

# Peran Siklooksigenase dalam Pertumbuhan Kanker Leher Rahim

Supriadi Gandamihardja,<sup>1</sup> Firman F. Wirakusumah,<sup>1</sup> Nurhalim Shahib,<sup>2</sup>

Herri S. Sastramihardja,<sup>3</sup> M. Farid Aziz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departemen Obstetri dan Ginekologi, <sup>2</sup>Departemen Biokimia, <sup>3</sup>Departemen Farmakologi Klinik  
Fakultas Kedokteran Universitas Padjdjaran,

<sup>4</sup>Bagian Obsteri dan Ginekologi Klinik Universitas Indonesia

## Abstrak

Eksresi dan penghambat selektif siklooksigenase-2 (COX-2), seperti selekoksib yang telah dipakai luas sebagai antiinflamasi, diketahui berperan pada kanker dengan menghambat proliferasi dan pertumbuhan tumor serta meningkatkan apoptosis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penghambat COX-2 selektif dan peran COX-2 pada pertumbuhan tumor. Metode penelitian adalah uji eksperimental dengan *pretest-posttest control group design* yang dilakukan di Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung, November 2007–Oktober 2008. Dua puluh pasien diberi penghambat selektif COX-2 serta kemoradiasi dan 21 pasien mendapat kemoradiasi saja. Dilakukan pemeriksaan COX-2, Ki-67, kaspase-3 secara imunohistokimia, serta ukuran serviks dengan USG transabdominal, praradiasi dan pascaradiasi. Data dianalisis dengan tes Wilcoxon dan korelasi Pearson. Penghambat COX-2 selektif mengakibatkan penurunan sangat bermakna tingkat ekspresi COX-2, yaitu 10% pada kelompok kontrol dan 42% pada kelompok perlakuan ( $p=0,001$ ), serta ekspresi Ki-67 sebagai penanda proliferasi sebanyak 48% dan -3% pada kelompok kontrol ( $p=0,007$ ). Tingkat ekspresi kaspase-3 sebagai penanda apoptosis meningkat dengan pemberian penghambat COX-2 selektif sebesar -59% dan 16% pada kelompok kontrol ( $p<0,001$ ). Penghambat COX-2 selektif juga menyebabkan bertambahnya pengecilan tumor, yaitu: 88% dibandingkan dengan 83% pada kelompok kontrol ( $p<0,001$ ). Simpulan, COX-2 berperan dalam kanker leher rahim dan penghambat COX-2 selektif menurunkan proliferasi dan meningkatkan apoptosis, sehingga terjadi pengecilan tumor. [MKB. 2010;42(4):169–74].

**Kata kunci:** Apoptosis, COX-2, kanker leher rahim, penghambat COX2 selektif, pertumbuhan tumor

## Role of Cyclooxygenase on Cervical Cancer Growth

### Abstract

Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and selective COX-2 inhibitor such as celecoxib, which widely used as antiinflammatory drug, is known to have role in cancer by reducing proliferation and growth of tumor cells, and increasing apoptosis. The research aims were to investigate the effect of selective COX-2 inhibitor and role of COX-2 on tumor growth. This was an experimental study with pretest-posttest control group design. This study was done at Hasan Sadikin Hospital Bandung, November 2007–October 2008. Twenty patients received selective COX-2 inhibitor and chemoradiation, whereas 21 patients were treated by chemoradiation only, as control group. COX-2, Ki-67, and caspase-3 expression was analyzed by immunohistochemistry. Cervical size was measured by transabdominal ultrasonography. All variables obtained before and after external chemoradiation. Data were analyzed using Wilcoxon and Pearson's correlation test. Selective COX-2 inhibitor significantly reduced COX-2 expression, 10% in control group and 42% in treated group ( $p=0.001$ ) as well as Ki-67 expression as proliferation marker, -3% in the control group and 48% in the treated group ( $p=0.007$ ). Caspase-3 expression as marker of apoptosis was increased after selective COX-2 inhibitor treatment, 59% whereas only 16% in the control group ( $p<0.001$ ). In addition, selective COX-2 inhibitor enhanced tumor reduction, 88% versus 83% in control group ( $p<0.001$ ). In conclusion, COX-2 plays role in uterine cervical cancer and selective COX-2 inhibitor reduced proliferation and increased apoptosis which leads to reduction in tumor size. [MKB. 2010;42(4):169–74].

