

Metode Kemoterapi Terkini Berbasis *Circadian Chronotherapy* Dalam Menurunkan Resistensi Sel SiHa Terhadap 5-Fluorourasil Pada Kanker Serviks Agustina Rajendra Putri¹ dan Asep Sukohar²

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Kanker serviks merupakan keganasan yang paling sering terjadi pada wanita, kira-kira dari 6,6% penderita di dunia 90% diantaranya meninggal. Bahkan di Indonesia kanker serviks masih menjadi keganasan tertinggi pada wanita. Metode kemoterapi berbasis sirkadian kronoterapi telah banyak menjadi titik terang dalam pengobatan kanker. Metode ini menggunakan ritme sirkadian fisiologis pada tubuh manusia sebagai indikator pengaturan waktu pemberian obat, dimana metode ini dapat menjadi potensi untuk digunakan dalam pengobatan kanker serviks. Berdasarkan data yang dipublikasikan sebelumnya, 5-Fluorourasil (5-FU) bertindak sebagai anti metabolit dan telah digunakan untuk pengobatan lini kedua pada kanker serviks namun, angka kejadian resistensi tipe sel kanker terhadap 5-FU meningkat. Tulisan ini bertujuan untuk menentukan efektivitas 5-FU dengan mengatur irama sirkadian melalui metode kronoterapi untuk mengurangi resistensi sel SiHa sebagai salah satu target 5-FU dalam pengobatan kanker. Metode penelitian ini adalah dengan meninjau artikel review yang diterbitkan 5 tahun terakhir terkait dengan kata kunci 5-FU, kronoterapi sirkadian, kanker serviks dan sel SiHa. Data menunjukkan bahwa 5-FU mampu menekan proliferasi sel SiHa dengan menggunakan metode kronoterapi berbasis irama sirkadian, maka pemberian obat dapat disesuaikan pada waktu dimana katabolisme 5-FU berada pada titik terendah. Pengaturan ritme sirkadian berbasis 5-FU memiliki potensi sebagai metode pengobatan dan upaya untuk penurunan resistensi sel pada kanker serviks. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan dosis yang tepat dari administrasi 5-FU.

Kata kunci: Kanker serviks, kronoterapi, PER-2, sel SiHa, 5-Fluorourasil (5-FU)

Current Chemotherapy Method Based on *Circadian Chronotherapy* in Reducing Sel SiHa Resistance to 5-Fluorouracil on Cervical Cancer

Abstract

Cervical cancer is the most common malignancy in women, about 6.6% of patients in the world 90% of them not survived. Even in Indonesia cervical cancer is still the highest malignancy in women. Chronotherapy rhythm-based chemotherapy methods have become a point of enlightenment in the treatment of cancer. This method uses physiological circadian rhythms in the human body as an indicator of the timing of drug administration, where this method can be a potential for use in the treatment of cervical cancer. Based on previously published data, 5-Fluorouracil (5-FU) acts as an anti-metabolite and has been used for second-line treatment of cervical cancer however, the incidence of cancer cell type resistance to 5-FU is increasing. This paper aims to determine the effectiveness of 5-FU by regulating circadian rhythms through chronotherapy methods to reduce SiHa cell resistance as one of the 5-FU targets in cancer treatment. The method of this study is to review the review articles published in the last 5 years with related keywords are 5-FU, circadian chronotherapy, cervical cancer and SiHa cells. Data shows that 5-FU can suppress SiHa cell proliferation using the chronotherapy method based on circadian rhythms, so drug administration can be adjusted at a time when 5-FU catabolism is at its lowest. Setting circadian rhythms based on 5-FU has potential as a method of treatment and an attempt to decrease cell resistance in cervical cancer. Further research is needed to determine the appropriate dose of 5-FU administration.

Keyword: cervical cancer, chronotherapy, PER-2, SiHa cell, 5-Fluorouracil (5-FU)

Korespondensi: Agustina Rajendra Putri | Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro no.01 Bandar Lampung | Hp.082114057246 | agustinarajendra@gmail.com

Pendahuluan

Kanker serviks adalah suatu penyakit akibat keganasan yang terjadi pada leher rahim (serviks) yang terdiri dari sel-sel skuamosa dan disebabkan oleh infeksi virus

