

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Karsinoma Ovarium Epitel

2.1.1. Definisi

Karsinoma ovarium epitel adalah kanker pada ovarium yang berasal dari sel epitel. Karsinoma jenis ini menempati 90-95% dari semua kasus karsinoma ovarium.¹²

2.1.2. Karsinogenesis

Sel-sel kanker merupakan sel yang telah berubah struktur dan fungsi sedemikian rupa sehingga sel tersebut mengalami pertumbuhan yang abnormal, invasif, yang dapat menyebar ke organ lain. Proses perubahan tersebut dinamakan karsinogenesis.

Ada empat golongan gen yang memainkan peranan penting dalam mengatur sinyal mekanisme faktor pertumbuhan dan siklus sel itu sendiri, yaitu protoonkogen, gen supresor tumor, gen yang mengatur apoptosis, dan gen yang memperbaiki DNA.

Protoonkogen adalah gen seluler yang berfungsi untuk mendorong dan meningkatkan pertumbuhan normal dan pembelahan sel. Sel yang memperlihatkan bentuk mutasi dari gen ini disebut onkogen. Kode protoonkogen untuk protein terlibat dalam proliferasi yang diaktifkan oleh reseptor dan jalur diferensiasi, termasuk faktor pertumbuhan, reseptor faktor pertumbuhan, protein yang terlibat dalam sinyal transduksi, protein pengaturan inti, dan pengaturan siklus sel. Protoonkogen yang mengode berbagai komponen dalam aliran tersebut dapat bermutasi menjadi onkogen (menghasilkan onkoprotein yang abnormal) yang tetap mengaktifkan jalur tersebut terus-menerus sehingga sel yang normal mempunyai kemungkinan yang besar untuk berubah menjadi sel kanker.

Gen supresor tumor bertugas menghambat kerusakan pada pertumbuhan sel dan siklus pembelahan. Mutasi pada gen ini menyebabkan sel mengabaikan satu atau lebih komponen jaringan sinyal penghambat, memindahkan kerusakan dari

siklus sel dan menyebabkan angka yang tinggi dari pertumbuhan yang tidak terkontrol (kanker).

Apoptosis atau kematian sel terprogram adalah suatu proses aktif menyingkirkan sel-sel dari organisme. Ada dua jenis gen yang mengatur apoptosis, yaitu gen proapoptosis dan antiapoptosis.

Gen perbaikan DNA berfungsi untuk mengoreksi kesalahan yang timbul ketika sel menduplikasi DNA-nya sebelum pembelahan sel. Penyebab kerusakan DNA mencakup radiasi, bahan kimia, sinar ultraviolet, dan kesalahan acak dalam replikasi DNA. Mutasi pada gen perbaikan DNA dapat menyebabkan kegagalan perbaikan DNA, yang pada gilirannya memungkinkan mutasi selanjutnya pada gen supresor tumor dan protoonkogen untuk menumpuk. Jadi, peristiwa awal yang mengubah sel normal menjadi abnormal mungkin merupakan suatu permulaan dari suatu onkogen, inaktivasi gen supresor tumor, atau kegagalan untuk memperbaiki DNA atau menginduksi apoptosis sel yang mengalami kerusakan.

Model klasik karsinogenesis membagi proses karsinogenesis menjadi tiga langkah, yaitu langkah inisiasi, promosi, dan progresi. Langkah inisiasi adalah suatu proses yang melibatkan mutasi genetik menjadi permanen dalam DNA sel. Promosi adalah suatu proses ketika sel mutan berproliferasi. Hormon sering menjadi promotor yang merangsang pertumbuhan, misalnya estrogen yang dapat menstimuli pertumbuhan kanker payudara dan ovarium. Langkah ketiga adalah progresi, yaitu suatu tahap ketika klon sel mutan mendapat satu atau lebih karakteristik neoplasma ganas seiring berkembangnya tumor. Selama stadium progresi, massa tumor yang meluas mendapat lebih banyak perubahan yang memungkinkan tumor menginvasi jaringan didekatnya, membentuk pasokan darahnya sendiri (angiogenesis), penetrasi ke pembuluh darah, dan bermetastasis membentuk tumor sekunder.¹³

2.1.3. Klasifikasi Histopatologi dan Tingkat Keganasan

Berdasarkan temuan histologinya, tumor ovarium diklasifikasikan menjadi 6 kelompok, yaitu¹⁴:

- Tumor-tumor epitel ovarium (90% dari seluruh jenis tumor ovarium)
- Tumor ovarium *borderline* (*low malignant*)
- Tumor-tumor stroma korda seks
- Tumor-tumor sel germinal
- Karsinoma peritoneum primer
- Karsinoma ovarium metastatik

Karsinoma ovarium epitel sendiri menurut WHO (*World Health Organization*) dapat diklasifikasikan menjadi :

1. Serous tumors

Benign

- Cystadenoma and papillary cystadenoma
- Surface papilloma
- Adenofibroma and cystadenofibroma
- Tumor of low malignant potential

Malignant

- Adenocarcinoma
- Surface papillary adenocarcinoma
- Malignant adenofibroma and cystadenofibroma

2. Mucinous tumors

Benign

- Cystadenoma
- Adenofibroma and cystadenofibroma
- Intestinal Type
- Endocervical like

Malignant

- Adenocarcinoma

- Malignant adenofibroma
 - Mural nodule arising in mucinous cystic tumor
3. Endometrioid Tumors
- Benign
- Adenoma and cystadenoma
 - Adenofibroma and cystadenofibroma
 - Tumor of low malignant potential
 - Endometrioid tumors (continued)
- Malignant
- Adenocarcinoma
 - Adenoacanthoma
 - Adenosquamous carcinoma
 - Malignant adenofibroma with stromal component
 - Adenosarcoma
 - Endometrial stromal sarcoma
 - Carcinosarcoma, homologous and heterologous
 - Undifferentiated sarcoma
4. Clear cell tumors
- Benign
- Tumor of low malignant potential
- Malignant
- Adenocarcinoma
5. Transitional cell tumors
- Brenner's tumor
 - Proliferating Brenner's tumor
 - Malignant Brenner's tumor
 - Transitional cell carcinoma (non-Brenner type)
6. Squamous cell carcinoma

7. Mixed epithelial tumors (specify types)

Benign

- Tumor of low malignant potential

Malignant

8. Undifferentiated carcinoma

Secara internasional hingga saat ini diakui dua sistem klasifikasi yang kedua-duanya umum digunakan, yaitu system TNM dari UICC (*Union Internationale Contra le Cancer*) dan system FIGO (*Federation Internationale de Gynecologie et d'Obstetrique*).¹⁵

