



UNIVERSITAS INDONESIA

**EKSPRESI MYOMIR-206 PADA PASIEN KANKER PARU
DENGAN KAHEKSIA DAN KAITANNYA DENGAN IL-6**

TESIS

**AGUS RAHMADI
1406504075**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
JAKARTA
JANUARI 2017**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Agus Rahmadi

NPM : 1406504075

Tanda Tangan :

Tanggal : 16 Januari 2017

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Agus Rahmadi
NPM : 1406504075
Program Studi : Ilmu Biomedik
Judul Tesis : Ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru dengan kaheksia dan kaitannya dengan IL-6

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister pada Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. dr. Noorwati Sutandyo, SPPD-KHOM

(.....)

Pembimbing II: Dr. Dra. Puspita Eka Wuyung, MS

(.....)

Penguji I : Dr. dr. Aida Sofiati Dachlan, SPKK(K)

(.....)

Penguji II : Prof. Dr.dr. Sri Widia Jusman, MS

(.....)

Penguji III : Dr. Dra. Rizka Andalusia, Apt., M.Pharm, MARS

(.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 16 Januari 2017

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik

Dr. rer. Physiol. Dr. Septelia Inawati Wanandi

KATA PENGANTAR

Segala puji saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas limpahan kasih sayang dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan ini. Tesis ini dilaksanakan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik pada Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Dalam penyelesaian tesis, penulis telah banyak menerima bantuan, bimbingan, gagasan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Noorwati Sutandyo, SPPD-KHOM selaku dosen pembimbing pertama dalam tesis. Terima kasih atas semua saran, inspirasi, bimbingan, bantuan, dukungan dan waktu yang telah diberikan sejak awal perkuliahan hingga akhir penyusunan tesis ini.
2. Dr. Dra. Puspita Eka Wuyung, MS sebagai dosen pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan inspirasi, masukan, bimbingan dan koreksi selama masa studi, penelitian dan penulisan tesis ini.
3. Dr. Dra. Riska Andalucia, Apt.M.Pharm.MARS yang telah memberikan saran, arahan, dan bimbingan serta mengizinkan pemakaian fasilitas laboratorium sehingga penulis dapat melakukan penelitian tesis ini.
4. Dr. dr. Aida Sofiati Dachlan, SPKK(K) sebagai penguji pertama dan ketua kekhususan Onkologi Program Megister Ilmu Biomedik FK UI yang telah memberikan masukan, evaluasi dan koreksi untuk perbaikan tesis yang lebih baik.
5. Prof. Dr. dr. Sri Widia Jusman, MS sebagai penguji kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan saran dan arahan untuk penyempurnaan tesis.
6. Dr. rer. physiol. dr. Septelia Inawati Wanandi sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik FK UI yang telah membantu penulis selama masa studi.
7. Seluruh staf pengajar Program Magister Ilmu Biomedik Kekhususan Onkologi FK UI yang telah banyak membimbing, membantu, mendukung dan menginspirasi penulis selama masa studi.
8. Seluruh staf laboratorium yang telah mendukung dan meluangkan waktunya untuk membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.
9. Kedua orang tua yang tiada henti memberikan kasih sayangnya kepada penulis. Terima kasih atas segala pengorbanan, dukungan dan doa yang luar biasa sehingga penulis dapat menempuh studi hingga tahap ini.

10. Istri dan anak-anak yang telah mendukung dan mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
11. Saudara penulis yang sudah ikut membantu, mendukung, menyemangati dan mendoakan penulis untuk menyelesaikan tesis ini.
12. Rekan dan teman-teman yang saling berbagi informasi dan dukungannya kepada penulis.
13. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Akhir kata, penulis menyampaikan ungkapan penghargaan dan terima kasih. Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan tesis ini. Semoga tesis ini bermanfaat untuk masyarakat dan bagi pengembangan ilmu.

Jakarta, 16 Januari 2017

Agus Rahmadi

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Agus Rahmadi
NPM : 1406504075
Program Studi : Program Magister Ilmu Biomedik
Kekhususan : Onkologi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

Demi mengembangkan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non Eksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**Ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru
dengan kaheksia dan kaitannya dengan IL-6**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini Universitas berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada tanggal : 16 Januari 2017

Yang menyatakan

(Agus Rahmadi)

ABSTRAK

Nama : Agus Rahmadi
Program : Magister Ilmu Biomedik FKUI
Judul : Ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru dengan kaheksia dan kaitannya dengan IL-6

Kanker paru merupakan kanker yang paling banyak dijumpai sebagai salah satu penyebab kematian didunia. Kaheksia sering terjadi pada pasien kanker paru dengan tingkat survival yang rendah. Kaheksia ditandai dengan penurunan berat badan yang berdampak pada berkurangnya jaringan lemak dan otot rangka, kelelahan dan inflamasi sistemik. Sitokin berhubungan dengan terjadinya inflamasi sistemik. Salah satu sitokin yang berperan adalah IL-6. IL-6 dapat menstimulasi pembentukan protein fase akut yang berperan menyebabkan penurunan berat badan pada kaheksia. Seperti diketahui bahwa miRNA berperan dalam proses *myogenesis*. Salah satu myomiR yang berperan adalah miRNA-206. MyomiR-206 merupakan kelompok myomiR yang terekspresikan pada otot rangka. MiRNA berperan penting sebagai modulator ekspresi gen, namun mekanisme terjadinya atropi otot pada kaheksia belum banyak diketahui. Desain penelitian ini adalah penelitian *cross sectional*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi myomiR – 206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan kaitannya dengan IL-6. Ekspresi miRNA diukur dalam serum darah pasien dengan menggunakan RT-qPCR. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 antara kelompok pre kaheksia dengan kelompok kaheksia namun tidak bermakna secara statistik. Sedangkan perbedaan IL-6 antara kelompok prekaheksia dengan kaheksia menunjukkan hubungan bermakna secara statistik. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia namun tidak bermakna secara statistik dan berkaitan dengan IL-6.

