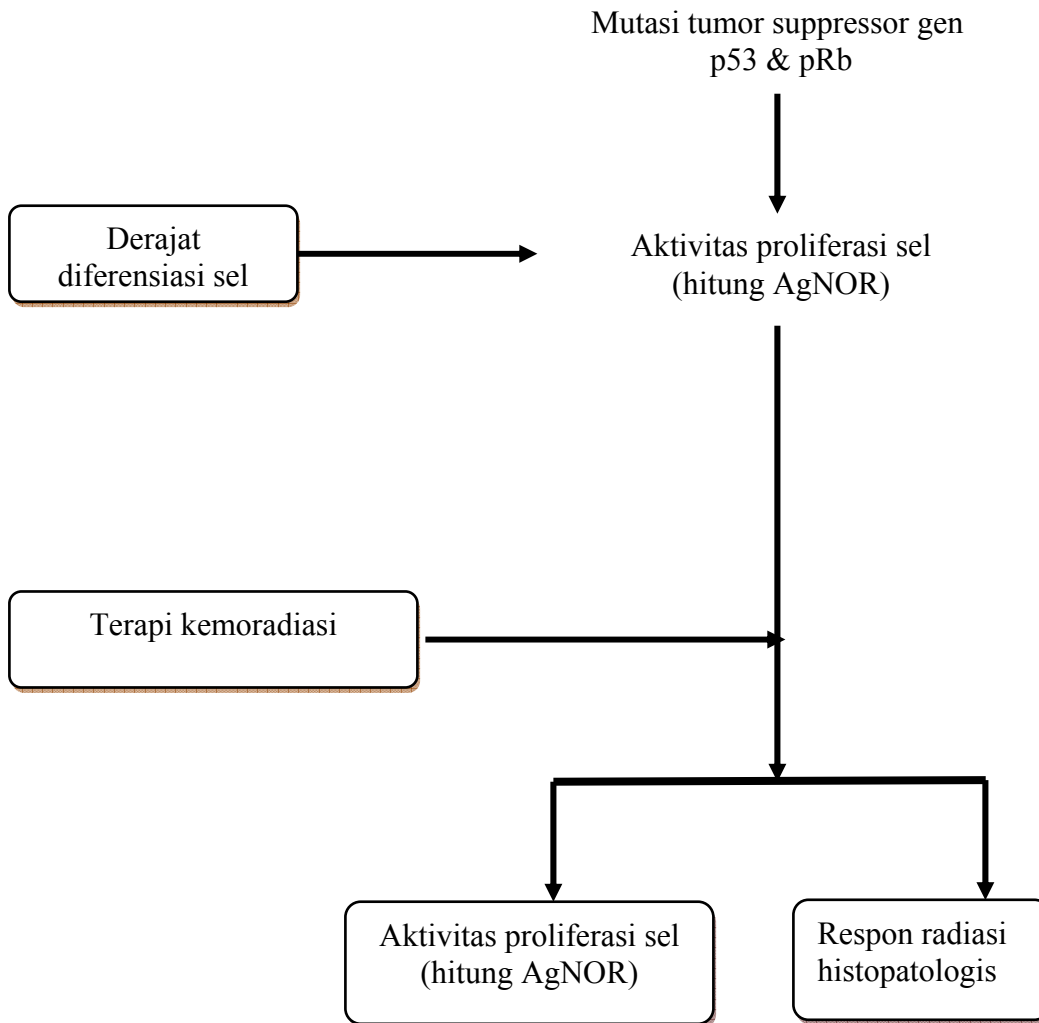


Keterangan

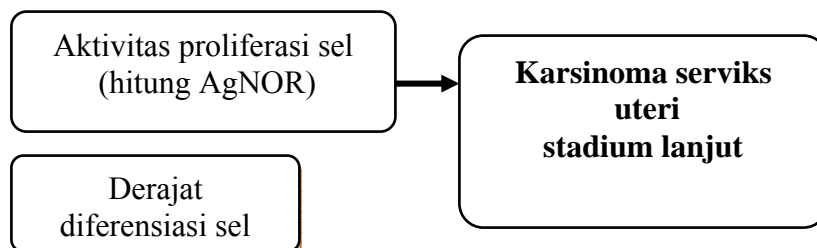
- -> : mempengaruhi -> : menyebabkan ➔ : diterapi

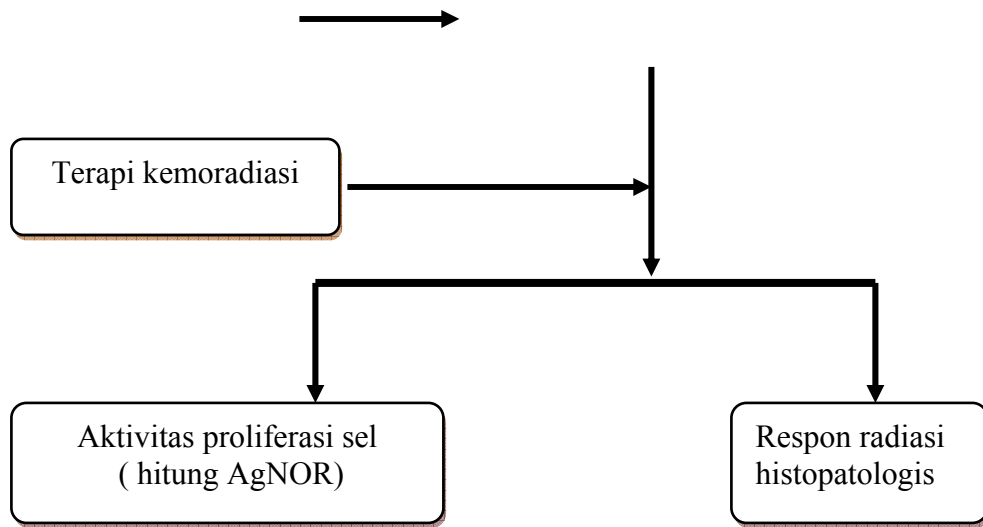
2.5. Kerangka Teori





2.6 Kerangka konsep





BAB 3

HIPOTESIS

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Terdapat perbedaan antara aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) pra dan pasca terapi kemoradiasi pada penderita KSU-SL.
2. Hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dapat digunakan sebagai prediktor respon radiasi histopatologis.
3. Terdapat hubungan penurunan aktivitas proliferasi (nilai hitung AgNOR) dengan respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL setelah dilakukan terapi kemoradiasi.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan uji diagnostik dengan desain penelitian cross-sectional.

4.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Bagian/ SMF Obstetri dan Ginekologi dan Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr Kariadi Semarang.

4.3 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai 1 Agustus 2007 sampai 31 Desember 2007.

4.4 Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah penderita KSU stadium IIB, IIIA dan IIIB yang telah menjalani terapi kemoradiasi yang datang kontrol 3 bulan pasca terapi di Poliklinik Ginekologi Khusus RSUP Dr. Kariadi Semarang guna penilaian respon radiasi histopatologis yang memenuhi kriteria inklusi. KSU stadium IV tidak diikutsertakan karena protokol pengobatan berbeda dengan penderita KSU-SL yang lain. Sebelum diikutsertakan dalam penelitian ini penderita mendapatkan penjelasan mengenai penelitian ini dan menandatangani surat pernyataan bersedia mengikuti penelitian.