**Key words:** Apoptosis, cervical cancer, COX-2, proliferation, selective inhibitor COX2, tumor growth

---

**Korespondensi:** Dr. Supriadi Gandamihardja, dr., Sp. OG(K), Ilmu Kebidanan dan Penyakit Kandungan Rumah Sakit Hasan Sadikin, jalan Pasteur 38 Bandung 40161, Telepon (022) 2032530

## Pendahuluan

Kanker leher rahim masih merupakan kanker tersering ke-2 setelah kanker payudara di negara berkembang dan peringkat ke-7 di negara maju dengan angka kematian yang tinggi.<sup>1-3</sup>

Beberapa penelitian membuktikan bahwa, siklooksigenase-2 (COX-2) terekspresi dan berperan terhadap kanker, baik karsinogenesis, pertumbuhan kanker maupun metastasisnya serta resisten terhadap radiasi, yang berdampak pada buruknya prognosis.<sup>4-8</sup>

Peranan dan juga patogenesis COX-2 dalam pertumbuhan tumor belum jelas benar dan dapat dilihat dari korelasi perubahan ekspresi COX-2 dengan tingkat proliferasi dan apoptosis serta pertumbuhan tumor. Perubahan ini ditemukan pada respons kemoradiasi.

## Metode

Penelitian eksperimental dengan *pretest-posttest control group design* berlangsung dari November 2007 sampai dengan Oktober 2008, melibatkan 41 penderita, 20 peserta kelompok perlakuan dan 21 kelompok kontrol. Penelitian ini mengikutsertakan penderita kanker leher rahim stadium IB2, IIA2, IIB, IIIA, IIIB, dan IVA dengan jenis histopatologi karsinoma yang akan mendapat kemoradiasi di RSUP dr. Hasan Sadikin Bandung dan bersedia ikut serta dalam penelitian. Penderita kemudian dibagi ke dalam kelompok perlakuan yang mendapat tambahan terapi selekoksib 200 mg dua kali sehari di samping kemoradiasi, sedangkan kelompok kontrol hanya mendapatkan kemoradiasi. Radiasi diberikan dengan dosis 200 cG/hari, lima kali seminggu selama lima minggu. Sisplatin 40 mg/m<sup>2</sup> luas permukaan tubuh adalah kemoterapi yang diberikan bersama-sama dengan radiasi sekali seminggu.

Sebelum dan setelah pemberian kemoradiasi eksternal dilakukan pengukuran tumor memakai USG transabdominal, serta melakukan biopsi untuk pemeriksaan imunohistokimia terhadap COX-2, kaspase-3, dan Ki-67.

Hasil imunohistokimia diinterpretasi dengan melihat ekspresi yang didasarkan pada kuatnya intensitas pewarnaan dan sebaran sel tumor yang menampilkan enzim COX-2, kaspase-3, dan Ki-67.

Imunohistokimia terhadap kaspase-3 serta

COX-2 dilakukan dengan mewarnai sitoplasma dan diberikan skor berdasarkan pada intensitas warna yang ditemukan pada sediaan. Intensitas kuat didefinisikan bila ditemukan warna cokelat tua seperti pada kontrol positif dan diberi skor 3, intensitas sedang bila ditemukan warna cokelat dan diberi skor 2, intensitas lemah bila ditemukan warna cokelat muda dan diberi skor 1, sedangkan skor 0 atau negatif diberikan bila tidak ditemukan warna cokelat. Imunohistokimia untuk Ki-67 dengan mewarnai inti sel dan hanya mempunyai dua kriteria, yaitu positif yang diberi skor 2 dan negatif yang kemudian diberi skor 0.

Sebaran sel yang berekspresi diukur dengan mengevaluasi sebarannya terhadap lima lapangan pandangan besar di empat kuadran setiap sediaan dan dibuat rata-ratanya. Bila sebaran sel >80%, diberi skor 4, sebaran sel >50- 80% diberi skor 3, sebaran sel 20- 50% diberi skor 2 dan sebaran sel <20% diberi skor 1.