Kata Kunci : Kanker Paru, Kaheksia, myomiR-206, IL-6

ABSTRACT

Nama : Agus Rahmadi
Program : Master in Biomedical Science FKUI
Title : Expression of myomiR-206 in lung cancer patient with cachexia in correlation with IL-6

Lung cancer is the leading cause of cancer-related deaths worldwide. Cachexia are frequently observed in lung cancer patients and associated with poor survival. Cachexia is characterized by a significant reduction in body weight resulting predominantly from loss of adipose tissue and skeletal muscle, fatigue and systemic Inflammation. Cytokines are related to systemic inflammation . One of these cytokines is IL-6. IL-6 stimulates the synthesis of acute phase proteins are important in promoting weight loss in cachexia. In Additional, miRNAs have been identified and shown to have an important role in myogenesis. One of these myomiRs is miRNA-206. MyomiR-206 is expressed in skeletal muscle. MiRNAs are important modulators of gene expression but their role the atrophy muscle in cachexia is unknown. This research was a *cross sectional* study. The aim of this study was to see expression of myomiR-206 in lung cancer patient with cachexia in correlation with IL-6. MicroRNA expression was measured from serum of blood using RT-qPCR.. These results, There was difference expression of myomiR-206 in lung cancer patient between precachexia and cachexia but there was no significant in statistic. There was significant in IL-6 between precachexia and cachexia. Our results suggest that there was difference expression of myomiR-206 in lung cancer patient with cachexia but there was no significant statistic and associated with IL-6.

Keywords : Lung cancer, cachexia, myomiR-206, IL-6

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Pertanyaan Penelitian	4
1.4 Hipotesis Penelitian	4
1.5 Tujuan Penelitian	4
1.5.1 Tujuan Umum	4
1.5.2 Tujuan Khusus	4
1.6 Manfaat Penelitian	4
1.6.1 Manfaat Pendidikan	4
1.6.2 Manfaat Penelitian	5
1.6.3 Manfaat Penelitian	5
1.7 Kerangka Teori.....	5
1.8 Kerangka Konsep	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kaheksia	7
2.2 Kaheksia pada Kanker Paru	7

2.3 Inflamasi pada Kanker	8
2.4 Mekanisme Kaheksia	8
2.4.1 Central Mediated Pathway	9
2.4.2 Peripheral Pathway	11
2.4.2.1 TNF α	11
2.4.2.2 IL – 6	11
2.4.2.3 Miostatin	13
2.4.2.4 IGF 1 (Insulin Growth Factor 1)	13
2.4.3 Tumor Derived Factors	14
2.4.3.1 LMF (Lipid Mobilizing Factor) dan ZAG (Zinc α Glycoprotein).....	15
2.4.3.2 PIF (Proteolysis Inducing Factor)	16
2.5 MikroRNA (miRNA)	18
2.5.1 Biogenesis mikroRNA	19
2.5.2 Fungsi mikroRNA	22
2.5.3 Keluarga miRNA Spesifik terhadap Otot	22
2.5.4 Peran myomiR dalam Metabolisme Otot	25
2.5.5 Peran myomiR – 206 dalam Metabolisme Otot	27
2.5.5.1 DNA Pol α 1	28
2.5.5.2 Pax3 dan Pax7	28
2.5.5.3 Cx43	29
2.5.5.4 Utrn dan Fstl1	29
2.5.5.5 HDAC4	29
BAB 3 METODE PENELITIAN	30
3.1 Desain Penelitian	30
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	30
3.4 Kriteria Pemilihan Subyek Penelitian.....	30
3.5 Sumber Data	30
3.6 Besar Sampel	30
3.7 Definisi Operasional	31
3.8 Bahan dan Alat	31
3.8.1 Bahan	31
3.8.2 Alat	32

3.9 Cara Penelitian	32
3.9.1 Pengambilan Sampel	32
3.9.2 Analisis Biochemical	32
3.9.3 Pembuatan Serum	32
3.9.4 Isolasi RNA	32
3.9.5 Micro RNA Reverse Transcription	33
3.9.6 Real Time Quantitative PCR miRNA – 206	33
3.10 Etik Penelitian	34
3.11 Rencana Pengolahan dan Analisis Data	34
BAB 4 HASIL	35
4.1 Gambaran Clinicopathology pada Pasien Kanker Paru.....	35
4.2 Perbedaan kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 ≥ 12,5 pg/mL pada Pasien Kanker Paru.....	35
4.3 Perbedaan Kadar Hemoglobin, Albumin, IL-6 dan CRP antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru.....	36
4.4 Ekspresi MyomiR-206 antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru.....	38
4.5 Hubungan Ekspresi MyomiR-206 dengan IL-6 pada Pasien Kanker Paru.....	39
BAB 5 PEMBAHASAN	40
5.1 Gambaran Clinicopathology pada Pasien Kenker Paru	40
5.2 Perbedaan kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 ≥ 12,5 pg/mL pada Pasien Kanker Paru.....	41
5.3 Perbedaan Kadar Hemoglobin, Albumin, IL-6 dan CRP antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru.....	42
5.4 Ekspresi MyomiR-206 antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru.....	42
4.5 Hubungan Ekspresi MyomiR-206 dengan IL-6 pada Pasien Kanker Paru.....	44
5.5 Keterbatasan Penelitian	44
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	46
6.1 Kesimpulan	46
6.2 Sarann	46

DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	55
ARTIKEL PENELITIAN	58
RIWAYAT HIDUP	69