4.5 Kriteria inklusi

- Jenis histopatologis epidermoid.
- Stadium klinis IIB-IIIB.
- Tidak dijumpai keganasan lain selain KSU.
- Pasien bersedia.

4.6 Kriteria eksklusi

Sediaan biopsi tidak representatif

4.7 Kriteria Drop Out

Sediaan yang diperiksa tidak memenuhi syarat.

4.8 Besar Sampel

Untuk menguji hipotesis, besar sampel yang dibutuhkan dengan menggunakan tingkat kemaknaan (α) sebesar 0,05 dengan ketepatan absolut (d) 0,15 dan proporsi penderita karsinoma serviks uteri stadium lanjut (P) dengan respon radiasi baik sebesar 52,41% , maka digunakan rumus :

$$n = \frac{Z\alpha^2 PQ}{d^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel yang diperlukan

P : proporsi penderita karsinoma serviks uteri stadium lanjut dengan respon radiasi baik

Q : 1-P (47,59%)

d : tingkat kemaknaan absolut

$Z\alpha(\text{tingkat kemaknaan}) = 1,96$

Berdasarkan tabel dengan tingkat kemaknaan 0,05

Besar sampel :

$$n = \frac{(1,96)^2 \times 0,5275 \times 0,4725}{(0,15)^2}$$

$$n = \frac{0,9575}{0,0225}$$

$$0,0225$$

$$n = 42,55$$

n = 43

4.9 Variabel penelitian

Variabel bebas adalah hitung AgNOR.

Variabel tergantung adalah respon radiasi histopatologis.

4.10 Definisi Operasional

1. Karsinoma epidermoid serviks uteri adalah suatu penyakit dengan ditemukannya sel ganas yang berasal dari epitel skuamosa yang ditetapkan melalui pemeriksaan histopatologi.

Skala : nominal.

2. Stadium klinik adalah stadium karsinoma serviks uteri berdasarkan klasifikasi FIGO tahun 2000 dan dinilai oleh konsultan Onkologi Ginekologi RSUP Dr Kariadi Semarang.

Skala : ordinal.

3. Karsinoma serviks uteri stadium lanjut adalah karsinoma serviks uteri stadium IIB-IVA berdasarkan klasifikasi FIGO 2000.

Skala : ordinal.

4. Karsinoma serviks uteri stadium IIB adalah bila proses keganasan telah mencapai parametrium.

Skala : ordinal.

5. Karsinoma serviks uteri stadium IIIA adalah bila proses keganasan telah mencapai sepertiga distal vagina tanpa penyebaran ke dinding panggul.

Skala : ordinal.

6. Karsinoma serviks uteri stadium IIIB adalah bila proses keganasan telah mencapai dinding panggul dan atau menyebabkan hidronefrosis atau kegagalan fungsi ginjal.

Skala : ordinal.

7. Terapi kemoradiasi adalah terapi radiasi berupa radiasi eksterna dan brakiterapi disertai dengan pemberian kemoterapi Cisplatinum 40 mg/luas permukaan tubuh didahului dengan kemoterapi Cisplatinum 75 mg/luas permukaan tubuh sebelum terapi dimulai.

Skala : nominal.

8. Hitung AgNOR adalah jumlah penghitungan bintik kehitaman yang terletak pada 100 sel ganas dan dilihat dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x pada sediaan blok parafin biopsi pra terapi dan dinilai oleh konsultan Patologi Anatomi RSUP dr Kariadi Semarang bersama peneliti.

Skala : rasio.

9. Usia adalah ulang tahun terakhir penderita pada saat penelitian dilakukan.

Skala : rasio.

10. Diferensiasi baik (G1), sebagian besar berbentuk sel dewasa dengan aktivitas mitosis minimal dan sedikit pleiomorfik.

Skala : ordinal.

11. Diferensiasi moderat (G2), ditemukan sedikit sel dengan sitoplasma berlebihan, aktivitas mitosis dan sel pleiomorfik lebih banyak dan batas antar sel kabur.

Skala : ordinal.

12. Diferensiasi jelek (G3), sebagian besar sel muda yang pleiomorfik dengan aktivitas mitosis tinggi serta ratio inti sitoplasma sangat meningkat.

Skala : ordinal.

13. Respon radiasi histopatologis baik adalah bila tidak ditemukan satupun sel ganas viabel dalam seluruh sediaan biopsi setelah terapi radiasi. Pada sediaan hanya ditemukan jaringan granulasi dengan atau tanpa nekrosis atau hanya ditemukan jaringan nekrotik.

Skala : ordinal.

14. Respon radiasi histopatologis moderat adalah bila sarang-sarang sel tumor mengalami kerusakan hebat, nekrosis dan ditemukan beberapa atau sulit ditemukan sel-sel viabel.

Skala : ordinal.

15. Respon radiasi histopatologis jelek adalah bila dalam sediaan biopsi setelah terapi radiasi tidak ditemukan kerusakan sarang-sarang sel tumor atau derajat kerusakan masih rendah dengan beberapa sel tumor telah lisis karena pengaruh radiasi. Serta dapat atau tidak dapat ditemukan sel tumor yang membengkak, inti banyak, sitoplasma bervakuola (sel viabel), walaupun tidak diketahui apakah perubahan ini ireversibel atau letal bagi sel bersangkutan.

Skala : ordinal.

4.11 Cara Pengambilan Data

- Penderita KSU stadium IIB-IIIB yang telah menjalani terapi kemoradiasi datang di Poliklinik Ginekologi Khusus untuk kontrol 3 bulan pasca terapi guna penilaian respon radiasi histopatologis dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan pencatatan.
- Setelah diberikan penjelasan sebelum penelitian dan penderita bersedia berpartisipasi dalam penelitian dilakukan pencarian sumber data sediaan.
- Sediaan biopsi pra terapi diperoleh dengan pencarian dan pengumpulan blok parafin sediaan biopsi pra terapi untuk diperiksa, sediaan biopsi pasca terapi diperoleh dari sediaan biopsi 3 bulan pasca terapi yang dilakukan untuk penilaian respon radiasi histopatologis.
- Prosedur pewarnaan dan hitung AgNOR^{13,15}:
 - Blok parafin yang diperoleh dipotong setebal 3 mikron dan dilekatkan pada kaca objek.
 - Potongan jaringan dilakukan deparafinisasi dan rehidrasi.
 - Potongan jaringan dimasukkan dalam ruang gelap.
 - Inkubasi potongan jaringan dengan larutan AgNOR selama 45-60 menit.
 - Celupkan potongan jaringan sebanyak 3 kali ke dalam aquades.
 - Potongan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 50% sampai absolut.
 - Rendam dalam xylol selama 30 menit.
 - Mounting dengan Canada balsam.
 - Siap dilihat dalam mikroskop cahaya.