Tabel 1. Klasifikasi Tingkat Keganasan Tumor Ovarium

UICC	Kriteria	FIGO
T1	Terbatas pada ovarium	I
T1a	Satu ovarium, tanpa ascites	Ia
T1b	Kedua ovarium, tanpa ascites	Ib
T1c	Satu/dua ovarium, ada ascites	Ic
T2	Dengan perluasan ke panggul	II
T2a	Uterus dan/atau tuba, tanpa ascites	IIa
T2b	Jaringan panggul lainnya, tanpa ascites	IIb
T2c	Jaringan panggul lainnya, dengan ascites	IIc
T3	Perluasan ke usus halus/omentum dalam panggul, atau Penyebaran intraperitoneal/kelenjar retroperitoneal	III
M1	Penyebaran ke alat-alat jauh	IV

Dikutip dari: UICC annual of Clin. Oncol, 4-th Ed, Fully Rev, 1987, p.240

Sumber: Prawirohardjo, S. Ilmu Kebidanan. 2006

2.1.4. Insiden

Karsinoma ovarium epitel merupakan keganasan kelima tersering yang terjadi di Amerika Serikat, setelah kanker paru-paru, kolorektal, payudara, dan pankreas. Pada tahun 2007 di Amerika Serikat, karsinoma ovarium epitel didiagnosis pada sekitar 22.000 wanita setiap tahun, dengan 15.000 wanita meninggal karena penyakit ini. Risiko seorang wanita menderita karsinoma ovarium epitel dalam hidupnya adalah 1 berbanding 70. Di dunia, lebih dari 200.000 wanita diperkirakan mengidap karsinoma ovarium setiap tahunnya dan sekitar 100.000 meninggal karena penyakit ini.³ Secara keseluruhan, usia rata-rata wanita saat diagnosis karsinoma ovarium ditegakkan adalah kurang dari 60 tahun.¹²

2.1.5. Etiologi dan Faktor Risiko

Ada beberapa hipotesis yang mencoba menjelaskan etiologi karsinoma ovarium, yaitu¹⁴:

- Hipotesis *incessant ovulation*

Teori yang diperkenalkan oleh Fathalla pada tahun 1972 ini menyatakan bahwa pada saat ovulasi, terjadi kerusakan pada sel-sel epitel ovarium. Untuk penyembuhan luka yang sempurna diperlukan waktu. Jika sebelum penyembuhan tercapai terjadi lagi ovulasi atau trauma baru, proses penyembuhan akan terganggu dan kacau sehingga dapat menimbulkan proses transformasi menjadi sel-sel tumor.

- Hipotesis gonadotropin

Pada percobaan pada rodentia ditemukan jika kadar hormon estrogen rendah di sirkulasi perifer, kadar hormon gonadotropin akan meningkat. Peningkatan kadar hormon gonadotropin ini ternyata berhubungan dengan bertambah besarnya tumor ovarium pada binatang tersebut.

- Hipotesis androgen

Teori yang diperkenalkan pada tahun 1998 oleh Risch ini mengatakan bahwa androgen mempunyai peran penting dalam terbentuknya karsinoma ovarium. Dalam percobaan invitro, androgen dapat menstimulasi pertumbuhan epitel ovarium normal dan juga sel-sel karsinoma ovarium epitel dalam kultur sel.

- Hipotesis progesteron.

Percobaan pada kera macaque, progesteron menginduksi terjadinya apoptosis sel epitel ovarium, sedangkan estrogen menghambat apoptosis sel tersebut.

- Faktor Genetik dan Familial dalam Karsinoma Ovarium

Wanita yang merupakan ibu, anak, kakak atau adik dari penderita karsinoma ovarium mempunyai tiga kali risiko lebih tinggi untuk menderita karsinoma ovarium daripada wanita yang tidak mempunyai riwayat keluarga penderita karsinoma ovarium.

Berdasarkan penelitian epidemiologi, dikenal tiga kelainan genetik yang berhubungan dengan karsinoma ovarium. Namun karena kelainan genetik ini tidak hanya menyebabkan keganasan pada ovarium saja, tetapi juga menyebabkan keganasan pada organ lain secara bersamaan, maka disebut suatu sindroma.

Ada tiga sindroma yang dikenal, sesuai dengan urutan yang paling banyak dijumpai, yaitu:

1. *Hereditary Breast/Ovarian Cancer Syndrome (HBOC)*
2. *Hereditary Site-specific Ovarian Cancer*
3. *Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer Syndrome (HNPCC) atau Lynch syndrome*

Pada karsinoma ovarium terjadi mutasi onkogenik K-*ras*. Anggota onkogen *ras* meliputi K-*ras*, H-*ras*, dan N-*ras*. Produk protein gen-gen tersebut berperan dalam regulasi siklus sel dan mengontrol proliferasi sel. Sehingga mutasi pada gen tersebut menyebabkan penghambatan apoptosis dan meningkatkan proliferasi sel. Selain itu juga, terjadi mutasi pada gen supresor tumor p53, yang terletak di

kromosom 17. Produk protein ini menghambat sel-sel untuk memasuki tahap pembelahan sel dan dengan begitu menghambat replikasi sel-sel yang tidak terkontrol.

Ada dua gen supresor tumor lain, yaitu BRCA1 dan BRCA2, yang produk proteinnya berinteraksi dengan protein DNA-*repair* untuk menjaga struktur kromosom tetap intak. Mutasi BRCA1 dan BRCA2 menyebabkan instabilitas genetik, selanjutnya menyebabkan sel berisiko tinggi untuk bertransformasi menjadi ganas. Gen BRCA1 terletak di kromosom 17q21. Pasien dengan mutasi gen ini mempunyai risiko yang lebih tinggi untuk menderita kanker payudara (45-85%) dan ovarium (20-45%). Gen BRCA2 terletak di kromosom 13q12 dan mutasinya dapat meningkatkan risiko kanker payudara sebesar 30-50% dan kanker ovarium sebesar 10-20%. Kehilangan fungsi BRCA dan p53 telah terbukti berperan penting dalam memicu karsinogenesis.^{12,16}

Berikut tabel mengenai etiologi dan risiko relatif terjadinya karsinoma ovarium :