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Gambaran Clinicopathology Pasien Kanker Paru.....	35
Tabel 4.2. Perbedaan kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 ≥ 12,5 pg/mL pada Pasien Kanker Paru	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Mekanisme kanker kaheksia.....	9
Gambar 2.2.	Mekanisme respon terhadap lapar (a) dan kanker kaheksia (b).....	10
Gambar 2.3.	Efek IL – 6 terhadap kejadian kaheksia.....	11
Gambar 2.4.	Jalur sinyal IL 6.....	12
Gambar 2.5.	APR oleh IL 6.....	13
Gambar 2.6.	Jalur sinyal miostatin dan IGF 1.....	14
Gambar 2.7.	Mekanisme kontrol dari TAG /TG dari LMF, ZAG dan TNF α	15
Gambar 2.8.	Jalur induksi ubiquitin – proteosom.....	17
Gambar 2.9.	Mekanisme katabolisme miofilamen pada otot.....	18
Gambar 2.10.	Jalur Biogenesis mikroRNA.....	22
Gambar 2.11.	Sekuen, situs ekspresi dan lokasi dari MyomiRs pada tiga kromosom yang berbeda.....	23
Gambar 2.12.	Struktur kluster gen myomiRs pada genom manusia.....	23
Gambar 2.13.	Ketiga kluster bicistronik pada miRNA spesifik otot.....	24
Gambar 2.14.	Mekanisme kerja myostatin dalam pertumbuhan dan diferensiasi otot4.....	26
Gambar 2.15.	Peran miRNA dalam metabolisme otot.....	27
Gambar 2.16.	Peran myomiR – 206 dalam perkembangan otot.....	28
Gambar 2.17.	Peran miRNA 206 secara mekanisme molekuler dalam perkembangan sel otot.....	29
Gambar 4.1.	Perbedaan kadar hemoglobin antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru.....	36
Gambar 4.2.	Perbedaan kadar albumin antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru.....	37
Gambar 4.3.	Perbedaan kadar IL–6 antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru.....	37
Gambar 4.4.	Perbedaan kadar CRP antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru.....	38
Gambar 4.5.	Ekspresi myomiR–206 antara pre kaheksia dan kaheksia pada pasien kanker paru.....	39
Gambar 4.6.	Hubungan ekspresi myomiR–206 dengan IL–6 pada pasien kanker paru.....	39

DAFTAR SINGKATAN

AA	: Asam Arachidinic
ACTH	: Adreno Cortico Tropic Hormone
ActRIIB	: Activin Receptor II B
AGO	: Argonaute
AgRP	: Agouti Related Peptide
ALK 4	: Activin receptor Like Kinase 4
APP	: Acute Phase Protein
APR	: Acute Phase Response
ARC	: Arcuate Nukleus
BAT	: Brown Adipose Tissue
cAMP	: Adenyl Mono Phospate
CART	: Cocaine and Amphetamine Related Transcript
COPD	: Chronic Obstructive Pulmonary Disease
cPLA ₂	: Phospolipase A ₂
CRP	: C Reaktive Protein
Cx 43	: Connexin 43
eIF2 α	: Eukariotic Initiation Factor 2 α
ERK	: Extracellular Regulated Kinase
ERK	: Extracellular Regulated Kinase
FoxO	: Forkhead Box O
Fstl	: Follistatin-like
GDF 8	: Growth Differentiation Factor 8
HDAC4	: Histone Deacetylase 4
HDL	: High Density Lipid
HETE	: Hydroxy Eicosate Tetra Enoic acid
HF	: Heart Failure
HSL	: Hormon Sensitive Lipase
IGF 1	: Insulin Growth Factor 1
IKK β	: Inhibitor κ B Kinase
IL 1	: Inter Leukin 1
IL 6	: Interleukin 6
IMT	: Indeks Massa Tubuh
iNOS	: inducible Nitric Synthase
JAK	: Janus Kinase
JNK	: C Jun NH2 terminal Kinase
LMF	: Lipid Mobilizing Factor
LOX	: Lipo Oxygenase
LPL	: Lipo Protein Lipase
m TOR	: Mammalian Target Of Rapamycin
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MEF2	: Myocyte Enhancer Factor 2
miRNA	: micro inhibitory RNA
MuRF 1	: Muscle Ring Finger 1
NADPH	: Nikotinamide Adenin Dinukleotida Phospate
NEFA	: Non Esterified Fatty Acid
NF κ B	: Nucleus Factor κ B
NPY	: Neuro Peptide Y
NPY	: Neuropeptide Y

PAX 3	: Paired box 3
PAX 7	: Paired box 7
PDE3B	: Phospo Di Ester 3B
PI3K	: Phospo Inositide 3 Kinase
PIF	: Proteolysis Inducing Factor
PKA	: Protein Kinase
PKC	: Protein Kinase C
PKR	: Protein Kinase RNA dependent
PL	: Phospolipid
PLIN	: Perilipin
POL α	: Polymerase α
POMC	: Pro Opio Melano Cortin
PTEN	: Phosphatase and Tensinhomolog
RISC	: RNA-Induced Silencing Complex
ROS	: Reaktif Oxygen Species
SAA	: Serum Amyloid A
SRF	: Serum Response Factor
STAT	: Signal Tansducer and Activator of Transcription
TAG	: Triacylglycerols
TDF	: Tumor Derifat Factor
TGF β	: Tumour Growth Factor β
TNF α	: Tumor Necrotic Factor α
UPP	: Ubiquitin Proteosome Pathway
UPP	: Ubiquitin Proteosome Pathway
Utrn	: Utrophin
YY1	: Yin Yang 1
ZAG	: Zinc α_2 Glycoprotein
$\alpha 1$ AGP	: $\alpha 1$ Acid Glyco Protein

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker paru merupakan kanker yang paling banyak dijumpai sebagai salah satu penyebab kematian. Berdasarkan data *American Cancer Society 2015* menunjukkan bahwa angka kematian akibat kanker paru cukup besar yaitu 162.460 kasus kematian dari 240.390 kasus kanker paru.¹ Kanker paru merupakan kanker yang mempunyai tingkat survival yang rendah dan angka kekambuhan yang cukup tinggi setelah dilakukan tindakan operasi.² Kaheksia merupakan kondisi patologi dari banyak penyakit diantaranya kanker, COPD (*Chronic Obstructive Pulmonary Disease*), sepsis dan gagal jantung. Namun dari sejumlah penyakit ternyata kanker mempunyai tingkat yang tinggi untuk terjadinya kaheksia yaitu 90 % dari populasi penderita kanker, meskipun kanker memiliki jumlah angka kesakitan yang lebih rendah dibanding dengan COPD dan HF (*Heart Failure*). Angka kematian akibat kaheksia pada kanker berkisar 20–60 % dari jumlah penderita kaheksia pada tahun pertama. Hal ini menunjukkan bahwa kanker penyebab terbesar yang menyebabkan kaheksia dengan tingkat mortalitas yang tinggi.³ Berdasarkan kriteria *the SCRINIO international cancer cachexia working group*, kaheksia pada kanker di kelompokkan menjadi 2 yaitu pre kaheksia dan kaheksia. Pada kelompok pre kaheksia persentase penurunan berat badan < 10% sedangkan kelompok kaheksia persentase penurunan berat badan \geq 10%.⁴