- Penghitungan dilakukan secara manual dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x.
- Penghitungan dilakukan pada 100 inti sel secara acak dari 10 lapangan pandang (dihitung 10 sel tiap 1 lapangan pandang).
- Pencatatan hitung AgNOR dijumlah dan dihitung rata-rata per inti. Dilakukan pembacaan dan penghitungan oleh konsultan Patologi Anatomi bersama peneliti.

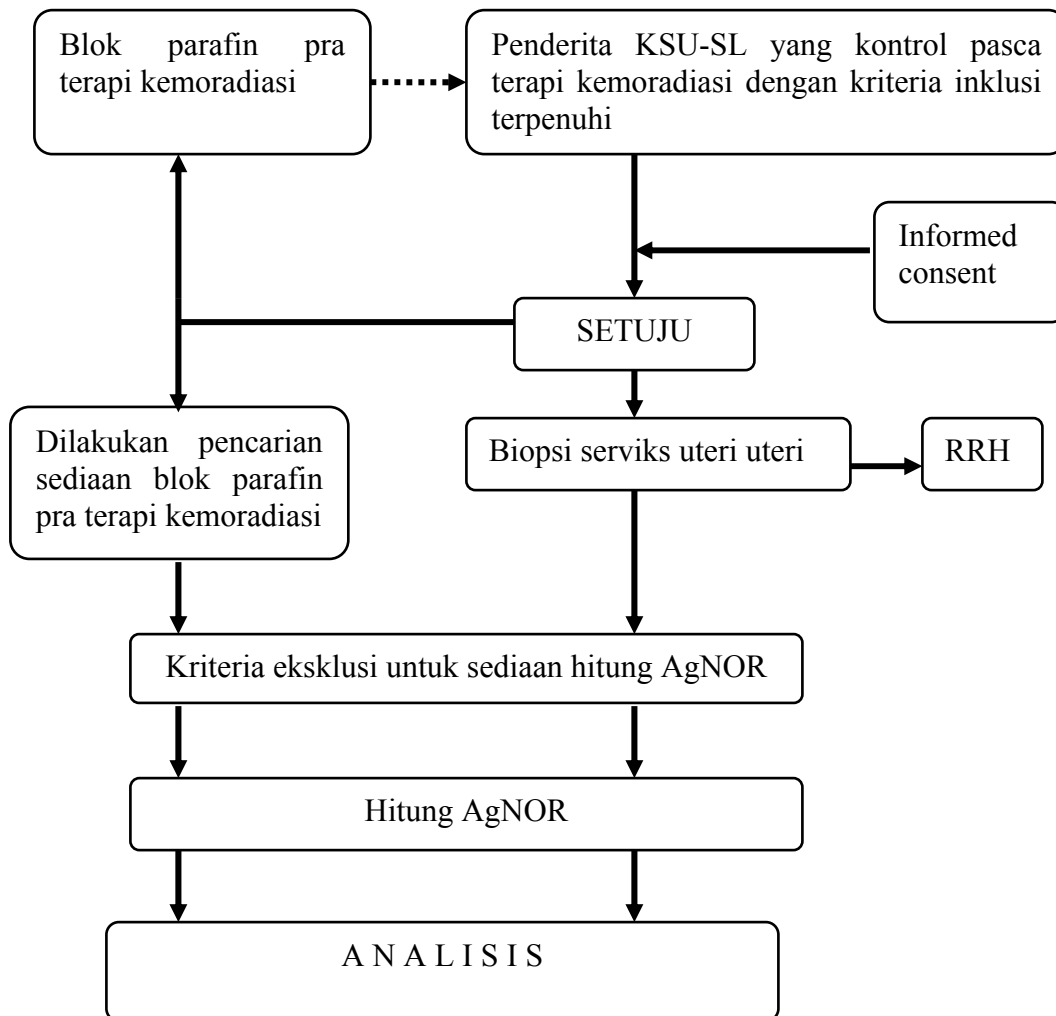
4.12 Teknik Kemoradiasi

Seluruh penderita telah mendapatkan kemoradiasi sesuai protokol Bagian Obstetri Ginekologi RSUP Dr Kariadi Semarang berupa kemoterapi dengan Cisplatinum 40 mg/luas permukaan tubuh setiap minggu disertai radiasi eksterna pada seluruh pelvis dalam lapangan depan dan belakang dengan menggunakan pesawat linear akselerator atau Co^{60} sesuai dengan protokol radiasi karsinoma serviks uteri stadium lanjut di Bagian Radioterapi RSUP Dr Kariadi Semarang⁵⁴. Dosis radiasi yang digunakan 200 cGy per fraksi/ hari, 5 kali dalam seminggu selama 5 minggu. Dosis total 5000 cGy. Dua minggu kemudian terapi radiasi dilanjutkan dengan brakiterapi dengan radioisotop Cs^{137} laju dosis tinggi dengan teknik afterloading sebanyak 2 kali dengan interval 1 minggu. Dosis brakiterapi adalah 2 kali 850 cGy pada titik A dengan penderita dalam anestesi umum³⁴. Penderita diberikan kemoterapi Cisplatinum neoadjuvant dengan dosis 75 mg/ luas permukaan tubuh jika harus menunggu jadwal dilakukannya kemoradiasi.

4.13 Penilaian Respon Terapi

Penderita pasca kemoradiasi kontrol di Poliklinik Ginekologi Khusus 3 bulan pasca terapi, dilakukan rangkaian pemeriksaan dan tindakan sesuai protokol subagian ginekologi. Respon terapi yang dinilai pada penelitian ini adalah respon radiasi histopatologis. Penilaian respon radiasi ini diperoleh dari sediaan biopsi serviks uteri untuk dilakukan pemeriksaan histopatologis Hematoxylin-Eosin (HE) oleh konsultan Patologi Anatomi.

4.14 Alur penelitian



4.15 Analisis Statistik

- Analisis univariat pada deskripsi variabel kategorikal disajikan dengan frekuensi dan prosentase (stadium klinis, derajat diferensiasi, terapi kemoradiasi).
- Analisis univariat pada deskripsi variabel dengan skala numerik disajikan dengan rerata (simpang baku) yaitu usia penderita.
- Untuk mengetahui normalitas data numerik dilakukan uji Kolmogorov Smirnov dan Shapiro Wilks.
- Analisis bivariat untuk mengetahui perbedaan RRH pada derajat diferensiasi baik dan jelek-moderat diuji dengan uji χ^2 .
- Analisis bivariat untuk mengetahui perbedaan nilai AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi diuji dengan uji t berpasangan.
- Analisis bivariat untuk mengetahui perbedaan penurunan nilai AgNOR pada RRH diuji dengan independent t test.
- Analisis bivariat untuk mengetahui perbedaan hitung AgNOR pra dan pasca terapi berdasarkan RRH diuji dengan independent t test.
- Analisis bivariat untuk mengetahui perbedaan hitung AgNOR pra dan pasca terapi berdasarkan derajat diferensiasi sel diuji dengan independent t test.
- Untuk menentukan nilai batas AgNOR yang tepat dalam memperkirakan prognosis terapi dengan melakukan penghitungan sensitivitas dan spesifisitas untuk mencari *cut of point* yang terbaik dengan kurva ROC.
- Analisis bivariat untuk mengetahui hubungan penurunan nilai hitung AgNOR dengan RRH diuji dengan korelasi Spearman.