Tabel 2. Etiologi dan Risiko Relatif Karsinoma Ovarium

Meningkatkan Risiko	RR	Menurunkan Risiko	RR
- Bedak talk	1,1 – 1,9	Pil kontrasepsi	0,6
- MHT (Menopausal Hormone Therapy)		Ligasi tuba	0,3
a. estrogen saja 10 tahun	2,2	Paritas tinggi	0,7
b. estrogen saja 20 tahun	3,2		
c. estrogen + progestin	1,5		
- Klomifen sitrat 12 siklus	11		
- Riwayat keluarga ca ovarium			
a. Ibu dari penderita	1,1		
b. Saudara dari penderita	3,8		
c. Anak dari penderita	6		

Sumber : Prawirohardjo, S. Onkologi Ginekologi. 2006

2.1.6. Diagnosis

Diagnosis karsinoma ovarium didasarkan atas tiga gejala/tanda yang biasanya muncul dalam perjalanan penyakitnya yang sudah agak lanjut :

- gejala desakan yang dihubungkan dengan pertumbuhan primer dan infiltrasi ke jaringan sekitar, misalnya tumor yang mendesak rektum atau kandung kemih mungkin akan bermanifestasi sebagai konstipasi atau sering berkemih.
- gejala diseminasi atau penyebaran yang diakibatkan oleh implantasi peritoneal dan bermanifestasi adanya ascites,
- gejala hormonal yang bermanifestasi sebagai defeminisasi, maskulinisasi atau hiperestrogenisme; intensitas gejala ini sangat bervariasi dengan tipe histologik tumor dan usia penderita.

Tanda yang paling penting adanya karsinoma ovarium adalah ditemukannya massa tumor di pelvis. Kondisi yang sebenarnya dari tumor jarang dapat ditegakkan hanya dengan pemeriksaan klinis. Pemakaian USG (Ultrasonografi) dan CT Scan (*Computerised axial Tomography Scanning*) dapat memberi informasi yang berharga mengenai ukuran tumor dan perluasannya sebelum pembedahan. Laparotomi eksploratif disertai biopsi potong beku masih tetap merupakan prosedur diagnostik paling berguna untuk mendapat gambaran sebenarnya mengenai tumor dan perluasannya serta menentukan strategi penanganan selanjutnya.¹⁴

2.1.7. Penatalaksanaan

Penatalaksanaan karsinoma ovarium ditentukan oleh stadium, derajat diferensiasi, fertilitas, dan keadaan umum penderita. Pengobatan utama adalah operasi pengangkatan tumor primer dan metastasisnya, dan bila perlu diberikan terapi ajuvan seperti kemoterapi, radioterapi (*intraperitoneal radiocolloid* atau *whole abdominal radiation*), imunoterapi/terapi biologi, dan terapi hormon.

- Penatalaksanaan Operatif Karsinoma Ovarium Stadium I

Pengobatan utama untuk karsinoma ovarium stadium I adalah operasi yang terdiri dari histerektomi totalis perabdominalis, salpingooforektomi bilateralis, apendektomi, dan *surgical staging*. Namun ada juga penderita yang memerlukan terapi ajuvan pascaoperasi, yaitu penderita karsinoma ovarium stadium IC, stadium I derajat diferensiasi 3, stadium II, dan tumor jenis *clear cell*.

Surgical staging adalah suatu tindakan bedah laparotomi eksplorasi yang dilakukan untuk mengetahui sejauh mana perluasan suatu karsinoma ovarium dengan melakukan evaluasi daerah-daerah yang potensial akan dikenai perluasan atau penyebaran karsinoma ovarium. Temuan pada *surgical staging* akan menentukan stadium penyakit dan pengobatan ajuvan yang perlu diberikan. Bila pada eksplorasi secara visual dan palpasi tidak ditemukan penyebaran makroskopis dari karsinoma tersebut, penyebaran mikroskopis harus dicari dengan melakukan pemeriksaan mikroskopis cairan peritoneum, biopsi peritoneum, omentektomi, dan limfadenektomi kelenjar getah bening pelvis dan para-aorta.

Bila dilihat dari luasnya tindakan *complete surgical staging*, tindakan itu disebut juga tindakan operasi yang radikal. Adakalanya tindakan operasi konservatif harus dilakukan pada sekelompok penderita yang masih berusia muda yang masih memerlukan potensi fertilitasnya, karsinoma ovarium stadium IA, tumor *borderline*, musinosum, serosum, dan endometrioid, atau diferensiasi tumornya baik.

- Penatalaksanaan Karsinoma Ovarium Stadium Lanjut (II,III,IV)

Pendekatan terapi pada stadium lanjut mirip dengan penatalaksanaan kasus pada stadium dini dengan sedikit modifikasi bergantung pada penyebaran metastasis dan keadaan umum penderita. Tindakan operasi pengangkatan tumor primer dan metastasisnya di omentum, usus dan peritoneum disebut operasi "*debulking*" atau operasi sitoreduksi. Tindakan operasi ini tidak kuratif sehingga diperlukan terapi ajuvan untuk mencapai kesembuhan, yaitu kemoterapi atau radioterapi.¹⁴

2.1.8. Prognosis

Angka harapan hidup 5 tahun untuk pasien karsinoma ovarium epitel menurut FIGO (*Federation Internationale de Gynecologie et d'Obstetrigue*) adalah ³:

- Stage IA - 87%
- Stage IB - 71%
- Stage IC - 79%
- Stage IIA - 67%
- Stage IIB - 55%
- Stage IIC - 57%
- Stage IIIA - 41%
- Stage IIIB - 25%
- Stage IIIC - 23%
- Stage IV - 11%
- Overall survival rate - 42%

2.2. Estrogen

2.2.1. Sintesis Estrogen

Ada tiga estrogen alamiah yang terpenting yaitu estradiol-17 β (E₂), estron (E₁), dan estriol (E₃). Secara biologis, estradiol adalah yang paling aktif. Perbandingan khasiat biologis dari ketiga hormon tersebut E₂ : E₁ : E₃ = 10 : 5 : 1.¹⁵ Estrogen merupakan steroid C₁₈ yang berasal dari kolesterol. Tiap steroid dibentuk dengan reduksi atom karbon dari 27 sampai 18.¹⁷