Human Papilloma Virus (HPV) terutama tipe 16 dan 18.¹ Kanker serviks di dunia menduduki peringkat 4 dengan jumlah 570.000 kasus baru di tahun 2018. Angka ini mewakili sekitar 6,6% penderita kanker pada wanita dimana 90%

dari penderitanya meninggal dunia.² Prevalensi kanker serviks di Indonesia sekitar 98.692 atau 0,8% dari jumlah penderita kanker. Kanker serviks masih menjadi penyakit kanker tertinggi di Indonesia setelah kanker payudara. Perjalanan penyakit pada kanker serviks umumnya lambat dan tidak bergejala.³ Tipe sel kanker serviks yang didapat *American Type Culture Collection* berupa sel kanker SiHa (HPV 16+), CaSki (HPV 16+), dan HeLa (HPV 18+).⁴ Sel SiHa merupakan salah satu tipe sel kanker serviks yang cukup resisten dengan kemoterapi, sehingga terkadang pengobatan yang dilakukan untuk kanker serviks menjadi lebih sulit. Sel SiHa yang resisten kemoterapi setelah diperiksa dengan *reverse transcriptase-PCR* (RT-PCR) dan *immunoblotting assays*, memperlihatkan adanya *biomarker–biomarker* tertentu yang dapat menyebabkan tipe sel ini mengalami resistensi terhadap kemoterapi. *Biomarker* molekular tersebut diantaranya adalah *Survivin*, *ABCG2*, dan *EMT (Snail, Slug, Twist, Vimentin)*.⁵

Diantara pengobatan kemoterapi yang dapat digunakan untuk penatalaksanaan penyakit kanker serviks, 5-fluorouracil (5-FU) merupakan kemoterapi ketiga paling banyak digunakan untuk penatalaksanaan kanker yang umumnya dikombinasikan dengan Cisplatin.⁶⁻⁷ 5-fluorouracil (5-FU) bekerja sebagai antimetabolit yang mengganggu sintesis asam nukleat.⁸ Fakta dari studi memaparkan bahwa sel SiHa pada kanker serviks memiliki tingkat resistensi pada agen kemoterapi yang cukup tinggi termasuk 5-Fluorouracil.⁹ Selain itu pada sebuah studi dinyatakan bahwa *circadian chronotherapy* memiliki manfaat yang cukup signifikan dalam membantu memaksimalkan efek dari agen kemoterapi. Hal ini disebabkan karena setiap manusia memiliki gen yang mengatur ritme sirkadian yang disebut dengan gen *PER-2*. Apabila pemberian kemoterapi dilakukan sesuai dengan irama sirkadian biologis tubuh, maka peran gen *PER-2* sebagai supresor tumor melalui mekanisme induksi apoptosis pada sel kanker akan maksimal.¹⁰ Melalui *circadian chronotherapy* didapatkan hasil bahwa pengobatan dapat berlangsung secara adekuat dengan efek samping yang minimal.¹¹ Oleh karena itu penulis menyakini apabila

dengan memahami irama sirkadian dan proses fisiologis tubuh dengan baik, *circadian chronotherapy* merupakan peluang besar dalam mencegah resistensi pada kemoterapi yang menggunakan 5-FU pada kanker serviks.

Metode

Metode menggunakan studi pustaka dengan mengambil data dan referensi dari berbagai buku dan artikel ilmiah yang valid. Artikel tersebut dicari melalui data dari PUBMED (NCBI), ResearchGate, Google scholar, dan Pharmaceutical Journal yang dibatasi dari 15 Oktober 2018 sampai dengan 27 Oktober 2018 menggunakan kata kunci berupa : *Cervix Cancer, SiHa Cell, 5-Fluorouracil (5-FU) Drugs, Resistance in Cancer Cervix, Chronotherapy, Circadian rhythm*. Selanjutnya literatur melewati proses *review* untuk memilih studi yang sesuai dengan kriteria. Pencarian menggunakan keyword di atas mendapatkan 50 literatur relevan, Sejumlah 35 artikel tidak memiliki kriteria inklusi, literatur yang memenuhi kriteria inklusi hanya 25 artikel, yang kemudian disusun dalam *literature review* ini.

Hasil

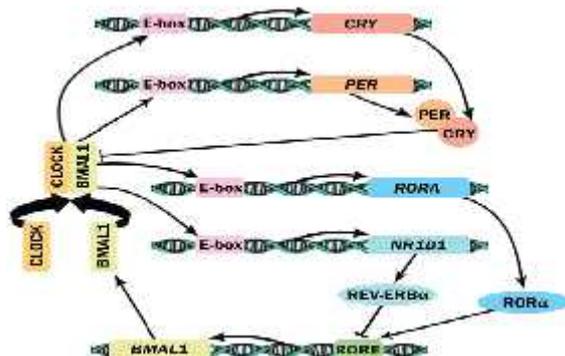
Irama Sirkadian

Istilah sirkadian berasal dari bahasa Latin *circa diem* yang berarti “hampir satu hari”. Regulasi irama sirkadian terdapat pada nukleus suprakiasmatikum (SCN) yang terletak pada hipotalamus anterior dan berperan sebagai *circadian master clock* atau osilator endogen biologis. Nukleus suprakiasmatikum (SCN) ini mengatur ritme biokimia, fisiologis, dan perilaku yang dipengaruhi oleh cahaya dan sinyal–sinyal eksterna lainnya. Irama sirkadian digerakkan oleh seperangkat gen dan protein *clock*. Irama sirkadian mempengaruhi kecepatan proliferasi sel–sel tubuh termasuk sel kanker, karena sel kanker juga memiliki irama sirkadian. Studi juga menyatakan bahwa irama sirkadian dipengaruhi oleh waktu dan faktor eksternal, sebagai contoh pekerja *shift* umumnya memiliki gangguan pada irama sirkadiannya karena waktu kerja yang berubah – ubah. Hal ini menyebabkan tingginya faktor risiko kanker atau memperburuk kondisi kanker yang telah ada. Meskipun SCN mampu

menyesuaikan irama sirkadian yang baru, penyesuaian ini tidak terjadi secara langsung, melainkan terjadi selama sejumlah siklus 24 CLOCK.¹²