- Pengolahan dan analisis data menggunakan komputer dengan program SPSS versi 15.0 for Windows dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

4.16 Etika Penelitian

1. Semua subyek pada penelitian ini memberikan persetujuan tertulis yang menyatakan kesediannya untuk mengikuti penelitian.
2. Biaya pemeriksaan hitung AgNOR dibebankan pada peneliti.
3. Biaya pemeriksaan histopatologi biopsi pasca kemoradiasi ditanggung oleh penderita.
4. Penelitian ini tidak membahayakan atau merugikan penderita.
5. Kerahasiaan penderita tetap terjaga.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di poliklinik Ginekologi Khusus Bagian/SMF Obstetri Ginekologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang sejak bulan Agustus 2007 sampai dengan Desember 2007, didapatkan 48 penderita karsinoma sel epidermoid serviks uteri stadium lanjut yang memenuhi kriteria penelitian dari 57 penderita yang didapat, terdiri dari stadium IIB 20 (41,7%) dan IIIB 28 (58,3%) penderita.

5.1 Karakteristik penderita

Karakteristik penderita ditampilkan pada tabel 3, menunjukkan bahwa rerata umur penderita adalah 47,42 tahun. Stadium keganasan yang terbanyak adalah stadium III B yaitu 58,3% dengan sebagian besar diferensiasi sel ganas diketahui diferensiasi baik yaitu 37,5%. Sebanyak 41 (85,4%) penderita mendapatkan Platosin Neoadjuvant sekali dan 23 (47,9%) penderita mendapatkan Platosin Concomitant 5 kali. Pada kedua stadium juga didapatkan jumlah penderita dengan respon radiasi histopatologis terbanyak adalah baik sebesar 36 (75%) penderita.

Tabel 3. Karakteristik penderita karsinoma sel epidermoid serviks uteri (n=48)

Karakteristik	Rerata (SB)	n (%)
Umur (tahun)	47,42 (5,88)	
Stadium		
- II B		20 (41)
- III B		28 (58,3)
Derajat diferensiasi sel		
- Baik		18 (37,5)
- Moderat		18 (37,5)
- Jelek		12 (25)
Terapi kemoradiasi		
Platosin Neoadjuvant		
- I		41 (85,4)
- II		4 (8,3)
- III		3 (6,3)
Platosin Concomitant		
- I		1 (2,1)
- II		1 (2,1)
- III		21 (43,8)
- IV		2 (4,2)
- V		23 (47,9)
Respon Radiasi Histopatologis		
- Baik		36 (75)
- Jelek-moderat		12 (25)

SB : Simpang Baku

Derajat diferensiasi sel pra terapi kemoradiasi (blok parafin) berdasarkan kategori RRH dapat dilihat pada tabel 4. Dapat dilihat bahwa derajat diferensiasi jelek-moderat lebih banyak pada tiap kelompok RRH. Dari hasil uji statistik, tidak didapatkan hubungan antara derajat diferensiasi sel dengan RRH ($p=0,249$).

Tabel 4. Derajat diferensiasi sel pada penderita karsinoma sel epidermoid serviks uteri berdasar kategori RRH.

RRH pasca terapi	<i>p</i>[*]
-------------------------	-----------------------------

Diferensiasi sel sediaan blok parafin pra terapi	Jelek-Moderat (n=12)	Baik (n=36)	
Jelek-moderat	9	21	0,249
Baik	3	15	

*Fisher's Exact Test, $p \leq 0,05$

5.2 Hitung AgNOR

Dari 57 penderita yang dilakukan pemeriksaan hitung AgNOR, bintik AgNOR dapat tervisualisasi pada semua sediaan pra terapi kemoradiasi tetapi pada sediaan pasca terapi kemoradiasi terdapat 9 penderita dengan bintik AgNOR tak tervisualisasi. Hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi ditampilkan pada tabel 5.

Tabel 5. Rerata hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi pada penderita karsinoma sel epidermoid serviks uteri.

Pra/pasca terapi kemoradiasi	Rerata hitung AgNOR	
	(SB) (n=48)	p^*
Pra terapi kemoradiasi (blok parafin)	6,39 (1,721)	0,0001
Pasca terapi kemoradiasi	2,73 (1,029)	

*Pair t test, $p \leq 0.05$

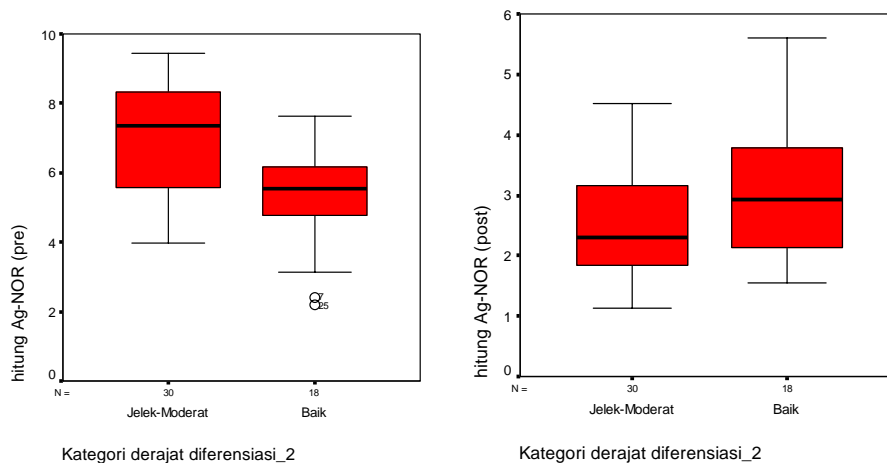
Pada tabel 5 menunjukkan bahwa hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi lebih tinggi dibanding pasca terapi kemoradiasi. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi ($p=0.0001$).

Perbandingan hitung AgNOR berdasarkan derajat diferensiasi sel karsinoma ditampilkan pada tabel 6 dan gambar 3.

Tabel 6. Rerata (SB) hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi berdasar derajat diferensiasi sel karsinoma.