Tingkat ekspresi didapat berdasarkan pada *histoscore*,<sup>9,10</sup> yaitu perkalian angka sebaran sel dengan angka intensitas warna ditambah satu, seperti terlihat pada rumus:  $Histoscore = (i+1) Pi$ , dengan i: angka intensitas; Pi: sebaran sel dengan pewarnaan positif. Tingkat ekspresi berupa angka tanpa satuan. Perubahan ekspresi dihitung dengan rumus:

$$\text{Perubahan Tingkat Ekspresi} = \frac{\text{Tingkat ekspresi (prakemoradiasi - pascakemoradiasi)} \times 100\%}{\text{Tingkat ekspresi prakemoradiasi}}$$

$$\text{Perubahan Ukuran Tumor} = \frac{\text{Volume tumor (prakemoradiasi - pascakemoradiasi)} \times 100\%}{\text{Tingkat ekspresi prakemoradiasi}}$$

## Hasil

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada stadium penyakit dan umur penderita antara kelompok perlakuan dan kontrol (Tabel 1).

Keempat parameter yang diteliti ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan serta kontrol sebelum diberikan terapi kemoradiasi (Tabel 2).

Pada keempat parameter terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kedua kelompok setelah diberikan terapi, seperti terlihat pada Tabel 3. Penghambat COX-2 selektif mengakibatkan penurunan sangat bermakna tingkat ekspresi COX-2, yaitu 10% pada kelompok kontrol dan 42% pada kelompok perlakuan. Demikian juga

**Tabel 1 Karakteristik Subjek Penelitian**

	Perlakuan		Kontrol		Kemaknaan
	n	%	n	%	
<b>Umur (tahun)</b>					
30-39	2	10	2	9	p = 0,812
40-49	14	70	13	62	
50-60	4	20	6	29	
<b>Stadium</b>					
I B2	4	20	6	29	p = 0,849
II A2	2	10	3	14	
II B	4	20	4	19	
III A	1	5	1	5	
III B	9	45	7	33	
<b>Jumlah</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>	

dengan parameter lain. Pemberian penghambat COX-2 selektif menyebabkan penurunan ekspresi Ki-67 sebagai penanda proliferasi sebanyak 48%, sedangkan pada kelompok kontrol -3% yang berarti peningkatan ekspresi. Tingkat ekspresi kaspase-3 sebagai penanda apoptosis meningkat dengan pemberian penghambat COX-2 selektif, yaitu: perubahan -59% dibandingkan dengan 16% pada kelompok kontrol. Selanjutnya pemberian penghambat COX-2 selektif ini menyebabkan bertambahnya pengecilan tumor, yaitu: 88% dibandingkan dengan 83% kelompok kontrol. Kemoradiasi menyebabkan proliferasi yang tampak dengan perubahan negatif tingkat

ekspresi Ki-67, sedangkan pemberian COX-2 selektif dan kemoradiasi menyebabkan penurunan tingkat proliferasi dengan perubahan positif tingkat ekspresi Ki-67. Sebaliknya, kemoradiasi saja menyebabkan peningkatan tingkat apoptosis dengan adanya perubahan negatif tingkat ekspresi kaspase-3, sedangkan pemberian penghambat COX-2 selektif dan kemoradiasi menyebabkan penurunan marka apoptosis dengan terjadinya perubahan positif tingkat ekspresi kaspase-3.

Terdapat hubungan yang bermakna perubahan tingkat ekspresi COX-2 dengan perubahan tingkat ekspresi kaspase-3, Ki-67, dan pengecilan tumor (Gambar 1).

**Tabel 2 Perbandingan Ekspresi COX-2, Kaspase-3, Ki-67, dan Ukuran Tumor Praradiasi**

Variabel	Kelompok		Z <sub>M-W</sub>	Nilai p
	Perlakuan (n=20)	Kontrol (n=21)		
Enzim COX-2:				
x (SD)	10,0 (1,97)	9,19 (2,98)	1,225	0,221
Median	9	9		
Rentang	6-12	6-16		
Kaspase-3:				
x (SD)	3,90 (3,26)	3,95 (2,16)	1,088	0,227
Median	2	3		
Rentang	1-12	2-8		
Ki-67:				
x (SD)	5,80 (2,88)	4,76 (2,96)	1,202	0,229
Median	6	6		
Rentang	1-12	1-12		
Ukuran tumor (cm <sup>3</sup> ):				
(cm <sup>3</sup> )	3,90 (3,26)	3,95 (2,16)	1,088	0,227
X (SD)	2	3		