Gen-gen mengatur setiap proses biologis dan fungsi pada pola waktu yang spesifik untuk mempertahankan irama sirkadian. Untuk mempertahankan irama sirkadian konstan, inti dari fungsi gen *clock* bekerja melalui *loop* umpan balik yang dikerahkan oleh gen *CLOCK/Npas2*, *Bmal1*, *Period (Per)*

and *Cryptochrome (Cry)*. Aktivator transkripsional, *BMAL1* (otak dan muscle ARNT like protein -1) dan *CLOCK* (siklus output lokomotor sirkadian), membentuk heterodimer *CLOCK / BMAL1* dalam nukleus dimana mereka mengaktifkan ekspresi gen *Per* and *Cry* dengan berikatan pada promotor *E-box* (Gambar 2). Di dalam sitoplasma, protein *PER* dan *CRY* membentuk suatu kompleks yang bergerak ke nukleus, dan menghambat aktivitas heterodimer *CLOCK / BMAL1*, sehingga menyebabkan penghentian transkripsi gen *Per* dan *Cry*. Pada *loop* regulasi lainnya, ekspresi gen *BMAL1* dikontrol melalui pembentukan heterodimer *CLOCK / BMAL1* dalam nukleus. Heterodimer ini berikatan dengan sekuens promotor *E-box* yang menyandikan reseptor orphan nuclear receptors (ROR) terkait asam retinoat (*ROR*), *Rev-erba* dan *Rora*; Protein *Rev-erba* dan *Rora* kemudian bersaing untuk elemen *ROR* (*RORE*) dalam promotor *Bmal1* dan menekan atau mengaktifkan ekspresi *Bmal1* berturut-turut. Pada mamalia, 2-10% dari ekspresi semua gen dalam pola yang ritmik dan gen-gen *clock* berlokasi pada osilator perifer yang ditemukan pada hampir seluruh sel bernukleus pada tubuh makhluk hidup.¹³



Gambar 1. Tinjauan dari dua loop pengatur waktu loop sirkadian¹³

Metode kemoterapi umumnya sering diberikan hingga *maximum tolerated dose* (MTD) agar mencapai efikasi yang optimal. Namun dengan regimen pemberian seperti ini menunjukkan keterkaitan yang kuat antara munculnya efek toksisitas.¹⁴ Hal ini tidak menutup kemungkinan timbulnya resistensi sel kanker pada agen kemoterapi terkait dengan peningkatan dosis seperti yang telah dibahas sebelumnya. Hal ini mengisyaratkan bahwa modifikasi dosis dengan peningkatan dosis obat tidak memberikan efek yang baik bagi penderita kanker sehingga, diperlukan modifikasi lain seperti modifikasi waktu dalam administrasi obat.

Kronoterapi merupakan suatu terapi berbasis irama sirkadian dengan memperhatikan waktu dan proses fisiologis tubuh. Kronoterapi berbasis irama sirkadian pada kanker telah terbukti menunjukkan hasil berupa peningkatan kesintasan hidup pasien. Hal ini disebabkan karena administrasi obat diberikan pada waktu – waktu dimana efek toksik obat minimal sedangkan efikasinya maksimal. Kedua pencapaian dari kronoterapi ini juga dipengaruhi oleh faktor aktivitas pasien yang regular atau tidak.¹⁵ Pada dasarnya setiap organ di dalam tubuh makhluk hidup memiliki potensial pengobatan menggunakan kemoterapi yang berbasis kronoterapi, hal ini yang menyebabkan kemungkinan perbedaan waktu administrasi obat pada tipe jenis kanker. Perkembangan kronoterapi sangat memungkinkan untuk diimplementasikan dan dikelola agar tujuan dari pengobatan tepat sasaran. Selain itu ada beberapa keuntungan yang dapat diperoleh dari kronoterapi, diantaranya adalah selain rendahnya efek toksisitas dan peningkatan kesintasan hidup, didapatkan pula *outcome* atau hasil yang lebih baik. Kemampuan tubuh dalam regulasi supresi tumor juga menjadi adekuat serta menurunkan toleransi obat sehingga mencegah peningkatan dosis yang tidak perlu.¹⁶