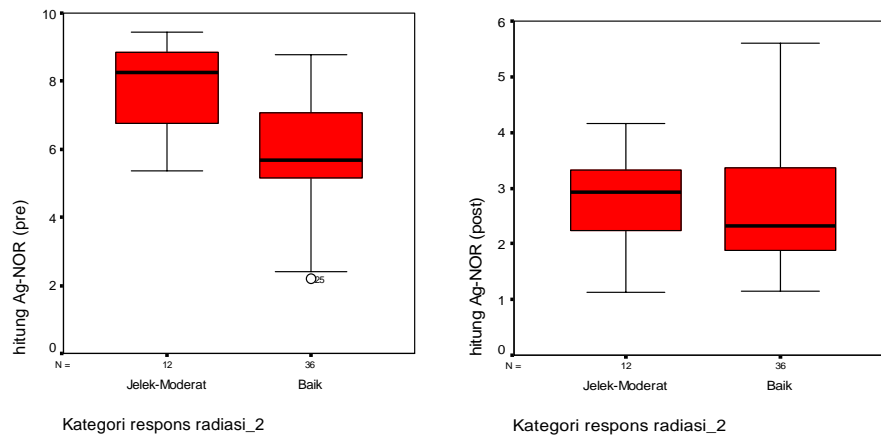
Pra/ pasca terapi kemoradiasi	Derajat diferensiasi sel pra terapi (blok parafin)		<i>p</i> *
	Jelek-Moderat	Baik	
	(n=30)	(n=18)	
Pra terapi kemoradiasi	7,06 (1,470)	5,26 (1,535)	0,0001
Pasca terapi kemoradiasi	2,51 (0,926)	3,09 (1,112)	0,054

*Independent sample t test, $p \leq 0.05$



Gambar 3. Hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi berdasarkan kategori derajat diferensiasi sel karsinoma.

Pada tabel 6 menunjukkan bahwa secara statistik terdapat perbedaan bermakna hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dengan derajat diferensiasi sel karsinoma ($p=0,0001$), Sedangkan pasca terapi kemoradiasi tidak terdapat perbedaan bermakna hitung AgNOR pasca terapi kemoradiasi dengan derajat diferensiasi sel karsinoma.



Gambar 4. Hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi berdasarkan kategori RRH.

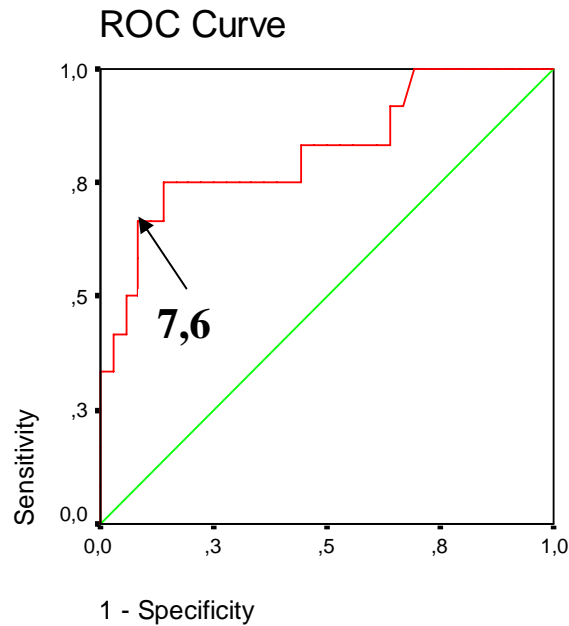
Perbandingan hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi berdasarkan kategori RRH ditampilkan pada tabel 7 dan gambar 4. Dapat dilihat bahwa terdapat penurunan nilai AgNOR pada kedua kelompok RRH setelah dilakukan terapi kemoradiasi. Nilai penurunan hitung AgNOR pada kelompok RRH jelek-moderat sedikit lebih tinggi dibandingkan pada kelompok RRH baik. Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan bermakna penurunan hitung AgNOR pada kelompok RRH jelek-moderat dengan kelompok RRH baik ($p=0,003$). Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan koefisien korelasi (r) antara penurunan nilai hitung AgNOR dengan RRH adalah minus 0,43 ($p=0,002$). Hal ini menunjukkan hubungan penurunan nilai hitung AgNOR dengan RRH adalah berkorelasi derajat sedang.

Secara statistik tidak dapat ditampilkan grafik regresi linier karena variabel tergantung pada penelitian ini (RRH) mempunyai skala ordinal.

Tabel 7. Rerata (SB) hitung AgNOR pra dan pasca terapi kemoradiasi dan nilai penurunannya berdasarkan kategori RRH.

**Independent sample t test, $p \leq 0,05$*

Hitung AgNOR	Rerata hitung AgNOR berdasar RRH		p^*
	Jelek-Moderat	Baik	
	(n=12)	(n=36)	
Pra terapi kemoradiasi	7,92 (1,240)	5,88 (1,554)	0,001
Pasca terapi kemoradiasi	2,92 (0,886)	2,66 (1,076)	0,453
Nilai penurunan	4,99 (1,496)	3,21 (1,792)	0,003



Gambar 5. Kurva ROC hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi untuk memprediksi respon radiasi histopatologis

ditunjukkan dengan luas area dibawah kurva ROC (*receiver operator characteristic*) seperti yang ditampilkan pada gambar 5. Pada gambar 5 menunjukkan bahwa luas area dibawah kurva untuk hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi adalah 0,82 ($p=0,001$). Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa hitung AgNOR pra terapi

kemoradiasi dapat digunakan sebagai petanda prognostik respon radiasi histopatologis.

Pada gambar 5 juga diketahui nilai *cut-of-point* dari hitung AgNOR pasca terapi kemoradiasi adalah 7,6 nilai *cut-of-point* dengan respon radiasi histopatologis ditampilkan pada tabel 8. Pada tabel tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara respon radiasi histopatologis dengan hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi yang telah dikategorikan sesuai dengan nilai *cut-of-point* ($p=0,0001$).

Tabel 8. Respon radiasi histopatologis (RRH) dengan kategori hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi berdasarkan nilai *cut-of-point* 7,60

Hitung AgNOR pra terapi	RRH pasca terapi		<i>p</i> *
	Jelek-moderat n (%)	Baik n (%)	
> 7,60	9 (64,3%)	5 (35,7%)	0,0001
≤ 7,60	3 (8,8%)	31 (91,2%)	
$\chi^2 = 13.445$	<i>db</i> = 1		$p \leq 0.05$

db :derajat bebas

*Fisher's Exact Test, $p \leq 0.05$ RP=7,3 (CI=2,3 s/d 22,98)

Dari tabel 8 menunjukkan bahwa hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi >7,60 mempunyai risiko 7,3 kali mengakibatkan RRH jelek-moderat dibanding kelompok dengan hitung AgNOR pra terapi ≤7,6 dan secara statistik dijumpai adanya hubungan bermakna ($p=0,0001$)

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa dengan nilai *cut-of-point* 7,60 hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi mempunyai nilai sensitivitas sebesar 75 %

dengan spesifisitas sebesar 86,11 % Selain itu penelitian ini juga menunjukkan adanya nilai duga negatif 91,17 %, dan nilai duga positif 64,28 %.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian pada 48 penderita karsinoma sel epidermoid serviks uteri stadium lanjut yaitu stadium IIB dan IIIB, dijumpai penderita dengan stadium IIIB adalah 58,3% lebih besar dibanding stadium IIB yang hanya 41,7%. Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya di RSUP.dr. Kariadi Semarang yang memperoleh hasil

penelitian bahwa penderita karsinoma serviks uteri stadium IIIB adalah lebih besar dibanding stadium IIB⁵⁶⁻⁵⁷. Hasil penelitian di India juga menunjukkan bahwa penderita karsinoma serviks uteri stadium III adalah lebih banyak dibanding penderita stadium II⁵⁸. Berbeda dengan penelitian di Jepang didapatkan jumlah penderita stadium IIB adalah lebih besar dibanding IIIB⁵⁹. Perbedaan ini dapat disebabkan karena perbedaan tingkat sosial ekonomi masyarakat serta keterjangkauan fasilitas kesehatan bagi masyarakat sehingga di negara dengan tingkat sosial ekonomi tinggi dengan fasilitas kesehatan yang memadai kuantitas maupun kualitasnya, keganasan lebih sering dijumpai pada stadium dini. Pada penelitian ini rerata umur penderita adalah 47,42 tahun, lebih muda dibandingkan rerata umur penderita di luar negeri yaitu 51,4 tahun dengan kecenderungan stadium yang lebih lanjut pada kelompok umur yang lebih tua⁶⁰.