Kaheksia pada kanker adalah kelainan kondisi metabolik kompleks yang ditandai dengan hilangnya massa otot rangka, dengan manifestasi klinis berupa penurunan berat badan yang progresif, penurunan kekuatan otot, kelelahan, anoreksia dan hasil laboratorium yang abnormal seperti peningkatan marker inflamasi diantaranya IL-6 (*Interleukin 6*) dan CRP (*C Reactive Protein*), anemia, hipoalbumin, sehingga menyebabkan berkurangnya kualitas hidup dan berdampak menurunnya angka harapan hidup.⁵

Kaheksia pada kanker dipengaruhi oleh kondisi lingkungan mikro dan respon sel kanker dimana komponen *microenvironment* yang berperan adalah sitokin (IL-6, TNF α (*Tumor Necrosis Factor α*) dan *myostatin*), sedangkan komponen respon sel kanker yang berperan diantaranya PIF (*Proteolysis Inducing Factor*) dan LMF (*Lipid Mobilizing Factor*). Namun Mekanisme terjadinya kaheksia pada kanker sampai saat ini masih belum jelas. Banyak faktor yang mempengaruhi perubahan protein pada otot dan lemak. Atrofi otot

dapat terjadi melalui aktivasi sistem *proteolysis* dan hilangnya protein kontraktil dan organel, hal ini dapat terjadi pada kanker, obesitas, sepsis, gagal jantung dan proses penuaan. Aktifasi *proteolysis* yang mengakibatkan atrofi otot dapat melalui sistem *ubiquitin-proteasome* dengan peningkatan konjugasi ubiquitin dengan protein otot, peningkatan aktivasi *proteosomal ATP dependent*, peningkatan protein *breakdown* oleh protein inhibitor, regulasi transkripsi ubiquitin. Selain itu proses *proteolysis* dapat pula melalui *autophagy lisosom system, signaling pathway regulating muscle atrophy* (IGF-1, Akt, FoxO, myostatin dan glukokortikoid), inflamasi sitokin dan NfKB, *crossstalk* miostatin dan Akt. Sedangkan hambatan pada proses proliferasi dan differensiasi otot dapat melalui aktivasi jalur JAK (*Janus Kinase*) /STAT (*Signal Transducer and Activator of Transcription*) serta jalur Ras-Raf-MEK-ERK (*Extracellular Regulated Kinase*). Sitokin khususnya IL-6 juga berperan sebagai *mimic leptin* di hipotalamus yang akan menekan *ghrelin* dan NPY (*neuropeptide Y*) sehingga menyebabkan anoreksia. IL-6 juga menyebabkan kaheksia melalui mekanisme *lipolysis* dengan meningkatkan proses pemecahan BAT (*Brown Adipose Tissue*). Dengan demikian IL-6 dapat dijadikan biomarker dalam penentuan prognosis penyakit. ^{6,7}

Selain mekanisme diatas khususnya IL-6 juga berperan dalam meningkatkan APP (*Acute Phase Protein*) oleh hepatosit seperti SAA (*Serum Amyloid A*) dan CRP serta menurunkan APP seperti albumin dan transferrin.⁸ Oleh karena itu IL-6 memberikan implikasi pada beberapa target organ seperti otot, lemak, saluran pencernaan dan hati, yang kesemuanya dapat menyebabkan terjadinya kaheksia yang meliputi atrofi otot, kehilangan lemak, hipoalbuminemia dan anemia. Hambatan IL-6 pada beberapa model tikus yang dibuat kanker menunjukkan hambatan terhadap kaheksia.⁹

Peran miRNA dalam atrofi dan kehilangan otot masih diperdebatkan. Sejumlah protein dari otot dapat digunakan untuk menghasilkan energi selama proses katabolisme berlangsung. Seperti diketahui bahwa massa otot rangka sangat dipengaruhi oleh keseimbangan antara sintesis protein dan degradasi protein. Atrofi otot dikontrol oleh jalur signal yang spesifik dan faktor transkripsi gen yang mengatur perubahan pada otot yang dinamakan *atrofi related gen* atau *atrogenes*. MiRNA berperan dalam mengontrol ekspresi gen dan menekan translasi yang menyebabkan degradasi mRNA. Peran miRNA dalam proses fisiologi otot diantaranya proses *myogenesis*, perubahan otot dan regenerasi. MiRNA yang diekspresikan di dalam otot dikenal dengan sebutan *myomiRs*. Beberapa *myomiRs* yang telah ditemukan diantaranya miRNA-1, miRNA-133a, miRNA-133b, miRNA-206, miRNA-208, miRNA-208b, miRNA-486, dan miRNA-499. *MyomiRs* tersebut banyak diekspresikan pada otot rangka dan otot jantung,

dibandingkan dengan *myomiRs* lainnya, sedangkan *myomiR*-206 diekspresikan secara konsisten di otot rangka.^{10, 11}

Deregulasi ekspresi *myomiR*-206 berhubungan dengan kondisi patologis. Hambatan *myomiR*-206 berhubungan dengan atrofi otot. Seperti diketahui *myomiR*-206 dapat mempengaruhi PAX 3 (*Paired box 3*)/PAX 7 (*Paired box 7*) yang berperan dalam perubahan *progenitor* sel otot menjadi *myoblast*. miRNA juga mempengaruhi POL α (*polymerase α*), HDAC4 (*Histone Deacetylase 4*) dan Utrn (*Utrophin*) yang berperan pada perubahan *myoblast* menjadi *differentiated myoblast*. Selain itu *myomiR*-206 juga mempengaruhi Cx 43 (*Connexin 43*) dan Fstl (*Follistatin-like*) yang berperan pada perubahan *differentiated myoblast* menjadi *myofiber*. Secara umum *myomiR*-206 berperan dalam differensiasi *myoblast* dan regenerasi otot^{12, 13}

. MiRNA merupakan *single strand* dan *non coding* RNA dengan panjang 18–25 nukleotida yang dapat memberikan regulasi negatif terhadap ekspresi mRNA sehingga menyebabkan degradasi mRNA atau penghambatan proses translasi. Oleh karena itu perubahan ekspresi miRNA pada jaringan otot dapat mengubah metabolisme di dalamnya.¹⁴ MiRNA dapat ditemukan secara stabil di dalam cairan tubuh diantaranya air liur, urin, air susu dan darah. miRNA bisa stabil didalam cairan tubuh karena terbungkus kedalam *exosomes* atau *microvesicles*. Selain itu miRNA dapat terikat dengan HDL (*High Density Lipid*) atau terikat dengan protein AGO (*Argonaute*). Hal ini yang menyebabkan miRNA tidak terdegradasi dan stabil dalam cairan tubuh.¹⁵