5-Fluorouracil (5-FU) dan Hubungan dengan Resistensi Sel SiHa

Seperti yang telah didiskusikan sebelumnya, penggunaan 5-FU ditunjukkan

pada pengobatan tipe kedua kanker serviks yang dikombinasikan dengan Cisplatin. 5-Fluorouracil (5-FU) merupakan obat antimetabolit yang memiliki dua mekanisme kerja pada sel kanker. Mekanisme kerja yang pertama adalah dengan menghambat enzim *thymidylate synthase* dan mengganggu perubahan DNA menjadi RNA dalam sel.¹⁷ Keberhasilan 5-FU dalam pengobatan kanker serviks memang tidak diragukan namun seiring dengan berjalannya waktu salah satu tipe sel SiHa ditemukan memiliki resistensi yang tinggi terhadap agen 5-FU. Mekanisme bagaimana sel SiHa dapat resisten terhadap 5-FU tidak dapat dijelaskan dengan baik, namun terdapat berbagai studi yang salah satunya menyatakan bahwa adanya peningkatan marker molekular (*biomarker*) *Survivin*, *ABCG2*, dan *EMT (Snail, Slug, Twist, Vimentin)* serta penurunan *E-cadherin*. *Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)* merupakan indikasi adanya proses kehilangan kemampuan adhesi dan polaritas dalam sel epitel sehingga sel epitel memiliki fenotip mesenkim. Mekanisme *EMT* ini menyebabkan terjadinya resistensi sel SiHa pada 5-FU. *Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)* ini juga menunjang migrasi dan invasi sel kanker, sehingga perkembangan kanker akan semakin lebih cepat dan meningkatkan kemampuan metastasis sel kanker.^{5,18-19} Penurunan *E-cadherin* sangat khas apabila ada indikasi terjadinya *EMT* karena *E-cadherin* merupakan *suppressor EMT*. Penurunan *E-cadherin* dimediasi oleh represi transkripsional melalui pengikatan faktor transkripsi *Snail*, *Slug*, dan *Twist* yang berinteraksi dengan elemen *E-box* yang berlokasi didalam region proksimal promoter *E-cadherin*.

Penelitian menunjukkan dengan pengukuran peran onkoprotein virus dalam meregulasi *EMT* dan mediator molekular dengan uji *MTT* tipe sel HeLa, SiHa, CaSki dan ME180 terhadap 5-FU. Semua tipe sel kanker serviks kecuali sel SiHa menunjukkan nilai IC_{50} yang lebih tinggi untuk 5-FU. Nilai IC_{50} dihitung untuk 5-FU pada sel HeLa, SiHa, CaSki, dan ME180 adalah 1096.6, 45, 1844.5, dan 584 μ M. Dari hasil tersebut tipe sel SiHa HPV16 + menghasilkan klon kemoresistan berdasarkan nilai IC_{50} yang lebih rendah. Peningkatan konsentrasi secara bertahap 5-FU dalam

medium pertumbuhan sel SiHa menghasilkan respon berupa perubahan pertumbuhan dan viabilitas sel, yang diperiksa oleh *MTT assay* dan dibandingkan dengan kultur sel parental. Sel dikatakan resisten ketika respons terhadap 5-FU berbeda secara signifikan ($p > 0,05$) dari kultur sel parentalnya yang dianggap sebagai kontrol. *EMT* merubah fenotip sel SiHa menjadi sel SiHaCR (SiHa *chemoresistant*) dimana dari pemeriksaan mikroskopis didapatkan morfologi sel ini berupa sel spindle yang panjang, berbeda dengan sel SiHa yang secara normal morfologinya berupa epitel poligonal. Dalam menentukan peran *EMT* pada resistensi sel SiHa atau sel SiHaCR, potensial migrasi dan invasi dari sel SiHaCR diukur. Hasil yang didapatkan bahwa sel SiHaCR memiliki potensi migrasi 1,5x lebih cepat daripada sel SiHa ($p < 0,05$). Potensi invasi sel diukur melalui pengukuran *in vitro matrigel* didapatkan bahwa kecepatan invasi sel SiHaCR melalui membran *matrigel* lebih tinggi dibandingkan kultur sel parental sel SiHa.⁵ Implikasi dari mekanisme resisten ini adalah gagalnya kemoterapi pada kanker serviks sehingga pengobatan pasien dapat terhambat.

Pembahasan

Penulis berhipotesis bahwa kronoterapi berbasis irama sirkadian dengan mengetahui waktu maksimal katabolisme 5-FU dalam tubuh, serta menjaga ritmisitas irama sirkadian yang konstan dapat memodulasi fungsi gen *PER-2*. Irama sirkadian merupakan ritme biologis dengan periodisitas yang hampir mendekati 24 CLOCK, dan mempertahankan mekanisme molekular irama sirkadian telah terbukti berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Apabila keselarasan irama sirkadian ini terganggu, maka penyakit seperti kanker dapat terjadi karena peran gen *PER-2* yang dominan pada karsinogenesis.²⁰

Modulasi gen *PER-2* ini berperan dalam menekan pertumbuhan sel kanker, menurunkan resistensi sel kanker, dan meningkatkan efikasi dari 5-FU dalam pengobatan lini kedua kanker serviks. Sebagaimana telah dipaparkan sebelumnya gen *clock*; gen *PER-2* memiliki efek sebagai supresor tumor karena perannya dalam