Sampai saat ini kemoradiasi masih dianggap sebagai terapi yang efektif untuk keganasan serviks uteri stadium lanjut⁶¹. Pada penelitian dijumpai bahwa 75% penderita karsinoma sel epidermoid serviks uteri mempunyai respon radiasi histopatologis yang baik. Hasil yang sama juga diperoleh dari penelitian sebelumnya di RSUP dr. Kariadi Semarang yang menjumpai 77,3% penderita karsinoma serviks uteri yang mendapat terapi kemoradiasi menunjukkan respon radiasi histopatologis yang baik⁶². Resistensi sel kanker terhadap kemoradiasi merupakan penyebab kegagalan terapi. Ada beberapa mekanisme matinya sel kanker sebagai respon terhadap radiasi. Salah satu mekanisme umum kematian sel kanker adalah melalui mekanisme apoptosis⁶².

AgNOR merupakan salah satu cara penilaian aktivitas proliferasi sel dengan menghitung *nukleolar organizer region* (NOR) yang merupakan lengkung DNA ribosom yang ditranskripsikan menjadi RNA ribosomal dengan bantuan RNA polimerase. Jumlah AgNOR berkorelasi dengan aktivitas proliferasi sel. Pada sel yang sedang berproliferasi bintik AgNOR terlihat terpisah dari nukleolus dan sel dengan keganasan tinggi menunjukkan penyebaran bintik AgNOR di seluruh nukleoplasma. Pemeriksaan AgNOR didasarkan pada perubahan kuantitatif protein NOR yang berhubungan dengan aktivitas proliferasi¹³⁻¹⁵.

Pada penelitian ini diperoleh 57 sediaan yang dilakukan pengecatan dan pemeriksaan AgNOR ternyata didapatkan 9 sediaan pasca terapi kemoradiasi yang tak tervisualisasi bintik AgNORnya. Penyebab tidak tervisualisasi karena tidak terdapatnya sel ganas baik viabel maupun lisis pada sediaan tersebut. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa hitung AgNOR berperan untuk konfirmasi diagnosis adanya keganasan. Sehingga bintik AgNOR tidak akan tervisualisasi pada keadaan tidak terdapatnya keganasan. Pada penelitian di Padova, Italia didapatkan hasil bahwa pemeriksaan hitung AgNOR ini dapat membedakan dan sebagai konfirmasi diagnosis adanya keganasan pada kasus kecurigaan tumor paratiroid²⁰.

Dari 48 penderita pada penelitian ini diperoleh bahwa rerata hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi adalah lebih tinggi dibanding pasca terapi kemoradiasi. Terdapat penurunan nilai hitung AgNOR setelah penderita mendapat terapi kemoradiasi dan terbukti secara statistik terdapat hubungan antara penurunan nilai hitung AgNOR dengan RRH. Tingginya hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dijelaskan pada penelitian sebelumnya bahwa adanya peningkatan aktivitas

proliferasi pada sel ganas akan mengakibatkan hal tersebut⁶³. Tetapi belum ada penelitian yang menunjukkan hitung AgNOR pada kasus pra dan pasca terapi.

Pada penelitian ini ditunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dengan derajat diferensiasi sel. Dapat diamati bahwa hitung AgNOR cenderung lebih tinggi pada kelompok derajat diferensiasi jelek-moderat. Sesuai dengan teori bahwa pada keadaan tersebut aktivitas proliferasi sel menjadi lebih tinggi. Penelitian sebelumnya di India dan Croatia mendapatkan adanya hubungan antara hitung AgNOR dengan grading histopatologi¹⁹⁻²¹. Tetapi penelitian di Italia sebaliknya tidak dapat membuktikan adanya hubungan tersebut²¹.

Pada penelitian ini mendapatkan adanya hubungan bermakna antara hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dengan RRH. Hasil analisis ROC dijumpai bahwa hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi mempunyai luas area di bawah kurva sebesar 0,82. Secara statistik luas area di bawah kurva ROC yang dianggap mempunyai makna secara klinis apabila $\geq 0,70$. Berdasar hal di atas diketahui bahwa hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi mempunyai potensi untuk digunakan sebagai prediktor RRH. Penelitian sebelumnya di Italia yang mendukung hal ini menunjukkan bahwa hitung AgNOR mempunyai nilai prognosis pada keganasan⁶³

Analisis ROC pada penelitian ini memberikan nilai *cut-of-point* hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi adalah 7,6. Tampak bahwa nilai *cut-of-point* 7,6 memiliki nilai diagnostik yang baik untuk membedakan RRH baik dengan jelek-moderat. Nilai hitung AgNOR $>7,6$ mempunyai risiko 7,3 kali mengakibatkan RRH jelek-moderat dibandingkan kelompok hitung AgNOR $\leq 7,6$. Kategori hitung AgNOR berdasarkan nilai tersebut terhadap RRH memberikan nilai sensitivitas 75%,

spesifisitas 86,11% dengan nilai duga positif 64,28% dan nilai duga negatif 91,17%. Tampak bahwa nilai *cut-of-point* 7,6 memiliki nilai diagnostik yang baik untuk membedakan RRH baik dengan jelek-moderat. Namun nilai duga positif hanya 64,28% dimana ditunjukkan bahwa hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi $>7,6$ hanya dapat memprediksi 64,28% kasus pada penderita dengan RRH jelek-moderat. Sedangkan nilai duga negatif memberikan hasil yang lebih tinggi yaitu 91,17% yang berarti hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi $\leq 7,6$ dapat memprediksi 91,17% kasus pada penderita RRH baik. Didapatkan pada penelitian sebelumnya nilai *cut-of-point* yang lebih rendah. Penelitian di Croatia mendapatkan bahwa hitung AgNOR >5 merupakan prediktor buruknya survival penderita pada keganasan kolorektal²⁵.