Seperti diketahui bahwa ekspresi dari miRNA sangat tergantung pada jenis jaringan, kondisi metabolik dan penyakit. Beberapa penelitian menunjukkan proses inflamasi pada jaringan lemak dan otot dapat mempengaruhi ekspresi dari miRNA.¹⁶ Hambatan pada miRNA-1, miRNA-133 dan miRNA-206 oleh sitokin dapat menyebabkan degenerasi pada otot.¹⁷

Dengan tingginya angka kejadian kaheksia pada kanker paru, maka diperlukan studi pendahuluan untuk melihat hubungan antara kaheksia dengan *myomiR*-206 dan kaitanya dengan IL-6 pada pasien kanker paru di rumah sakit kanker Dharmais.

1.2 Rumusan Masalah

Banyak faktor yang mempengaruhi terjadinya kaheksia baik melalui mekanisme sentral yang menyebabkan anoreksia maupun mekanisme perifer melalui proses *proteolysis* dan *lipolysis*. Salah satu tanda kaheksia yang sangat menonjol diantaranya terjadi penurunan berat badan $\geq 10\%$. Hal ini salah satunya disebabkan karena penurunan massa otot akibat

proses *proteolysis*. Seperti diketahui bahwa salah satu yang mempengaruhi regulasi otot adalah peran myomiR-206. Namun sampai saat ini belum diketahui secara pasti mekanisme hubungan terjadinya kaheksia dengan peran myomiR-206. Untuk itu sebagai studi pendahuluan perlu dilihat bagaimana gambaran ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan kaitannya dengan IL-6.

1.3 Pertanyaan Penelitian

Apakah terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan berkaitan dengan IL-6?

1.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan berkaitan dengan IL-6.

1.5 Tujuan Penelitian

1.5.1 Tujuan Umum

Menganalisis ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan kaitannya dengan IL-6.

1.5.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis gambaran *clinicopathology* (umur, jenis kelamin, histologi dan pengobatan) pada pasien kanker paru
2. Menganalisis perbedaan kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 \geq 12,5 pg/mL pada pasien kanker paru
3. Menganalisis ekspresi myomiR-206 antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru.
4. Menganalisis hubungan myomiR-206 dengan IL-6 pada pasien kanker paru

1.6 Manfaat Penelitian

1.6.1 Manfaat Pendidikan

Jika terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan berkaitan dengan IL-6, maka dapat digunakan sebagai tambahan referensi ilmu dalam pendidikan

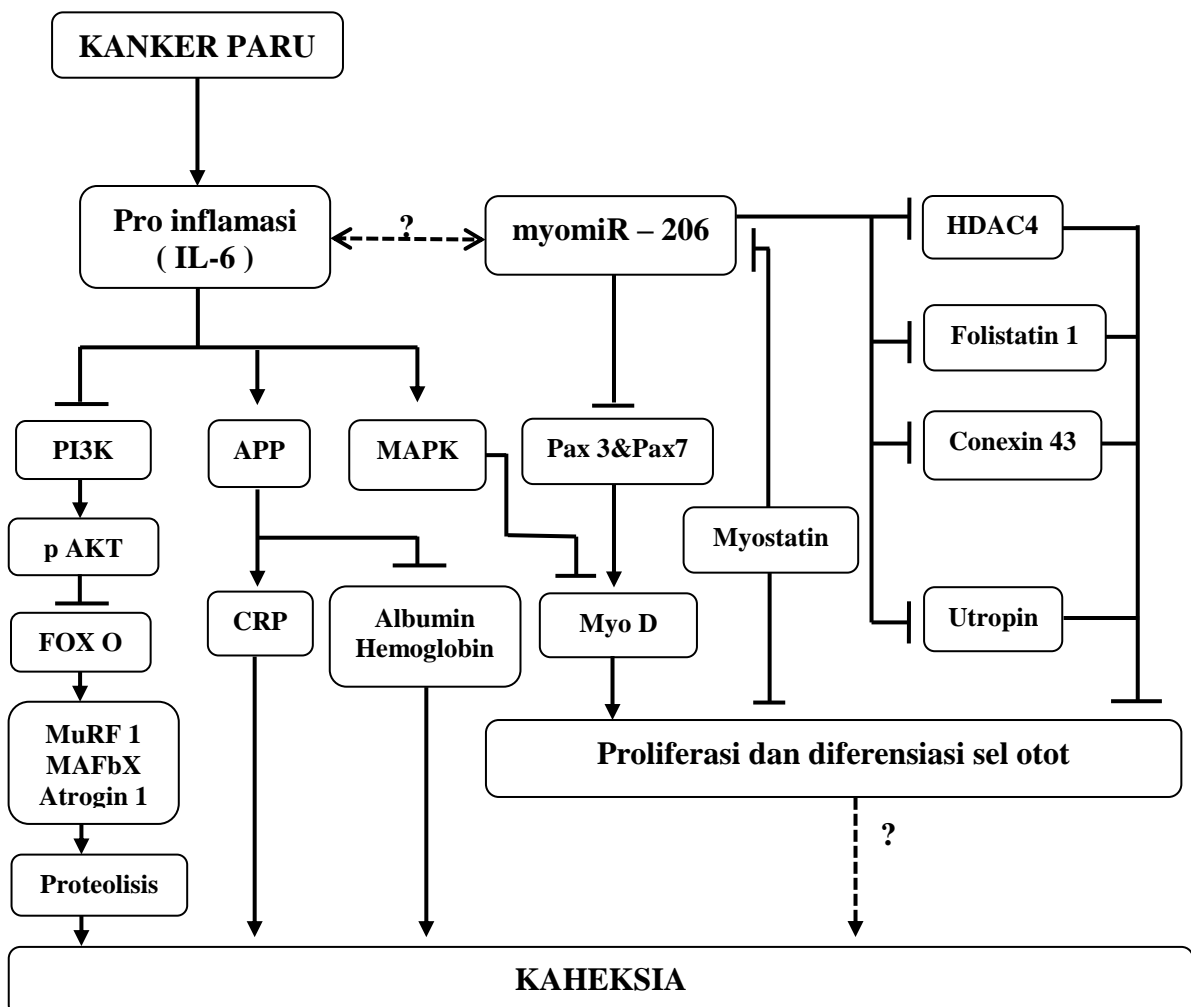
1.6.2 Manfaat Penelitian

Jika terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan berkaitan dengan IL-6, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut diantaranya pemeriksaan myomiR-206 melalui urin atau air liur agar memudahkan pemeriksaan.