Pada wanita masa reproduksi, estradiol diproduksi sebanyak 0,09-0,25 mg/hari, estron 0,11-0,26 mg/hari. Kadar estradiol dalam darah berkisar antara 20-500 pg/ml dan estron 50-400 pg/ml, sedangkan pada wanita masa menopause kadar estradiol dibawah 10 pg/ml, dan kadar estron dibawah 30 pg/ml, sebagai perbandingan diketahui kadar estradiol pada laki-laki berkisar antara 15-25 pg/ml dan kadar estron 40-75 pg/ml. Kadar estradiol mencapai puncaknya pada saat 2 hari sebelum ovulasi dengan kadar mencapai 150-400 pg/ml. Setelah ovulasi

kadar estradiol menurun, untuk kemudian meningkat lagi sampai kira-kira hari ke 21, selanjutnya hormon ini menurun lagi sampai akhir siklus.¹⁷

2.2.2. Sumber Endogen Estrogen

Sumber utama estradiol pada wanita adalah sel teka dan sel granulosa pada ovarium. Berdasarkan teori sintesis estrogen “dua sel”, sel teka menyekresi androgen yang berdifusi ke sel granulosa untuk diaromatisasi menjadi estrogen. Estron dan estriol dibentuk di hati dari estradiol.

Aktivitas aromatase juga terdapat di otot, lemak, jaringan saraf, dan sel leydig di testis. Selama kehamilan, estriol disintesis di sinsitiotrofoblast dengan aromatisasi 16 α -hidroksiandrostenedion. 16 α -hidroksiepiandosteron sulfat, yang diproduksi oleh hati fetus dan desulfatasi di plasenta, juga diproduksi oleh kelenjar adrenal. Kombinasi kelenjar adrenal fetus dan plasenta disebut unit fetoplasenta dari biosintesis steroid.¹⁷

2.2.3. Transportasi dan Metabolisme Estrogen

Di serum, 97-98% estradiol secara reversibel menempel pada *sex-hormone-binding globulin* (SHBG), β -globulin, dan albumin, serta 2-3% nya bebas. Estrogen dimetabolisme secara sulfasi atau glukuronidasi, dan konjugatnya dieksresikan ke cairan empedu atau urin. Hidrolisis dari konjugat tersebut dilakukan oleh flora intestinal dan selanjutnya reabsorpsi estrogen berakhir di sirkulasi hepatic.

Estrogen juga dimetabolisme dengan hidroksilasi dan selanjutnya metilasi untuk membentuk *catechol* dan estrogen methoksilat. Hidroksilasi dari estrogen menghasilkan 2-hidroksiestrogen, 4-hidroksiestrogen, dan 16 α -hidroksiestrogen (*catechol* estrogen). 4-hidroksiestrogen dan 16 α -hidroksiestrogen bersifat karsinogenik. Metilasi dari 2-hidroksiestrogen dan 4-hidroksiestrogen oleh *catechol* O-metiltransferase menghasilkan metabolit estrogen metoksilat. *Catechol* estrogen menempel ke reseptor estrogen dan mempunyai aktivitas yang lemah pada hewan, dan menghambat *catechol* O-metiltransferase pada celah sinap diantara neuron. *Catechol* estrogen dapat meneruskan siklus redoks metabolik,

sebuah proses yang menghasilkan intermediet quinon sebagai metabolitnya. Karena pembentukan radikal bebas pada proses ini dan penempelan kovalen intermediet ini ke DNA, menunjukkan bahwa estrogen mempunyai aktivitas genotoksik.¹⁷

2.2.4. Fungsi Estrogen

- Fungsi Umum

Khasiat biologis utama dari estrogen adalah sebagai penstimuli sintesis DNA melalui RNA, pembentuk utusan RNA (*messenger RNA*), sehingga terjadi sintesis protein.

- Fungsi Khusus

1. Endometrium

Estradiol memicu proliferasi endometrium dan memperkuat kontraksi otot uterus.

2. Serviks

Sawar (*barrier*) yang terutama menghalangi masuknya spermatozoa ke dalam uterus adalah getah serviks yang kental. Produksi estradiol yang kian meningkat pada fase folikuler akan meninggikan sekresi getah serviks dan mengubah konsentrasi getah pada saat ovulasi menjadi encer dan bening, sehingga memudahkan penyesuaian, memperlancar perjalanan spermatozoa dan meninggikan kelangsungan hidupnya. Getah tersebut mempunyai daya membenang dan bila mengering akan terlihat seperti daun pakis.

3. Vagina

Estradiol menyebabkan perubahan selaput vagina, meningkatkan produksi getah dan meningkatkan kadar glikogen, sehingga terjadi peningkatan produksi asam laktat oleh bakteri Döderlein. Nilai pH menjadi rendah, dan memperkecil kemungkinan terjadinya infeksi.

4. Ovarium

Estradiol memicu sintesis selain reseptor FSH di dalam sel-sel granula, juga reseptor LH di sel-sel teka. Selain itu estradiol juga mengatur kecepatan pengeluaran ovum dan mempersiapkan spermatozoa dalam genitalia wanita agar dapat menembus selubung ovum (proses kapasitasi).¹⁵

2.3. Reseptor Estrogen

Reseptor adalah struktur berupa protein yang dapat mengikat faktor atau molekul spesifik seperti hormon, vitamin, dan antigen dari luar sel (ligan). Reseptor ada dua jenis, yaitu reseptor membran (*cell surface atau membrane receptor*) dan reseptor sitoplasma (*cytosolic receptor*). Molekul ini memberikan sinyal dan respon didalam sel dimulai bila ligan dan reseptor berikatan satu sama lain sehingga sinyal dapat diteruskan ke dalam sel.¹²

Estrogen meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi pada ovarium normal dan perkembangan karsinoma ovarium. Efek biologis estrogen diperantarai oleh dua bentuk reseptor estrogen (ER) yang dikode oleh dua gen yang berbeda, yaitu reseptor estrogen alfa (ER α) dan beta (ER β), yang merupakan reseptor nukleus, anggota dari faktor transkripsi tergantung ligan.¹⁷ ER α dan ER β bisa membentuk homodimer α/α atau β/β atau heterodimer α/β ketika menempel ke ERE (*Estrogen Response Element*)¹⁹