Hubungan penurunan nilai hitung AgNOR dengan RRH menunjukkan bahwa semakin besar penurunan nilai maka akan semakin jelek RRH. Hal ini diakibatkan karena proporsi kelompok dengan derajat diferensiasi jelek-moderat yang lebih banyak dimana penurunan nilai AgNORnya lebih besar dan nilai hitung AgNOR pra terapinya yang jauh lebih tinggi dibandingkan kelompok derajat diferensiasi baik. Peran hitung AgNOR sebagai prediktor prognosis keganasan didasarkan pada pemikiran bahwa adanya hubungan hitung AgNOR dengan laju biogenesis ribosom yang berhubungan dengan cell doubling time dan laju pertumbuhan tumor, makin tinggi hitung AgNOR makin tinggi aktivitas proliferasi sel dan ekspansi massa tumor yang menentukan prognosis keganasan⁶³.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

- Terdapat perbedaan antara aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) pra dan pasca terapi pada penderita KSU-SL dimana aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) pra terapi lebih tinggi dibandingkan pasca terapi.
- Hitung AgNOR pra terapi kemoradiasi dapat digunakan sebagai prediktor respon radiasi histopatologis dengan *cut of point* adalah 7,6 dimana hitung AgNOR pra terapi $>7,6$ mempunyai risiko 7,3 kali menyebabkan RRH jelek-moderat dibandingkan hitung AgNOR pra terapi $\leq 7,6$.

- Terdapat hubungan antara penurunan aktivitas proliferasi (nilai hitung AgNOR) dengan respon radiasi histopatologis pada penderita KSU-SL yang mendapat terapi kemoradiasi dimana semakin besar penurunan nilai hitung AgNOR semakin jelek RRHnya.

7.2 Saran

- Dengan melihat hasil penelitian diatas mengenai peran aktivitas proliferasi (hitung AgNOR) maka sebaiknya pada penderita KSU-SL yang akan menjalani kemoradiasi dilakukan pemeriksaan hitung AgNOR untuk prediksi RRH dimana jika diprediksi RRH jelek maka sebaiknya penderita harus diupayakan untuk mendapatkan program terapi maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Schellekens MC, Dijkman A, Azis MF, Siregar B, Cornain S, Uljee SK, Peters LAW, Fleuren GJ. Prevalence of single and multiple HPV types in cervical carcinomas in Jakarta, Indonesia. *Gynecologic Oncology* 2004;93:49-53.
2. Krivak TC, McBroom JW, Elkas JC. Cervical and vaginal cancer. *Novak's Gynecology* 13th.Ed. Philadelphia, USA: Lippincott William and Wilkin, 2002: 1199-1237.
3. De Boer MA, Peters LAW, Azis MF, Siregar B, Cornain S, Vrede MA, Jordanova ES, Uljee SK, Fleuren GJ. Human papillomavirus type 16 E6,E7, and L1 variants in cervical cancer in Indonesia, Suriname, and The Netherlands. *Gynecologic Oncology* 2004;94:488-94.
4. Cannistra SA, Niloff JM. Cancer of the uterine cervix. *The New England Journal of Medicine*. 1996:1030-36.
5. Rock JA, Thompson JD. Invasive carcinoma of the cervix. *Te Linde's Operative Gynecology*.8th.Ed. Philadelphia:J.b.Lippincott Company;1997.p.1413-99
6. DiSaia PJ, Creasman WT. Invasive cervical cancer. *Clinical Gynecologic Oncology*. 5th. Ed. Missouri: Mosby, 1997: p.51-106.
7. Constantinides P. *General Pathobiology*. Appleton Lange; 1994: p:239-85.
8. Tjahjono. Analisis aktivitas proliferasi pada siklus sel untuk menentukan sifat dan prognosis kanker. *M Med Indonesiana* 2002;37: 1-7

9. Derenzini M. Nucleolar organizer regions in tumour cell. *The Cancer* 1994;7: 2-3.
10. Derenzini M, Trere D, Pession A. Nucleolar size indicates the rapidity of cell proliferation in cancer tissues. *J Pathol* 2000;191:181-6
11. Derenzini M, Trere D, Pession AI. Nucleolar function and size in cancer cells. *Am J Pathol* 1998;152:1291-7
12. Pich A, Chiusa L, Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumour pathology. *Micron* 2000;31:133-41
13. Derenzini M. The AgNORs. *Micron* 2000;31:117-20
14. Trere D. AgNOR staining and quantification. *Micron* 2000;31: 127-31
15. Derenzini M, Ploton D. Interphase nucleolar organizer regions in cancer cells. *Int Rev Exp Pathol* 1991;32:149-92
16. Antonio T, Bolivar J, Jose J and Valdivia MM. Immunohistochemical detection of ribosomal transcription factor UBF and AgNOR staining identify apoptotic events in neoplastic cells of Hodgkin's disease. *J Histochem and Cytochem* 2000;48: 1521-30
17. Trere D, Ceccarelli C, Montanaro L, Tosti E and Derenzini M. Nucleolar size and activity are related to pRb and p53 status in human breast cancer. *J.Histochem and Cytochem* 2004;52: 1601-7
18. Korneyev IA, Mamaev NN, Kozlov VV, Rybakova MG and Al-Shukri SH. Interphase argyrophilic nucleolar organizer regions and nucleolar counts in transitional cell bladder tumours. *J Clin Pathol* 2000;53: 129-32

19. Eminovic S. Prognostic Significance of DNA Ploidy Pattern and Nucleolar Organizer Regions (AgNOR) in Colorectal Carcinoma. *Croat Med J* 2000;41:154-8
20. Lumachi F. Relationship of AgNOR counts and nuclear DNA content to survival in patients with parathyroid carcinoma. *Endocrine Related Cancer* 2004;11(3):563-9
21. Khanna AK. AgNOR count and Subjective AgNOR Pattern Assessment Score in Carcinoma of the Pancreatic Head Including Periampullary Tumors. *J Pancreas* 2005;6(6):575-80
22. Mudigdo A. Peran p53, pRb dan c-myc dalam aktivitas proliferasi sel pada karsinoma serviks uteri dengan infeksi HPV 16 dan 18[Disertasi]. Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya : 2002
23. Argadikoesoema SG. Faktor prediksi respons radiasi pada karsinoma nasofaring [Disertasi] Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Jakarta : 1998
24. Rich WM. Cancer of the cervix. Available from URL = <http://www.gynecancer.com/cervix.html>
25. Azis MF. Masalah pada kanker serviks. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2001;133:5-8.
26. Sirait AM. Ketahanan hidup penderita kanker serviks di RS dr Cipto Mangunkusumo Jakarta. *MOGI* 1997;3:182-88.
27. Dwipoyono B, Nasdaldy, Soemanadi, Sjamsuddin S, Adisasmita AC. Peran jenis histologik dan umur pada kanker serviks uteri di RS Kanker “Dharmais”.