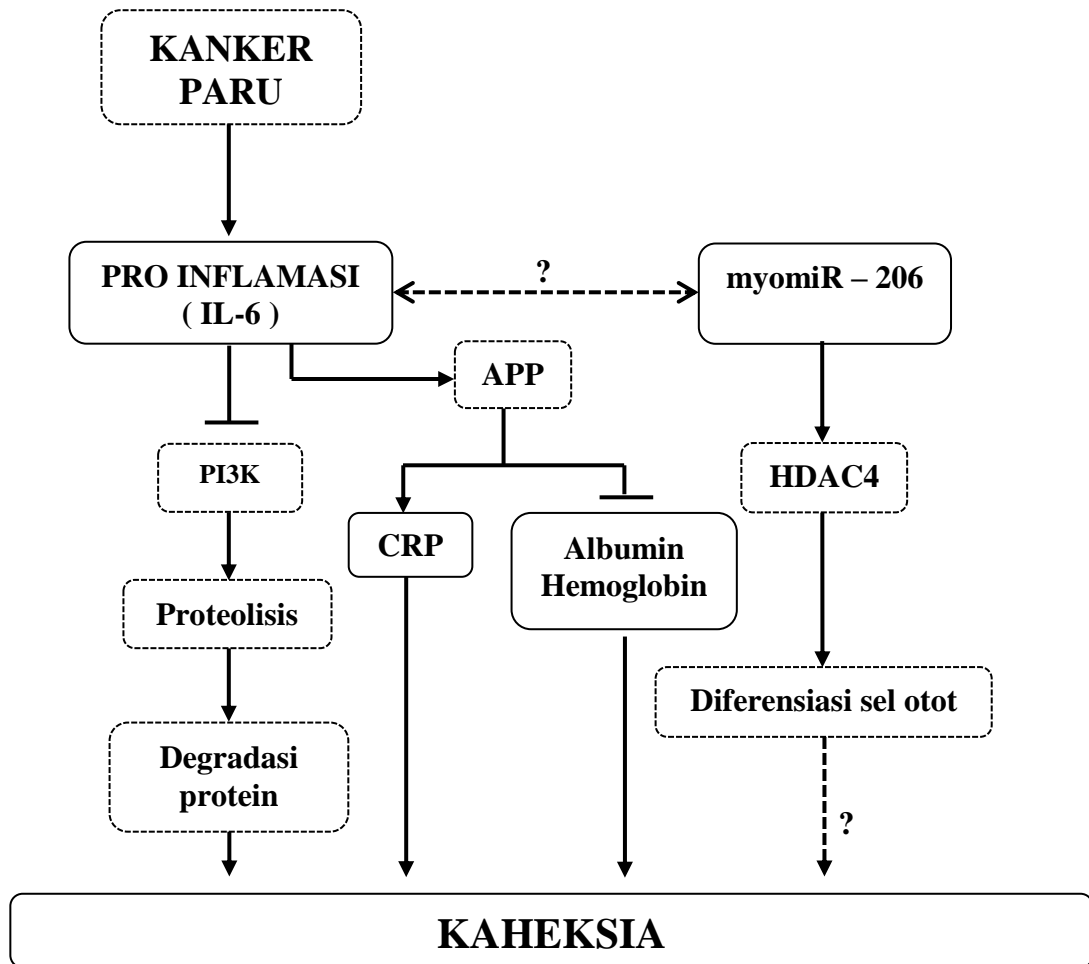
1.6.3 Manfaat Pelayanan

Jika terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 pada pasien kanker paru yang mengalami kaheksia dan berkaitan dengan IL-6, maka dapat digunakan untuk penanganan kaheksia yang lebih paripurna dan prognosisnya

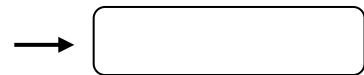
1.7 Kerangka Teori



1.8 Kerangka Konsep



Diperiksa →



Tidak diperiksa →



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kaheksia

Kaheksia berasal dari bahasa Yunani yaitu kakos dan hexis yang mempunyai makna kondisi buruk. Kaheksia merupakan sindrom metabolik kompleks yang berhubungan dengan penyakit yang ditandai dengan berkurangnya massa otot dengan atau tanpa berkurangnya massa lemak. Kaheksia merupakan kondisi patologi dari banyak penyakit diantaranya kanker, COPD, sepsis dan gagal jantung. Namun dari sejumlah penyakit ternyata kanker mempunyai tingkat yang tinggi untuk terjadinya kaheksia yaitu 90% dari populasi penderita kanker, meskipun kanker memiliki jumlah angka kesakitan yang lebih rendah dibanding dengan COPD dan HF. Angka kematian akibat kaheksia pada kanker berkisar 20–60% dari jumlah penderita kaheksia pada tahun pertama. Hal ini menunjukkan bahwa kanker penyebab terbesar yang menyebabkan kaheksia dengan tingkat mortalitas yang tinggi.^{3,18}

Kaheksia pada kanker menyebabkan manifestasi klinis berupa anoreksia, kelelahan, penurunan berat badan akibat berkurangnya lemak dan otot. Selain kondisi klinis pemeriksaan laboratorium menunjukkan penurunan albumin dan hemoglobin namun terjadi peningkatan pada IL-1 (*Inter Leukin 1*), IL-6, TNF α .¹⁹

Terdapat 3 tingkatan kaheksia yaitu pre kaheksia (penurunan berat badan < 10 % tetapi belum menimbulkan komplikasi yang serius), kaheksia (terjadi penurunan berat badan yang progresif namun masih potensial untuk diobati), kaheksia refraktori (kaheksia yang tidak berespon lagi dengan pengobatan). Timbulnya kaheksia bersifat multifaktor namun salah satunya peran mikro environment yang dapat menyebabkan terjadinya lipolisis dan proteolisis.²⁰

2.2 Kaheksia pada Kanker Paru

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Kanker paru merupakan kanker yang paling banyak dijumpai sebagai salah satu penyebab kematian. Berdasarkan data *American Cancer Society 2015* menunjukkan bahwa angka kematian akibat kanker paru cukup tinggi yaitu 162.460 kasus kematian dari 240.390 kasus kanker paru. Kanker paru paling sering ditemukan pada laki-laki dewasa dengan usia lebih dari 40 tahun. Lebih dari 80% berhubungan dengan merokok, baik aktif maupun pasif.