2.3.1. Mekanisme Aksi Reseptor Estrogen

Estrogen menginduksi perubahan seluler dengan tiga mekanisme yang berbeda. Mekanisme pertama adalah mekanisme klasik, yaitu estrogen berdifusi ke dalam sel dan menempel ke reseptor estrogen (ER) yang berada di nukleus. Kompleks estrogen dan reseptor estrogen tersebut menempel ke *estrogen response element sequences*, baik secara langsung maupun tidak langsung, yaitu melalui interaksi protein-protein dengan *activator protein 1* (AP1) di regio promoter gen yang responsif terhadap estrogen. Penempelan kompleks tersebut menyebabkan pengerahan protein-protein koregulator (koaktivator atau korepresor) ke promoter, meningkatkan atau menurunkan kadar mRNA dan berhubungan dengan produksi

protein serta respon fisiologis. Mekanisme klasik atau disebut juga mekanisme genomik ini biasanya terjadi dalam beberapa jam. Sebaliknya, estrogen dapat beraksi lebih cepat (dalam hitungan detik atau menit) via mekanisme nongenomik, yaitu melalui reseptor estrogen di membran plasma atau disekitarnya, atau melalui *non-ER plasma membrane-associated estrogen binding proteins*. Mekanisme ini menghasilkan respon seluler, seperti peningkatan kadar Ca^{2+} atau NO dan aktivasi kinase. Mekanisme yang ketiga yaitu mekanisme penempelan DNA secara tidak langsung, yaitu dengan cara protein-protein berinteraksi dengan faktor transkripsi lain seperti Sp1, NF- κ B, GATA-1 dan STAT5.²⁰

2.3.2. Reseptor Estrogen α

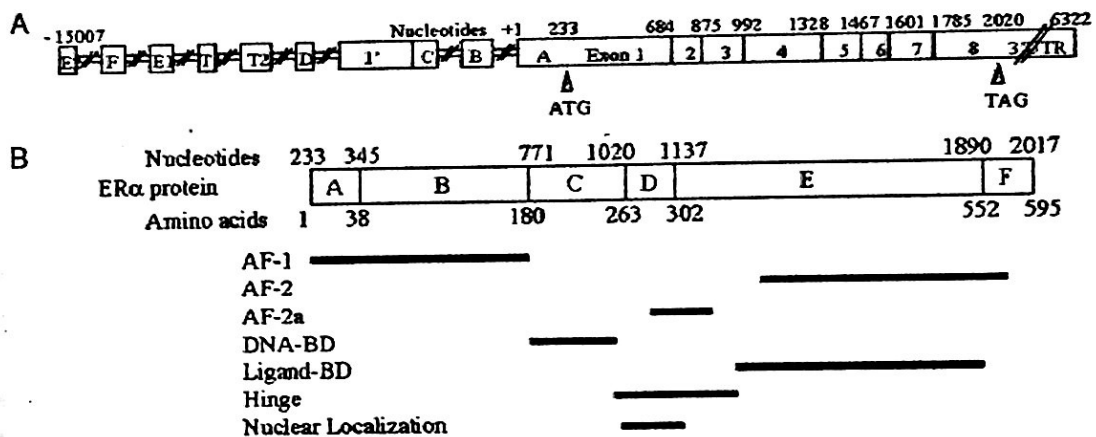
Nama lain dari reseptor estrogen α adalah:

- Estrogen reseptor
- NR3A1
- *Nuclear receptor subfamily 3 group A member*
- ESR
- Era
- Reseptor Estradiol
- DKFZp686N23123
- ESRA

Gen reseptor estrogen alfa ($\text{ER}\alpha$) terletak pada kromosom 6q25 dan strukturnya (Gambar 1) terdiri dari 8 ekson yang dipisahkan oleh 7 regio intron dan mempunyai panjang lebih dari 140 kilobasa. Sedangkan reseptor estrogen β terletak di kromosom 14q23-24 dan terdiri dari 8 ekson yang panjangnya kira-kira 40 kilobasa.¹⁸

Distribusi jaringan reseptor estrogen α dan reseptor estrogen β berbeda, walaupun ada beberapa tumpang tindih. Reseptor estrogen α dominan diekspresikan di uterus, liver, adiposa, otot skeletal, pituitari dan hipotalamus, sedangkan reseptor estrogen β banyak di ovarium, testis, prostat, dan regio lain di otak, seperti sistem limbik, serebelum, dan korteks serebral. Reseptor estrogen

α dan β diekspresikan bersama di jaringan payudara, traktus urogenital, tulang, sistem kardiovaskular.⁹



Gambar 1. Susunan Genomik Reseptor Estrogen α

Sumber : Gennari et al, 2004

Keterangan gambar :

Reseptor estrogen α mempunyai enam domain yang diberi tanda A-F, angka di nukleotida menunjukkan awal dari tiap domain, dan awal dari asam amino pada angka dibawahnya. AF, *Activation Function*. BD, *Binding Domain*

2.4. Polimorfisme Gen

Polimorfisme gen adalah perbedaan sekuen DNA diantara individu, kelompok atau populasi. Alel adalah suatu bentuk alternatif sekuen DNA tertentu yang berbeda dengan sekuen *wild type* (normal) pada suatu lokus gen dalam suatu kromosom. Apabila alel tersebut ditemukan lebih dari 1% kromosom dalam suatu populasi maka keadaan ini disebut sebagai polimorfisme genetik.²¹

Polimorfisme bisa disebabkan mutasi pada basa nukleotida tunggal atau *single nucleotide polymorphisms* (SNPs), pengulangan sekuen, insersi, delesi dan rekombinasi. SNPs (“snip”) adalah suatu mutasi pada basa nukleotida tunggal yang paling sering menjadi penyebab polimorfisme pada genom manusia. Ada

dua tipe substitusi basa nukleotida yang menghasilkan SNPs, yaitu substitusi transisi antar purin (A,G) atau antar pirimidin (C,T) dan transversasi antara purin dengan pirimidin. SNPs merupakan hasil dari kesalahan pada replikasi atau perbaikan DNA yang bisa terjadi pada regio ekson maupun intron.⁹