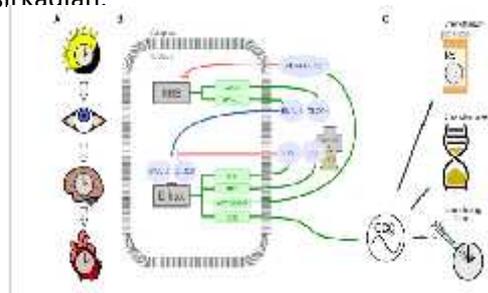
proliferasi, apoptosis, kontrol siklus sel, dan respon kerusakan DNA. Studi menyatakan bahwa pada sel kanker serviks yang diperiksa melalui *genome CGH array* untuk mendeteksi perubahan genomik pada 10 sel primer kanker serviks didapatkan hasil berupa hilangnya fragmen gen *PER-2*. Gen *PER-2* penting dalam mempertahankan dan regenerasi ritme sirkadian yang terlibat dalam mekanisme supresi tumor dengan menghambat *VEGF* (*vascular endothelial growth factor*) dan akan memberi respon terhadap adanya kerusakan DNA.²⁰⁻²² Jalur anggota dari bagian *VEGF* terdiri dari ligan primer yang bersirkulasi di sirkulasi tubuh meliputi *Vegfa* dan dua reseptor *membrane-bound* utama yaitu *Flt1* dan *Kdr*. Kaskade dari *VEGF* ini mengatur proses angiogenesis yang menyebabkan perkembangan dari kanker.²³ Dampak dari hilangnya fragmen gen *PER-2* dapat menyebabkan peningkatan kemampuan invasi dan aktivasi ekspresi gen *EMT*. Hal ini terjadi karena *PER-2* secara esensial melekat pada kompleks represor *OCT* (*POU2F1*) pada situs promotor *EMT*. Ketika protein *PER-2* mengalami degradasi maka akan terjadi disosiasi kompleks *PER-2* dengan situs promotor *EMT* yang akan meningkatkan ekspresi gen *EMT*.²⁴

Epithelial-mesenchymal transition (*EMT*) telah diketahui sangat berperan pada progresi dan metastasis kanker dan berimplikasi pada resistensi sel kanker dan relaps dari kanker. Telah dipaparkan sebelumnya pada tulisan ini bagaimana mekanisme *EMT* mempengaruhi terjadinya resistensi pada sel SiHa. Berdasarkan penelitian yang dipublikasi oleh Vishnoi dkk, sel SiHa memiliki onkoprotein E6 yang dikode oleh HR-HPV (*high-risk human papillomavirus*) yang berperan pada perkembangan keganasan sel kanker dan resistensi sel SiHa pada kanker serviks. Percobaan yang dilakukan adalah dengan memperoleh tipe sel SiHa di dalam medium DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) yang disuplementasi dengan dengan 10% fetal calf serum (Sigma-Aldrich Chemicals, USA), *L-glutamine* dan 1 % *penicillin/streptomycin* di dalam inkubator CO₂, dengan *humidified atmosphere* 95 % udara dan 5 % CO₂ pada 37 °C. Selanjutnya 5-FU yang sudah mengalami

proses disolusi dalam DMSO dicampurkan dengan medium segera sebelum digunakan. Sel SiHa yang resisten didapat dari hasil kultur berulang sel dengan dosis 5-FU yang secara progresif ditingkatkan. Sel (1×10^6) dikultur dalam botol 25 cm² yang mencapai konfluensi sekitar 60% dan berada di fase log pertumbuhan dan dipaparkan 5-FU selama 24 CLOCK. Setelah setiap *treatment*, medium diganti dengan 5-FU-bebas DMEM dan klon yang resisten dibiarkan tumbuh sampai tercapai ~60%. Sel diinkubasi secara bertahap pada konsentrasi 5-FU yang meningkat dari 20, 40, 60 hingga 100 µM. *Treatment* dari 5-FU pada setiap langkah diulang setidaknya tiga kali sebelum konsentrasi ditingkatkan. Tipe sel dipantau secara periodik untuk mengetahui resistensi 5-FU oleh *MTT assay*. Ketika sel-sel tersebut mampu bertahan terhadap paparan 5-FU secara terus-menerus dengan konsentrasi sebesar 100 µM, dan menunjukkan nilai IC₅₀ yang secara signifikan berbeda untuk nilai 5-FU maka sel tersebut dianggap resisten.⁵ Gangguan dalam ritme sirkadian akan memiliki dampak pada gen *PER-2* yang menyebabkan gangguan regulasi pertumbuhan tumor dan meningkatkan resistensi sel kanker.²²