Available from URL= http://www.dharmais.co.id/infokanker/ARTIKEL/artikel_serviks_uteri_april_2001.htm

28. Sarjadi. Studi histopatologi post radiasi karsinoma epidermoid serviks uterus. *Maj Kedokteran Diponegoro* 1989;1: 21-6.
29. Hidayat ST, Suyono B. Karakteristik kasus rujukan keganasan ginekologi di RS Dr. Kariadi. *Naskah lengkap PIT X POGI Ujung Pandang*, 1997: 140-42.
30. Iskandar TM, Suprijono. Peran squamous cell carcinoma (SCC) dalam evaluasi keberhasilan terapi karsinoma serviks uteri. *Naskah lengkap KOGI Palembang*, 2001
31. Abbas AK, Litchman AH, Pober JS, editors. *Immunity to tumours. Cellular and molecular immunology 3rd.Ed. Philadelphia:Saunders;1997.p.382-405*
32. Iwasaka T, Oh-uchida M, Marsuo N, Yokoyama M, Fufuda K, Hara K. Correlation between HPV positivity and state of the p53 gene in cervical carcinoma of cell lines. *Gynecol Oncol* 1993;7: 104-9
33. Southern SA, Herrington CS. Disruption of cell cycle control by human papilloma virus with special reference to cervical carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2000;10:263-74
34. Garcia AA, Bi J. Cervical cancer. Kavanagh JJ, Talavera F, Barnes AD, Gaupp FB, Shulman LP, editors. *eMedicine*. 17 April 2002.available from URL= <http://www.emedicine.com/med/topic324.htm>

35. Kitano Y, Fujisaki S, Nakamura N, Miyasaki K, Katsuki T, Okamura H. Immunological disorders against the Epstein-Barr virus infection and prognosis in patients with cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995, 57:150-7
36. National Cancer Institute-PDQ Treatment health professionals. Cervical cancer 2002. Available from URL= [http:// www.meds.com/pdq/cervical-pro.html](http://www.meds.com/pdq/cervical-pro.html)
37. Sjamsuddin S. Prinsip-prinsip dasar kanker serviks. Kumpulan makalah Subbagian Onkologi Bagian Obstetri dan Ginekologi FKUI/RSCM, 1996.
38. Benedet JL, Pecorelli S. Staging classifications and clinical practice guidelines for gynaecological cancers. A collaboration between FIGO and IGCS. 3rd.Ed..Elsevier;2006:37-52
39. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Uterine Cervix. *Histological Typing of Female Genital Tract Tumours In Collaboration with Pathologists in 10 Countries*. 2nd.Ed. Springer Verlag, 1994:4-5
40. Diagnosis and treatment of cervical carcinoma. ACOG practise bulletin clinical management guidelines for obstetrician and gynecologist. *Obstetric and gynecol*, 2002: 855-59.
41. Hacker NF. Cervical cancer. Berek JS, Hacker NF, editors. *Practical gynecologic oncology*. 3rd.Ed..Philadelphia:Lippincott Williams and Wilkins;2000.p.345-405
42. Eifel PJ. Radiation therapy. *Practical gynecologic oncology* 5th.Ed. 2000: 117-58.

43. DiSaia PJ, Creasman WT, editors. Appendix G:Basic principles in gynecologic radiotherapy. Clinical gynecologic oncology.5th.Ed..S.Louis:Mosby;1997.p.617-32
44. Belli JA. The radiobiologic basis for radiation therapy. Knapp RC, Berkowitz RS, eds. Gynaecologic Oncology. 2nd.Ed.. Singapore, McGraw Hill Inc; 1993: 109-18.
45. Iskandar TM. Efektivitas linear accelerator pada pengobatan karsinoma serviks uteri [Tesis] Program Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Diponegoro:1996.
46. Lindegaard JC, Overgaard J, Bentzen SM, Pedusen D. Is there a radiobiologic basis of improving the treatment of advanced stage cervical cancer? J.National Cancer Inst Mono 1996;21:105-11
47. Feldmier JJ. Radiation oncology. Weiss GR, ed. Clinical Oncology. London, Prentice Hall International Inc; 1993: 74-88.
48. Ristiyati. Adjuvant Mitomycin C pada karsinoma serviks uteri [Tesis]. Program Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Diponegoro:1989
49. Tattersall MHN. Concomitant and neoadjuvant chemotherapy in conjunction with radiotherapy in the management of locally advanced cervical cancer. J Natl Cancer Inst Mono;1996;21:101-3
50. Millan TJM, Steel GG. Molecular aspects of radiation biology. Steel GG,eds. Basic Clinical Radiobiology. London:Edward Arnold, 1993.p.211-24

51. Holschneider CH. Premalignant and malignant disorders of the uterine cervix. Current Obstetrics and Gynecologic Diagnosis and Treatment. 9th .Ed. New York:McGraw-Hill,2003:895-911.
52. Andrijono. Kanker serviks. Sinopsis kanker ginekologi. Badan Penerbit FKUI Edisi kedua, Jakarta 2005 : 14-35.
53. Davis MA. Cervical neoplasia.available from URL= http://www.medicallibrary.org/journals/secure/obgyn_reviewp/secure/cervical/neoplasia.htm
54. Perhimpunan Onkologi Radiasi Indonesia (PORI). Standar pelayanan profesi radioterapi kanker leher rahim, 2000.
55. Ofner D, Bankvalvi A, Rieherman K, et al. Wet autoclave pretreatments improves the visualization of silver-stained nucleolar organiser region associated proteins in routinely formalin-fixed and paraffin embedded tissues. Mod Pathol 1994;7:946-50
56. Kusumaningrum R. Hubungan Persistensi DNA Virus Humanpapilloma dengan Respon Radiasi Histopatologis pada Karsinoma Serviks Uteri Stadium Lanjut yang Telah Mendapat Terapi radiasi atau Kemoradiasi. [Tesis]. Program Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Diponegoro:2005
57. Soehermawan D. Hubungan Penurunan Kadar Squamous Cell Carcinoma Antigen dengan Respon Radiasi Histopatologis pada Karsinoma Sel

Epidermoid Serviks Uteri Stadium Lanjut [Tesis]. Program Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Diponegoro:2006

58. Taneja A, Rajaram S, Agarwal S, Singh KC, Sahni S, Goei N. "Quick Cycle" neoadjuvant chemotherapy in squamous cell carcinoma of cervix. *Indian J Pharmacol* 2005;37:320-4.
59. Ohara K, Tanaka YO, Tsunoda H, Nishida M, Sugahara S, Itai Y. Assessment of cervical cancer radioresponse by serum squamous cell carcinoma antigen and magnetic resonance imaging. *Obstet Gynaecol* 2002; 100:781-7.
60. Morice P, Deyrolle C, Rey A, Atallah D, Pautier P, Camatte S, et al. Value of routine follow-up procedures for patients with stage I/II cervical cancer treated with combined surgery–radiation therapy. *Annals of Oncology* 2004;15: 218–23
61. Liu SS, Leung RC, Chan KY, Chiu P, Cheung AN, Tam K, et al. p73 Expression Is Associated with the Cellular Radiosensitivity in Cervical Cancer after Radiotherapy. *Clin Cancer Res* 2004;10: 3309-16
62. Dueñas-González A, Lizano M, Candelaria M, Cetina L, Arce C, Cervera E. Epigenetics of cervical cancer. An overview and therapeutic perspectives. *Mol Cancer* 2005;4:38.
63. Derenzini M, Ceccarelli C, Santini D, Taffurelli M, Trere D. The Prognostic Value of the AgNOR Parameter in Human Breast Cancer Depends on the pRb and p53 status. *J Clin Pathol* 2004;57:755-61