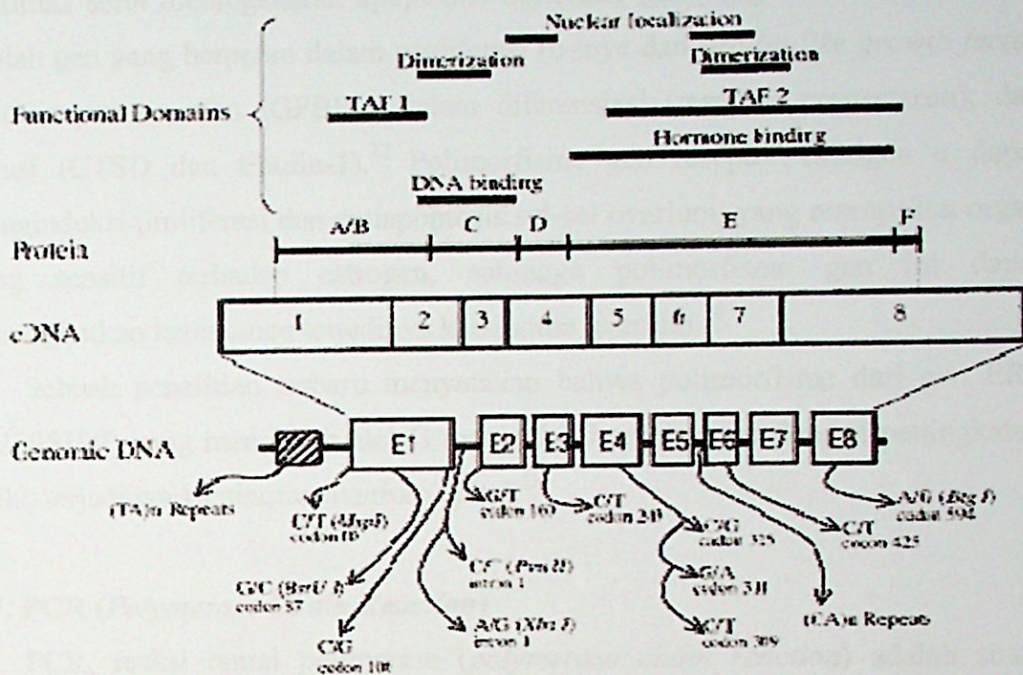
Polimorfisme pada intron atau ekson dapat mempengaruhi pemotongan (*splicing*) intron atau ekson sehingga dapat menyebabkan heterogenitas pada produk protein yang dihasilkan. Polimorfisme pada intron atau ekson mempunyai peran yang signifikan pada perkembangan suatu keganasan.⁹

2.5. Polimorfisme Gen Reseptor Estrogen α

Pada skrining genetik, diketahui bahwa gen ER α menunjukkan beberapa lokus polimorfisme. Salah satunya adalah RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) *PvuII* di intron I. Pada beberapa penelitian didapatkan bahwa polimorfisme ini berhubungan dengan beberapa kondisi patologis, seperti endometriosis, adenomiosis, leiomyomata,¹¹ penyakit alzheimer, kanker prostat, osteoporosis, dan penyakit kardiovaskular. Namun, hasilnya masih diperdebatkan dan masih belum jelas bagaimana mekanisme molekuler yang terjadi sehingga polimorfisme tersebut dapat mempengaruhi aktivitas reseptor.¹⁸

Penelitian lain menunjukkan adanya polimorfisme gen ER α , yaitu T262C SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*) 29 nukleotida *downstream* dari *start codon*, SNP C \rightarrow G pada kodon 325 di ekson 4, dan SNP G2014 di ekson 8. Ketiga SNP tersebut adalah *silent mutation* karena tidak menyebabkan perubahan asam amino. Pada sebuah penelitian lainnya, SNP G2014A di ekson 8 menunjukkan hubungan disequilibrium dengan polimorfisme *PvuII* di intron I.¹⁸





Gambar 2. Struktur, Domain Fungsional, dan Polimorfisme pada ER α

Sumber : Gennari, L. 2004

Keterangan : E : Ekson, TAF : *Transcriptional Activating Function*

2.6. Polimorfisme Gen Reseptor Estrogen α pada Karsinoma Ovarium

Estrogen merupakan regulator mayor pertumbuhan dan diferensiasi pada ovarium normal dan karsinoma ovarium. Efek biologis estrogen diperantarai oleh dua bentuk reseptor estrogen (ER), yaitu ER α dan ER β . Brandenberger et al¹⁹ menyatakan bahwa mRNA ER α dan ER β diekspresikan pada ovarium normal, pre, dan post menopause pada kadar yang sama pada semua kelompok usia. Pada percobaan terhadap ovarium normal hewan, mRNA ER β banyak diekspresikan terutama di sel-sel granulosa, sedangkan ER α diekspresikan menyebar diseluruh ovarium.

Kadar mRNA ER α sama dengan ovarium normal atau sedikit lebih tinggi pada karsinoma ovarium, dibandingkan dengan ER β yang jelas menurun.¹⁹ ER α berperan dalam meningkatkan pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen yang diregulasi oleh estrogen (baik endogen maupun eksogen) pada sel-sel karsinoma ovarium, sedangkan ER β bersifat protektif karena menghambat proliferasi dan

motilitas serta meningkatkan apoptosis. Sejumlah gen yang telah teridentifikasi adalah gen yang berperan dalam proliferasi (*c-myc* dan *insulin like growth factor binding protein* atau IGFbps), dalam diferensiasi (reseptor progesteron), dan invasi (CTSD dan fibulin-1).²² Polimorfisme gen reseptor estrogen α dapat menginduksi proliferasi dan antiapoptosis sel-sel ovarium, yang merupakan organ yang sensitif terhadap estrogen, sehingga polimorfisme gen ini dapat meningkatkan kerentanan terjadinya karsinoma ovarium.¹⁰

Sebuah penelitian terbaru menyatakan bahwa polimorfisme dari gen ER α (rs2295190) yang mengubah alel G menjadi T berhubungan dengan peningkatan risiko terjadinya karsinoma ovarium epitel.²³