Mekanisme irama sirkadian pada tubuh seseorang melibatkan peran gen – gen clock melalui proses yang cukup kompleks. Sistem timing irama sirkadian distimulasi oleh ada tidaknya sinyal berupa cahaya yang diterima oleh retina mata yang akan diteruskan ke SCN. Sinyal tersebut akan melewati proses sinkronisasi pada waktu spesifik organ yang sesuai dengan waktu lingkungan seperti siang atau malam hari. Selanjutnya sinyal akan masuk ke dalam mekanisme molekular clock melalui *loop* umpan balik sirkadian transkripsi – translasi sel dan jaringan yang akan menjaga keseimbangan fisiologis organ selama 24 CLOCK. Melalui *loop* umpan balik sirkadian, waktu yang presisi dikontrol melalui modifikasi pasca-translasi. Casein kinase satu epsilon (CK1ε) dan casein kinase satu delta (CK1δ), merupakan dua kinase utama yang bertanggung jawab untuk fosforilasi protein *PER* dan *CRY*. Melalui aktivitas kinase ini, pada akhir siklus sirkadian reguler, protein *PER1* dan *PER2* hampir seluruhnya mengalami degradasi, sehingga mencegah penekanan

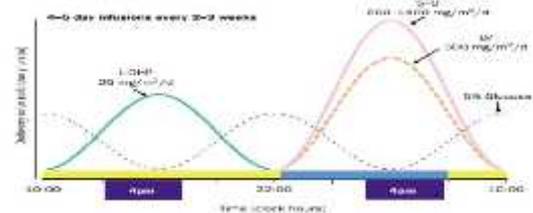
CLOCK / BMAL1 dalam nukleus dan memulai siklus sirkadian berikutnya. Masuknya nukleus dari protein PER dan CRY bertindak sebagai titik pemeriksaan penting dalam progresi siklus sirkadian, dengan ko-dependensi yang ada di antara dua protein. Kehadiran CRY1 dan PER2 berinteraksi dalam sitoplasma menghasilkan stabilitas PER2 dengan mencegah degradasi melalui fosforilasi CKI ϵ , dan dengan demikian memungkinkan translokasi nuklear dan penekanan dari heterodimer CLOCK/BMAL1. Perubahan pada keseimbangan antara protein CRY dan PER dapat menyebabkan perubahan pada siklus sirkadian.^{13,25}



Gambar 2. Sistem Irama Sirkadian²⁵

Secara khusus setiap agen kemoterapi memiliki waktu dimana konsentrasinya dalam tubuh sangat efektif dan efek toksik seperti gangguan neurologi dan hematologi yang ditimbulkan sangat minimal. Mengenai waktu antar agen kemoterapi sangat bervariasi tergantung dari beberapa hal seperti target organ sasaran, kadar enzim katabolisme dari agen dari agen kemoterapi, aktivitas, dan faktor eksternal lainnya. Waktu dimana kadar agen kemoterapi berada pada titik puncak berbanding lurus dengan tingkat efektivitas kemoterapi sehingga, sangat baik diberikan pada waktu dimana konsentrasi agen kemoterapi tersebut pada titik puncak.²⁶ Studi menyatakan bahwa terdapat rentang waktu dimana proses katabolisme 5-FU pada titik terendah. Kecepatan aktivitas pembatasan enzim katabolisme 5-FU, dehidropirimidin dehidrogenase (DPD) meningkat hingga mencapai 40% dalam rentang CLOCK 10 malam hingga 12 malam baik pada sel mononuclear pasien sehat dan penderita kanker, sedangkan konsentrasi puncak dari 5-FU berada pada periode awal istirahat. Periode awal istirahat yang dimaksud biasanya dimulai dari periode transisi gelap menuju

cahaya (terang) yang pada manusia biasanya dimulai pada pukul 12 malam. Dimana pada waktu ini merupakan waktu terbaik bagi sel-sel kanker untuk dipaparkan oleh agen kemoterapi. 5-Fluorouracil (5-FU) memiliki waktu paruh sekitar 10 -20 menit dan berdasarkan penelitian yang ada kronomodulasi pemberian 5-FU lebih baik diberikan pada CLOCK 4 pagi dibandingkan dengan pemberian pada pukul 1 siang dan 7 malam. Dikatakan lebih baik karena efek toksik yang ditimbulkan minimal dan paparan 5-FU pada sel kanker menjadi lebih maksimal (Gambar3).¹⁴



Gambar 3. Contoh jadwal kronoterapi yang diberikan kepada pasien menggunakan pompa infus *multichannel*; pemberian infus yang telah melalui kronomodulasi dari *fluorouracil (5-FU)*, *leucovorin (LV)*, dan *oxaliplatin (L-OHP)* ¹⁴