Kanker paru adalah penyakit keganasan berasal dari sel epitel saluran napas bagian bawah, atau penyebaran tumor dari organ lain (metastasis). Secara garis besar kanker paru terbagi menjadi 2 yaitu *small cell* (13%) or *non-small cell* (83%).¹ Keluhan dan gejala penyakit ini tidak spesifik, seperti batuk darah, sesak napas, sakit dada, berat badan menurun, nafsu makan hilang dan gejala lain yang juga dapat dijumpai pada jenis penyakit paru lain. Penemuan dini penyakit ini berdasarkan keluhan saja jarang terjadi, biasanya keluhan yang ringan terjadi pada mereka yang telah memasuki stadium II dan III. Di Indonesia kasus kanker paru terdiagnosis ketika penyakit telah berada pada stadium lanjut.²¹

2.3 Inflamasi pada Kanker

Sampai saat ini kanker begitu sulit untuk disembuhkan, begitu banyak hipotesis atau teori tentang terjadinya kanker diantaranya kanker disebabkan karena virus, kelainan kromosom, mutasi somatik, mutasi multiple akumulasi, imunologi *surveillance*, luka yang tidak sembuh, mekanisme non mutagenik dan lainnya. Namun demikian secara umum dapat dikatakan bahwa kanker merupakan sel yang tumbuh secara progresif dan tidak terkontrol akibat mutasi pada gen yang mengontrol pertumbuhan dan differensiasi sel, dimana mutasi terjadi akibat terlepasnya kontrol dari sistem imun. Seperti diketahui bahwa penyebab timbulnya kanker diantaranya adalah akibat proses inflamasi yang berkelanjutan. Proses inflamasi melibatkan peran onkogen dan tumor supresor gen. Dimana onkogen akan teraktifasi pada tahap awal inflamasi sehingga terjadi pertumbuhan cepat dari sel sedangkan tumor supresor gen akan teraktifasi pada tahap akhir dari sebuah inflamasi. Pada sel kanker, onkogen secara terus menerus teraktifasi, sehingga terjadi pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Proses inflamasi yang terus menerus melibatkan molekul – molekul pro inflamasi seperti IL 1, IL 6, TNF α dan *growth factor*.²²

2.4 Mekanisme Kaheksia

Mekanisme terjadinya kaheksia pada kanker bersifat multifaktorial. Secara umum kaheksia melibatkan 3 komponen yaitu tumor/kanker, *host* dan *microenvironment*. Tumor dapat menyebabkan terjadinya lipolisis dan proteolysis melibatkan TDF (*Tumor Derivat Factor*) yaitu LMF (*Lipid Mobilizing Factor*) dan PIF (*Proteolysis Inducing Factor*). Selain itu tumor dapat menginvasi jaringan syaraf dan mengaktifasi astrosit sehingga menyebabkan lipolisis dan proteolisis. Sedangkan komponen *microenvironment* tumor seperti IL-1, IL-6, TNF α , IFN γ dapat menyebabkan lipolisis dan proteolisis melalui 2 jalur yaitu *peripheral pathway* dan *central mediated pathway*. *Peripheral pathway* melibatkan proses lipolisis,

degradasi protein dan insulin resisten, *central mediated pathway* melibatkan peran hipotalamus dengan mekanisme terjadinya anoreksia dan katabolisme. *Host* sendiri dapat menyebabkan kaheksia karena faktor mekanik diantaranya disfagia, mual, muntah, nyeri dan susah buang air besar.⁶ Lihat gambar 2.1