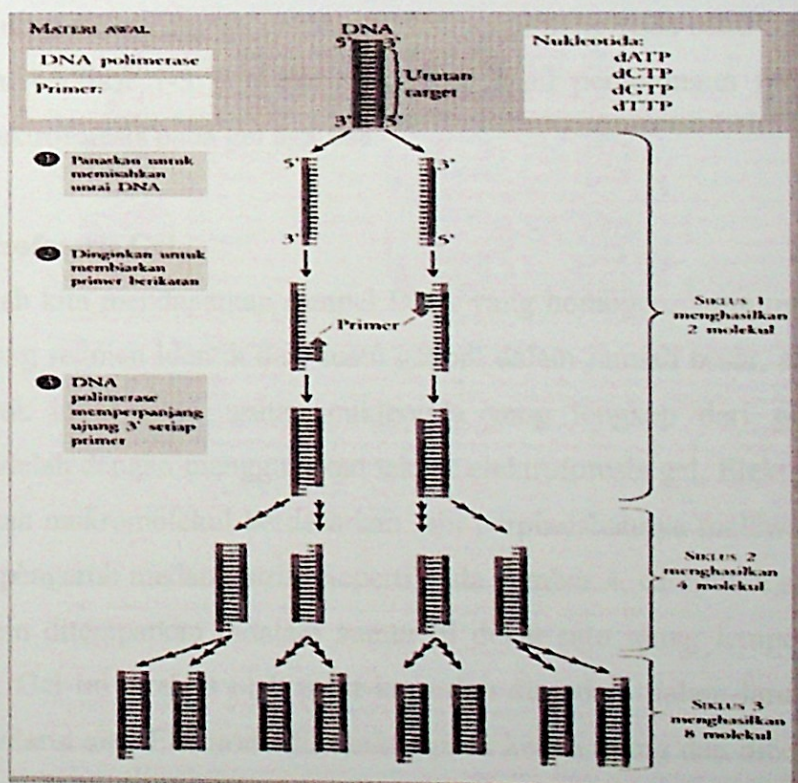
2.7. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR, reaksi rantai polimerase (*polymerase chain reaction*) adalah suatu metode yang berguna agar setiap fragmen DNA dapat diperkuat (diampifikasi/disalin beberapa kali) dengan cepat tanpa menggunakan sel. Secara otomatis PCR dapat membuat miliaran salinan segmen DNA target dalam beberapa jam. Metode ini jauh lebih cepat daripada pengklonan gen dengan DNA plasmid atau DNA faga dan seluruhnya dilakukan invitro.

Bahan yang dibutuhkan adalah suatu larutan DNA untai-ganda yang mengandung urutan nukleotida yang ditargetkan untuk disalin. Lalu ditambahkan dengan DNA polimerase yang resisten-panas (yang mengatalisis reaksi), suatu dNTP yang terdiri dari empat nukleotida, yaitu dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP, yang nantinya digunakan untuk disusun menjadi DNA baru, dan primer. Primer ini dibutuhkan agar DNA polimerase dapat memulai sintesis DNA.

Primer yang digunakan dalam PCR merupakan molekul DNA untai-tunggal sintetik yang pendek, yang terdiri dari primer *forward* dan *reverse* dan pada umumnya tersusun dari 18-28 nukleotida. Primer ini komplementer terhadap ujung-ujung DNA target sehingga menentukan urutan DNA yang diperkuat gen spesifik sebelum pengklonan lebih lanjut di dalam sel. PCR membuat gen dengan fragmen DNA yang sangat berlimpah, dengan demikian menyederhanakan tugas berikutnya untuk mencari suatu klon yang membawa gen itu.

Prosedur PCR dimulai dengan pemanasan (tahap denaturasi) DNA secara singkat untuk memisahkan untaiannya dan kemudian didinginkan (tahap *annealing*) untuk membiarkan primer berikatan dengan ujung-ujung target melalui ikatan hidrogen, satu primer pada setiap untai. Kemudian DNA polimerase menambahkan nukleotida pada ujung 3' primer, dengan menggunakan untai DNA yang lebih panjang sebagai cetaknya (tahap ekstensi). Dalam waktu kira-kira 5 menit urutan DNA target, yang panjangnya bisa mencapai seratus pasangan basa, telah digandakan. Larutan ini kemudian dipanaskan lagi, memulai siklus pemisahan untai yang lain, pengikatan primer, dan sintesis DNA. Siklus ini berjalan berulang-ulang, hingga urutan target telah terduplikasi berulang kali. Sampai kira-kira 20 siklus, hampir semua molekul DNA yang dihasilkan akan terdiri atas urutan target yang tepat.^{24, 25}



Gambar 3. Tahapan Reaksi PCR

Sumber : Campbell N. 2002; 396

2.8. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

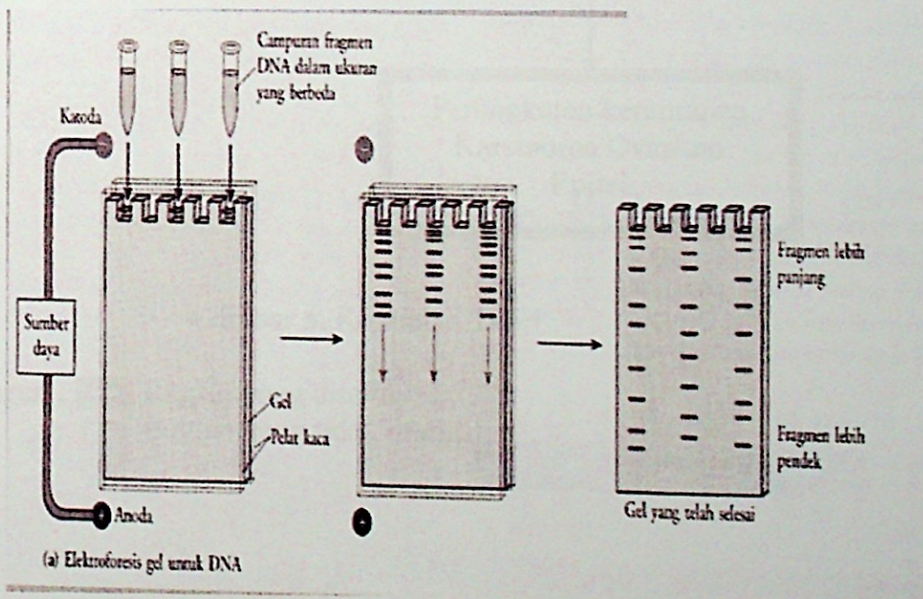
Perbedaan sekuens basa nukleotida pada situs pengenalan yang pada umumnya disebabkan oleh substitusi basa tunggal akan menghasilkan pola fragmen yang berbeda disebut RFLP. Perubahan susunan basa nukleotida akibat suatu mutasi menyebabkan berubahnya situs pengenalan oleh enzim endonuklease restriksi yang spesifik. Hal ini dapat mengakibatkan hilangnya suatu situs restriksi atau terjadi situs restriksi baru. Enzim restriksi tertentu akan memotong DNA secara spesifik pada DNA normal atau DNA yang mengalami mutasi, sehingga dapat dibedakan DNA termutasi dengan DNA normal berdasarkan perbedaan panjang fragmennya. Teknik RFLP ini berguna untuk diagnosis dan identifikasi variasi atau mutasi pada DNA inti maupun mitokondria. PCR-RFLP merupakan metoda yang paling umum untuk identifikasi polimorfisme, tetapi teknik ini mempunyai prosedur yang relatif lama yang meliputi beberapa tahap yaitu PCR, waktu inkubasi dalam digesti enzim restriksi tergantung pada suhu optimum tiap-tiap enzim berkisar 1-3 jam dan visualisasi hasil pemotongan fragmen DNA dengan elektroforesis pada gel agarose.²⁵