Simpulan

Resistensi tipe sel SiHa pada kanker serviks diakibatkan oleh peningkatan *MET* dan penurunan hingga hilangnya protein gen *PER-2*. Apabila irama sirkadian diperbaiki maka mekanisme gen *PER 2* yang merupakan tumor suppressor dalam menghambat apoptosis dan proliferasi sel kanker dapat bekerja dengan maksimal. Melalui pemberian 5-FU dengan kronoterapi berbasis sirkadian diharapkan mampu mempertahankan fungsi gen *PER-2*. Selain itu pemberian 5-FU sesuai dengan waktu dimana konsentrasi 5-FU tidak pada titik terendah diharapkan dapat menurunkan resistensi tipe sel SiHa kanker serviks, sehingga pengobatan tipe kedua pada terapi kanker tidak akan mengalami kegagalan dan efek toksik yang ditimbulkan pada tubuh minimal. Efek toksisitas yang minimal berhubungan dengan rendahnya efek samping yang mungkin muncul. Dengan demikian penulis berharap penelitian lebih lanjut mengenai kronoterapi berbasis irama sirkadian dalam pemberian 5-FU untuk pasien kanker serviks dalam usaha menurunkan

resistensi sel SiHa pada kanker serviks. Dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai penyesuaian dosis antara 5-FU dengan kadar enzim katabolismenya sehingga dapat mencapai efek terapeutik yang maksimal. Sehingga insiden gagal terapi menggunakan 5-FU sebagai agen anti kanker tipe kedua akibat resistensi sel SiHa dapat menurun, dan angka kematian akibat kanker serviks akibat gagal terapi juga dapat menurun.

Daftar pustaka

1. Prawirohardjo S. Ilmu kebidanan. Jakarta: PT. Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2016.
2. WHO. Cervical cancer. Geneva: World Health Organization; 2018.
3. Komite Penanggulangan Kanker Nasional. Panduan penatalaksanaan kanker serviks. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2015.
4. Jing Yang, Lv-Xia Dai, Ming Chen, Bei Li, Nana Ding, Gang Li et al. Inhibition of antiviral drug cidofovir on proliferation of human papillomavirus-infected cervical cancer cells. J Experimental and Therapeutic Medicine [Internet]. 2016 [diakses tanggal 15 Oktober 2018];12(5):2965–2973. Tersedia dari <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2016.3718>
5. Kanchan V, Sutapa M, Abhishek T, Arvind P, Gaurav V, Mohit J, et al. Human papillomavirus oncoproteins differentially modulate epithelial-mesenchymal transition in 5-FU-resistant cervical cancer cells. J Scientific Reports [Internet]. 2016 [diakses tanggal 15 Oktober 2018];6:34377. Tersedia dari <https://link.springer.com/article/10.1007/s13277-016-5143-6#>
6. Vishnoi K. Human papillomavirus oncoproteins differentially modulate epithelial-mesenchymal transition in 5-FU-resistant cervical cancer cells. J Europe PMC [Internet]. 2016 [diakses tanggal 15 Oktober 2018]; 37(10): 13137-13154. Tersedia dari <https://www.cancertherapyadvisor.com/gynecologic-cancer/cervical-cancer-treatment-regimens/article/218139/>
7. Jaskanwal DS, Jasvinder K, Ryan K, Muneeb R, Ronstan L, Sakti C, et al. 5-fluorouracil and cardiotoxicity: a review. J Medical Oncology [internet]. 2018. [diakses tanggal 15 Oktober 2018]. Tersedia dari <https://doi.org/10.1177/1758835918780140>
8. Chemocare, Fluorouracil [internet]. Spanish: Multidisciplinary team; 2015. [disitasi tanggal 16 Oktober 2018]. Tersedia dari <http://chemocare.com/chemotherapy/drug-info/fluorouracil.aspx>
9. Chun-Mei Yan, Ying-Ling Zhao, Hong-Yi Cai, Guo-Ying Miao, Wen Ma. Blockage of PTPRJ promotes cell growth and resistance to 5-FU through activation of JAK1/STAT3 in the cervical carcinoma cell line C33A. J Oncology Reports [internet]. 2015 [diakses tanggal 17 Oktober 2018]; 33(4):1737-1744. Tersedia dari <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2015.3769>
10. Savvidis C, Koutsilieris M. Circadian rhythm disruption in cancer biology. J Mol Med. 2012;18(1):1249-60.
11. Dara Mohammadi. Cancer chronotherapy: timing drug administration to optimise efficacy and reduce toxicity. J Pharmaceutical [internet]. 2016 [diakses tanggal 17 Oktober 2018]. Tersedia dari <https://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/features/cancer-chronotherapy-timing-drug-administration-to-optimise-efficacy-and-reduce-toxicity/20200709.article>
12. Savvidis C, Koutsilieris M. Circadian Rhythm Disruption in Cancer biology. J Molmed [internet]. 2012 [diakses tanggal 23 Oktober 2018]; 18(1): 1249–1260. Tersedia dari <https://europepmc.org/articles/pmc3521792>
13. Abbas S. Carcinogenic effects of circadian disruption: an epigenetic viewpoint. Journal of Cancer [internet]. 2015 [diakses tanggal 23 Oktober 2018]; 34:38. Tersedia dari <https://cancercommun.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40880-015-0043-5>