**Tabel 3 Pengaruh Selekoksisib terhadap Ekspresi COX-2, Kaspase-3, Ki-67, dan Pengecilan Tumor**

	Perlakuan		Kontrol	
	Praradiasi	Pascaradiasi	Praradiasi	Pascaradiasi
<b>Ekspresi COX-2</b>				
$\bar{x}$	10,00	5,80	9,19	8,29
Median	9,0	6,0	9,0	8,0
Rentang	6–12	2–12	6–16	3–16
Perubahan ekspresi (%)		42	10	
Kemaknaan			0,001	
<b>Ekspresi Ki-67</b>				
$\bar{x}$	5,80	3,0	4,76	4,90
Median	6	6	6	6
Rentang	1–12	1–9	1–12	1–12
Perubahan ekspresi (%)		48		-3
Kemaknaan			0,007	
<b>Kaspase-3</b>				
$\bar{x}$	3,90	6,20	3,95	3,33
Median	3	2,0	3	2,0
Rentang	1–12	2–9	2–8	1–16
Perubahan ekspresi (%)		-59		16
Kemaknaan			<0,001	
<b>Pengecilan tumor</b>				
$\bar{x}$	102,57	12,10	95,56	16,31
Median	89,09	10,39	63,65	12,29
Rentang	1–12	2–9	2–8	1–16
Perubahan ekspresi (%)		88		83
Kemaknaan			<0,001	

## Pembahasan

Perbandingan kelompok perlakuan dan kontrol, ternyata tidak menunjukkan perbedaan bermakna mengenai karakteristik pasien dan parameter yang akan diteliti. Keadaan ini memudahkan analisis selanjutnya.

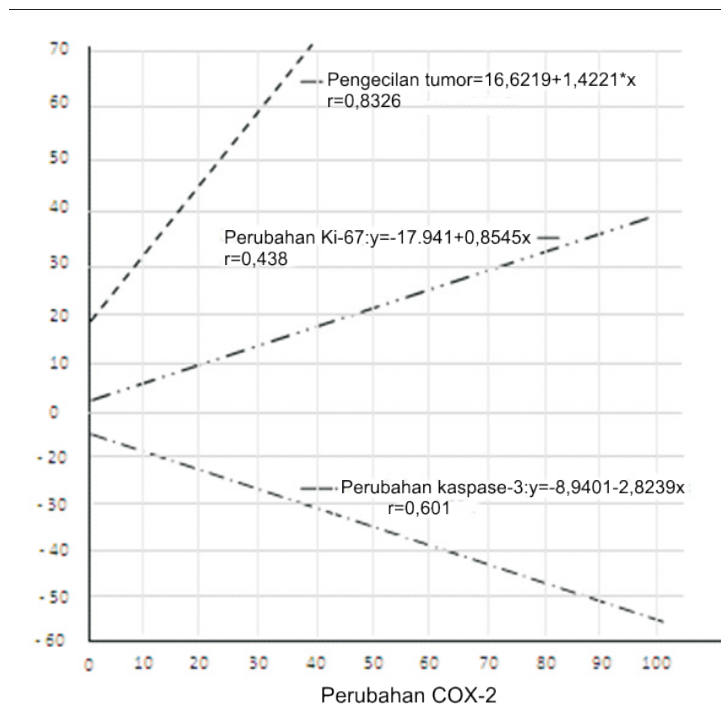
COX-2 sebagai *inducible enzyme* terekspresi pada kanker leher rahim sebelum mendapat terapi apapun (Tabel 2) yang menunjukkan bahwa enzim ini berperan pada kanker.<sup>11</sup>

Pemberian selekoksisib sebagai penghambat COX-2 selektif ternyata tidak saja berhubungan dengan penurunan sangat bermakna tingkat ekspresi COX-2 sebanyak 42% dibandingkan dengan 10%, akan tetapi terdapat juga penurunan sangat bermakna tingkat ekspresi Ki-67 sebagai marka proliferasi serta peningkatan tingkat ekspresi kaspase-3 sebagai marka apoptosis yang kemudian berdampak pada pengecilan tumor (Tabel 3).

Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian dasar pada biakan sel dan hewan coba, bahwa sinyal pertumbuhan sel memicu aktivasi Ras yang selanjutnya akan meningkatkan proliferasi dan menghambat apoptosis melalui aktivasi jalur *ras-mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan *phosphatidyl inositol-3 kinase* (PI3K-Akt).<sup>12,13</sup>

Sementara itu jalur Ras-MAPK memicu COX-2 yang memberi umpan balik positif bagi aktivasi jalur COX-2-PGE<sub>2</sub>, jalur Ras-MAPK, dan PI3K-Akt, sehingga jalur COX-2-PGE<sub>2</sub> ini dapat dianggap roda penggerak yang mempertahankan aktivitas kedua jalur tersebut. Keadaan ini akan makin meningkatkan proliferasi dan menghambat apoptosis.

Pertumbuhan ditentukan oleh keseimbangan antara proliferasi dan apoptosis. Bila proliferasi lebih besar dibandingkan dengan apoptosis, maka tumor akan tumbuh, dan juga sebaliknya; dengan demikian jalur COX-2-PGE<sub>2</sub> akan meningkatkan rasio atau selisih proliferasi dan apoptosis, yang

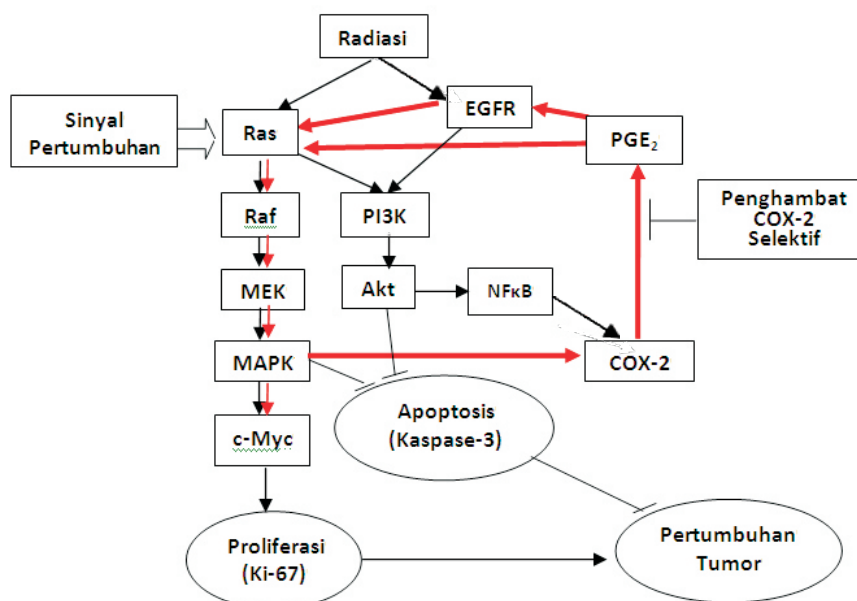


**Gambar 1 Korelasi Perubahan COX-2 dengan Perubahan Ki-67, Kaspase-3, dan Pengecilan Tumor**

dalam penelitian ini menggunakan Ki-67 dan kaspase-3 sebagai markanya.

Keadaan ini sesuai dengan korelasi perubahan tingkat ekspresi COX-2, juga dengan perubahan tingkat ekspresi Ki-67, kaspase-3, dan pengecilan tumor seperti terlihat pada Gambar 1.

Makin tinggi tingkat ekspresi COX-2 makin tinggi pula tingkat ekspresi Ki-67 sebagai marka proliferasi, makin besar ukuran tumor dan makin rendah tingkat ekspresi kaspase-3. Keadaan ini merupakan bukti bahwa COX-2 sebagai bagian dari jalur COX-2-PGE<sub>2</sub> yang berperan untuk



**Gambar 2 Hubungan COX-2 dengan Pertumbuhan Tumor**

mempertahankan proliferasi serta menghambat apoptosis sehingga mempercepat pertumbuhan tumor.