2.9. Elektroforesis Gel

Setelah kita mendapatkan sampel DNA yang homogen, yang masing-masing mengandung segmen identik dari suatu genom dalam jumlah besar, akhirnya kita perlu untuk mengetahui urutan nukleotida yang lengkap dari gen tersebut. Caranya adalah dengan menggunakan teknik elektroforesis gel. Elektroforesis gel memisahkan makromolekul berdasarkan laju perpindahannya melewati suatu gel di bawah pengaruh medan listrik. Seperti pada gambar 4, campuran asam nukleat atau protein ditempatkan didalam sumur di dekat satu ujung lempeng tipis gel polimerik. Gel ini ditahan oleh pelat kaca dan direndam dalam larutan aqueous (dengan pelarut air). Elektrode dilekatkan pada kedua ujung dan diberi tegangan. Setiap makromolekul kemudian bermigrasi ke arah elektrode yang bermuatan berlawanan pada laju yang sebagian besar ditentukan oleh muatan dan ukuran molekulnya. Biasanya beberapa sampel yang berbeda, masing-masing merupakan

campuran molekul, dimasukkan secara bersamaan ke dalam “lajur” majemuk pada gel lempeng.

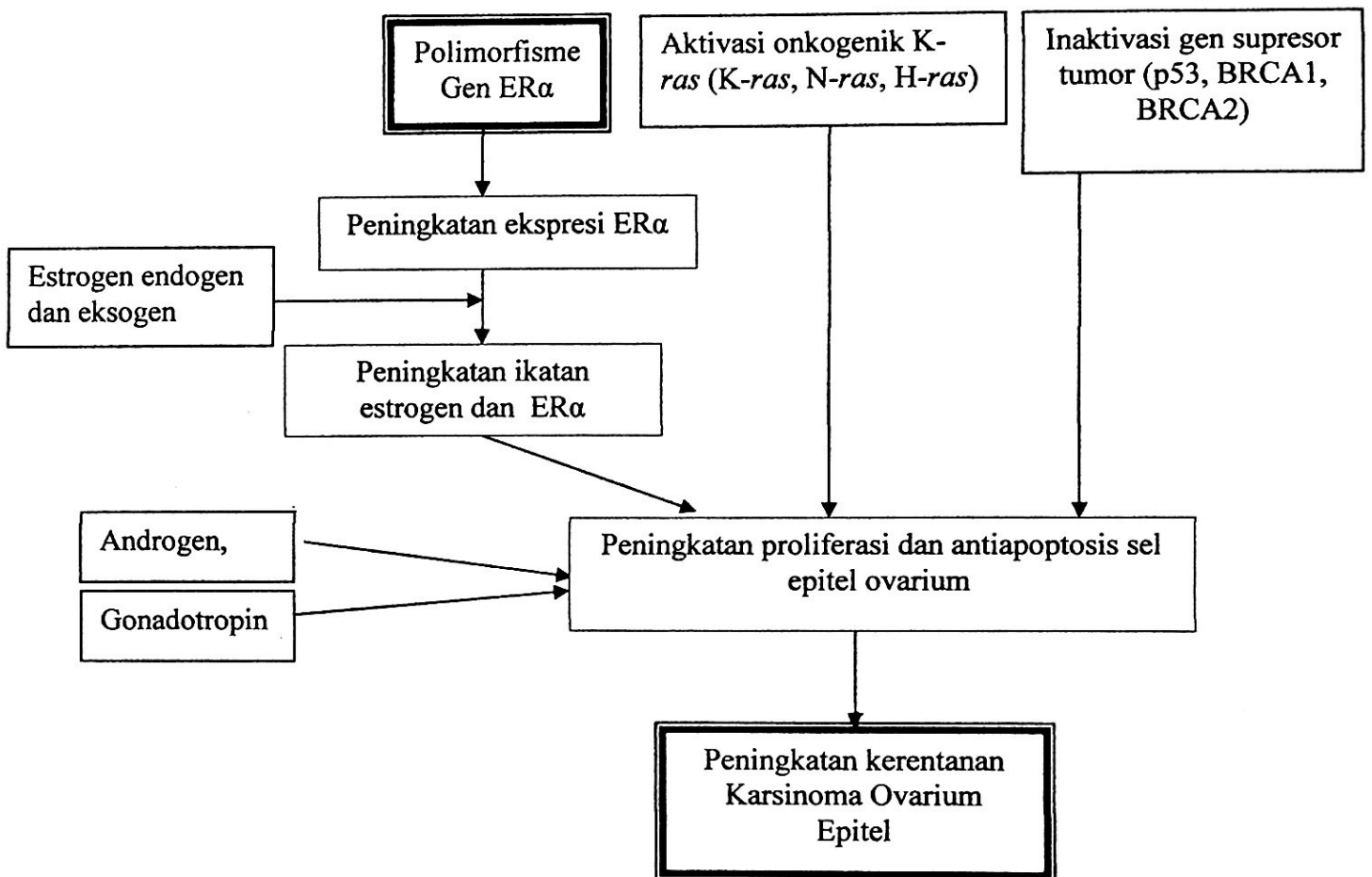
Untuk asam nukleat, laju migrasi-berapa jauh yang ditempuh molekul itu ketika diberi arus-berbanding terbalik dengan ukuran molekulnya. Asam nukleat membawa muatan negatif (pada gugus fosfat) yang proporsional dengan panjangnya, tetapi belukar serat polimer di dalam gel lebih menghambat fragmen yang lebih panjang daripada fragmen yang lebih pendek. Gel dalam foto telah diberi perlakuan setelah elektroforesis dengan pewarna pengikat DNA yang berpendar merah jambu di bawah cahaya ultraviolet. Pada setiap lajur dapat dilihat sejumlah pita merah jambu, yang berkaitan dengan molekul DNA yang berbeda ukuran. Molekul yang lebih besar bergerak lebih lambat melalui gel ini dan ditempatkan di arah kanan dalam foto. Pita mengandung fragmen restriksi DNA restriksi.²⁴



Gambar 4. Tahapan elektroforesis gel untuk makromolekul

Sumber : Campbell N. 2002; 399.

2.10. Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori

Keterangan : Bagian yang diteliti
 Bagian yang tidak diteliti