14. Levi F, Garufi C, Karaboué A, Focan C, Chollet P, Li X-M, et al. Sex-related differences in circadian-dependent tolerance of Irinotecan (I) added to chronomodulated (chrono) 5-Fluorouracil (F), Leucovorin (L) and Oxaliplatin (O): Final results from international randomised time-finding study in patients with metastatic colorectal cancer. *J Annals of Oncology* [internet]. 2017 [diakses tanggal 23 Oktober 2018]; 28(5):393-48 Tersedia dari https://academic.oup.com/annonc/article/28/suppl_5/mdx393.048/4109820
15. Prosenc Zmrzljak U. Circadian rhythms and new options for novel anticancer therapies. *J Dove Press* [internet]. 2014 [diakses tanggal 23 Oktober 2018]; (5): 1-13. Tersedia dari <https://www.dovepress.com/circadian-rhythms-and-new-options-for-novel-anticancer-therapies-peer-reviewed-fulltext-article-CPT>
16. C. Focan, MD, PhD. Chronobiology and chronotherapy of cancer: where do we stand?. *Belg J Med* [internet]. 2014. [diakses tanggal 24 Oktober 2018]; 8(2):60-2. Tersedia dari: <https://www.ariesz.nl/301-redirect/?guid=08adc5e3-42f7-4455-b0ed-08823b1015d4>
17. Ian Major , Christopher McConville. Vaginal drug delivery for the localised treatment of cervical cancer. *J Drug DTR* [internet]. 2017 [diakses tanggal 24 Oktober 2018]; 7(6): 817–828. Tersedia dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5656736/>
18. Go J Yoshida. Emerging role of epithelial-mesenchymal transition in hepatic cancer. *J Experimental & CCR* [internet]. 2016 [diakses tanggal 25 Oktober 2018]; 35:141. Tersedia dari <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-016-0419-7>
19. Yanyuan Wu, Marianna Sarkissyan, Jaydutt V, Vadgama. Epithelial-Mesenchymal Transition and Breast Cancer. *J Clin.Med* [internet]. 2016 [diakses tanggal 26 Oktober 2018]; 5(2):13 Tersedia dari <https://www.mdpi.com/2077-0383/5/2/13>
20. Fabiola Hernandez-Rosas, Andres Hernandez-Oliveras, Lucia Flores-Peredo, Gabriela Rodriguez, Ángel Zarain-Herzberg, Mario Caba , Juan Santiago Garcia, et al. Histone deacetylase inhibitors induce the expression of tumor suppressor genes Per1 and Per2 in human gastric cancer cells. *J Oncology Reports*. [internet]. 2018 [diakses tanggal 25 Oktober 2018]; 16(2):1981-1990. Tersedia dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30008892>
21. Wei-na Zhang, Wei Li, Xiao-li Wang, Zheng Hu, Da Zhu, Wen-cheng Ding, et al. CLDN1 expression in cervical cancer cells is related to tumor invasion and metastasis. *J Oncotarget* [internet]. 2016; [diakses tanggal 25 Oktober 2018]; 7(52): 87449–87461. Tersedia dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5350000/>
22. Zhaoxia Wang, Li li , Yang Wang. Effects of Per2 overexpression on growth inhibition and metastasis, and on MTA1, nm23-H1 and the autophagy-associated PI3K/PKB signaling pathway in nude mice xenograft models of ovarian cancer. *J Moleculer med Report* [internet]. 2016 [diakses tanggal 26 Oktober 2018]; 13(6):4561–4568. Tersedia dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4878548/>
23. Zhanga R, Lahensa NF, Ballancea HI, Hughesb ME, Hogenesch JB. A circadian gene expression atlas in mammals: Implications for biology and medicine. *J PNAS* [internet]. 2014 [diakses tanggal 27 Oktober 2018]; 111(45):1-5. Tersedia dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC42346>
24. Wendy W, Hwang-Verslues, Po-Hao Chang, Yung-Ming Jeng, Wen-Hung Kuo, Pei-Hsun Chiang, et al. Loss of corepressor PER2 under hypoxia up-regulates OCT1-mediated EMT gene expression and enhances tumor malignancy. *J PNAS* [internet]. 2013 [diakses tanggal 27 Oktober 2018]; 110(30):1-3. Tersedia dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC42346>

<http://www.pnas.org/content/pnas/110/30/12331.full.pdf>

25. Guangrui Yang, Han Wang, Erquan Zang. Therapeutic implication Of circadian rhythms. J Frontiers in Pharmacology [internet]. 2015 [diakses tanggal 27 Oktober 2018]. Tersedia dari https://books.google.co.id/books?id=5yoqCwAAQBAJ&pg=PA62&lpg=PA62&dq=Casein+kinase+1+epsilon+chronotherapy+2015&source=bl&ots=HQM00LpRP&sig=8jSWvFE_pJCeI1p49bi4aWBnGCQ&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjQxe-mhrbeAhUifX0KHVbtBH8Q6AEwB3oECAEQAQ#v=onepage&q=Casein%20kinase%201%20epsilon%20chronotherapy%202015&f=false