Penghambatan peran jalur COX-2-PGE<sub>2</sub> dengan selekoksib menghambat pertumbuhan tumor dan meningkatkan respons kemoradiasi.

Perkembangan tumor bergantung pada antara lain selisih tingkat proliferasi dengan tingkat apoptosis, sehingga semakin besar selisihnya, semakin besar pula pertumbuhan tumor. Ternyata penurunan tingkat ekspresi COX-2 menurunkan selisih tingkat proliferasi dan apoptosis, yang berarti mengurangi tingkat pertumbuhan tumor.

Transkripsi dan translasi meningkat dengan perangsangan jalur Ras-MAPK yang kemudian memproduksi PGE<sub>2</sub> yang merangsang kembali jalur Ras-MAPK, sehingga tampak bahwa jalur COX-2 ini mempertahankan dan meningkatkan aktivitas jalur Ras-MAPK yang berujung dengan peningkatan proliferasi.

Aktivasi COX-2 ini ternyata menghambat apoptosis dengan aktivasi jalur PI3K-Akt, baik melalui aktivasi Ras maupun EGFR. Dapat disimpulkan bahwa COX-2 berperan dalam mempertahankan aktivitas proliferasi yang ditandai oleh tingkat ekspresi Ki-67, serta menghambat apoptosis yang ditandai oleh penurunan tingkat ekspresi kaspase-3, sehingga meningkatkan pertumbuhan tumor, yang dapat dihambat oleh pemberian penghambat COX-2 selektif.

## Daftar Pustaka

1. Franco ED, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ*. 2001;164(7):1017-25.
2. Parkin DM, Bray FJ, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005; 55:74-108.
3. Sankaranarayanan R, Budukh AM, Rajkumar R. Effective screening programmes for cervical cancer in low and middle-income developing countries. *Bull WHO*. 2001;79(10):954-62.
4. Kulkarni S, Rader JS, Zhang F, Liapis H, Koki AT, Masferrer J, dkk. Cyclooxygenase-2 is over expressed in human cervical cancer. *Clin Cancer Res*. 2001;7:429-34.
5. Chen WC, McBride WH, Chen SM, Lee KF, Hwang TZ, Jung SM, dkk. Prediction of poor survival by cyclooxygenases-2 in patient with T4 nasopharyngeal cancer treated by radiation therapy: clinical and invitro study. *Head & Neck*. 2005: 503-12.
6. Ferrandina G, Lauriola L, Distefano MG, Zannoni GF, Gessi M, Legge F, dkk. Increased cyclooxygenase-2 expression is associated with chemotherapy resistance and poor survival in cervical cancer patients. *J Clin Oncol*. 2002;20(4): 973-81.
7. Ishikawa H, Ohno T, Kato S, Wakatsuki M, Iwakawa M, Ohta T, dkk. Cyclooxygenase-2 impairs treatment effect of radiotherapy for cervical cancer by inhibition of radiation-induced apoptosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006; 66(5):1347-55.
8. Kim HJ, Wu HG, Park IA, Ha SW. High cyclooxygenase-2 expression is related with distant metastasis in cervical cancer treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003; 55(1):16-20.
9. Solmi R, Lauriola M, Francesconi M, Martini D, Voltattorni M, Ceccarelli C, dkk. Displayed correlation between gene expression profiles and submicroscopic alterations in response to cetuximab, gefitinib and EGF in human colon cancer cell lines. *BMC Cancer*. 2007;8(227):1-22.
10. van Diest PJ, van Dam P, Henzen-Logmans SC, Berns E, van der Burg MEL, Green J, dkk. A scoring system for immunohistochemical staining: consensus report of the task force for basic research of the EORTC-GCCG. *J Clin Pathol*. 1997;50:801-4.
11. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase enzyme: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev*. 2004; 56:387-437.
12. Richter M, Weiss M, Weiberger I, Furstenberger G, Marian B. Growth inhibition and induction of apoptosis in colorectal tumor cells by cyclooxygenase inhibitors. *Carcinogenesis*. 2001;22:17-25.
13. Dent P, Yacoub A, Fisher P, Hagan M, Grant S. MAPK pathways in radiation responses. *Oncogene*. 2003;22:5885-96.