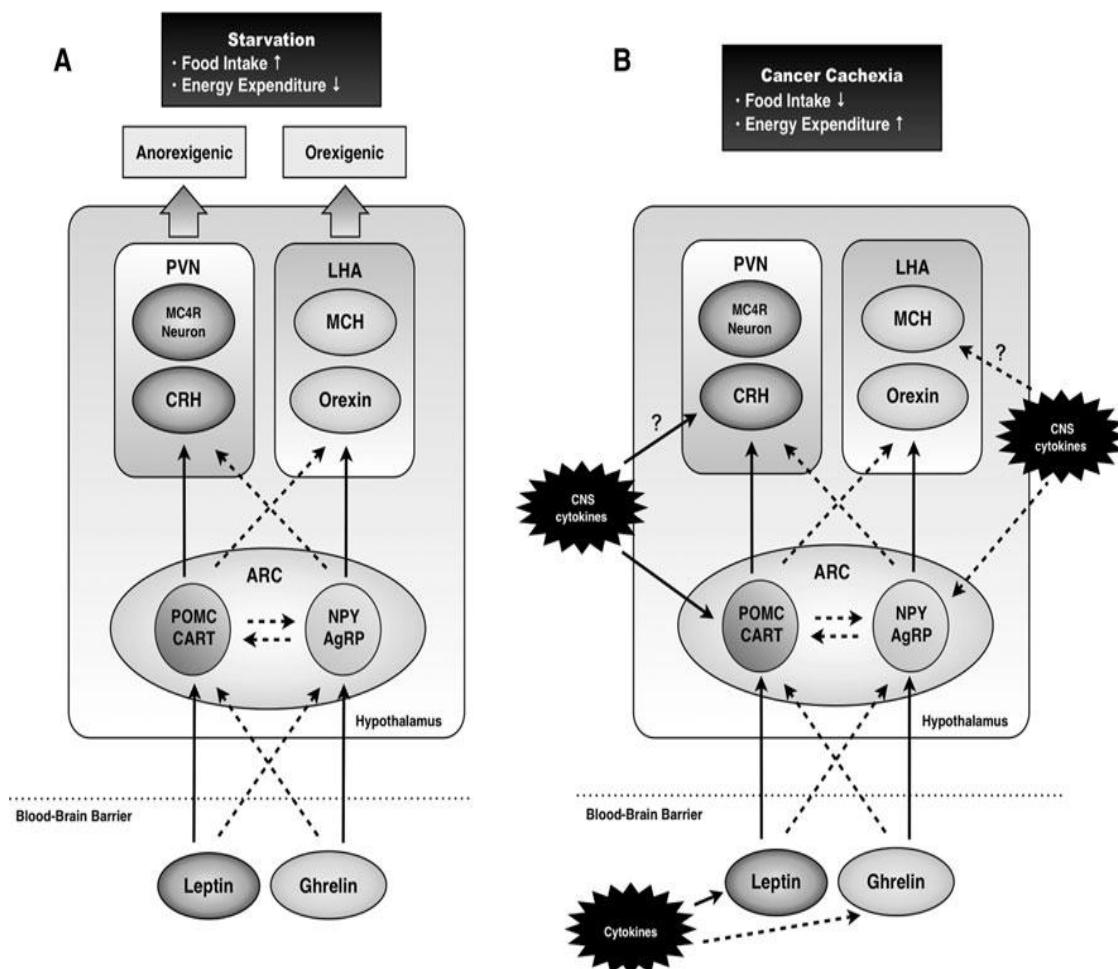


Gambar 2.1 Mekanisme kanker kaheksia⁶

2.4.1 Central Mediated Pathway

Central mediated pathway merupakan proses terjadinya kaheksia yang melibatkan susunan syaraf pusat yaitu hipotalamus melalui hormon dan mediator. Seperti diketahui bahwa regulasi kebutuhan makanan dan energi sangat dipengaruhi oleh integrasi hipotalamus

dengan sinyal luar pada status jaringan lemak, proses pencernaan dan kondisi metabolisme tubuh. Beberapa sinyal luar seperti *leptin* yang menghambat pengambilan energi dan *ghrelin* yang menstimulasi pengambilan energi sangat mempengaruhi dalam pengaturan kebutuhan akan energi. Di dalam hipotalamus, ARC (*Arcuate Nukleus*) yang menerima informasi dari luar dapat mengaktifasi atau menghambat POMC (*Pro Opio Melano Cortin*)/CART (*Cocaine and Amphetamine Related Transcript*) and NPY (*Neuro Peptide Y*) / AgRP (*Agouti Related Peptide*) neurons. Ketika kondisi kekurangan energy, *orexigenic* NPY/AgRP teraktifasi dan *anorexigenic* POMC/CART dihambat sehingga terjadi peningkatan energi. Ketika energi berlebih *orexigenic* NPY/AgRP dihambat dan *anorexigenic* POMC/CART teraktifasi. Pada kanker faktor–faktor kaheksia seperti sitokin memberikan efek pada keseimbangan energi, dimana sitokin berperan sebagai zat yang mirip sebagai *leptin* (*mimic leptin*) yang akan menekan sinyal *orexigenic* Ghrelin–NPY/AgRP dan mengaktifasi *anorexigenic* POMC/CART.⁷ Lihat gambar 2.2



Gambar 2.2 Mekanisme respon terhadap lapar (a) dan kanker kaheksia (b).⁷

2.4.2 Peripheral Pathway

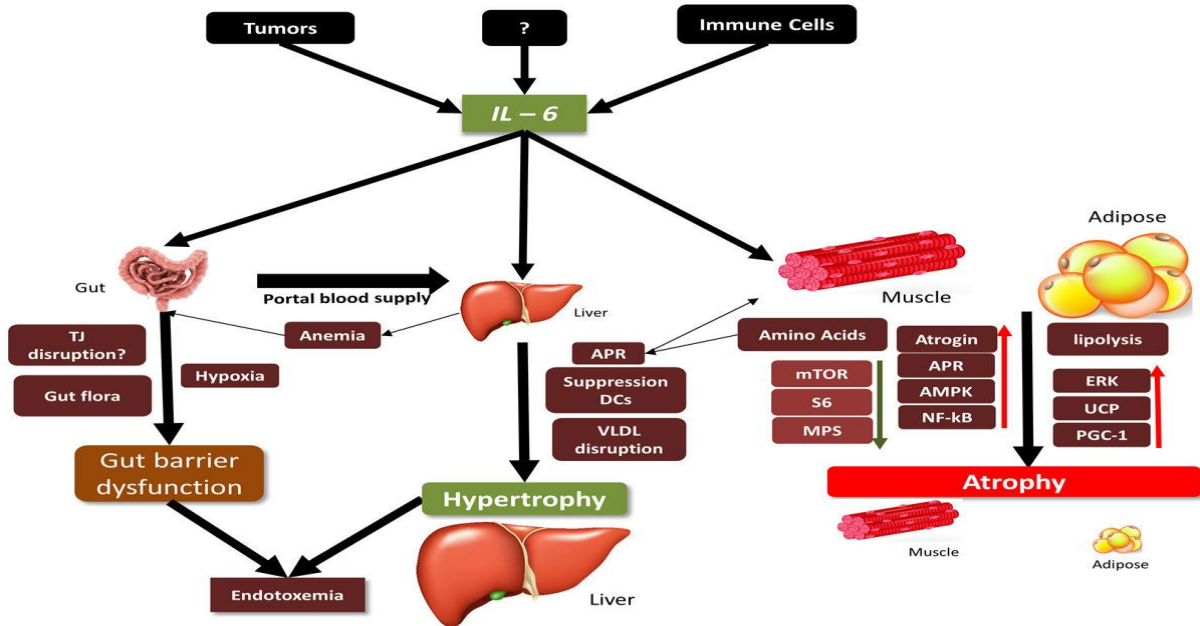
Peripheral pathway merupakan proses terjadinya kaheksia akibat lipolisis, degradasi protein dan insulin resisten dengan melibatkan komponen IL-1, IL-6, TNF α , miostatin dan IGF-1.

2.4.2.1 TNF α

Sitokin ini berperan pada proses lipolisis dan proteolisis. Pada proses lipolisis, sitokin ini menghambat proses diferensiasi dari sel adiposit sehingga mengganggu proses *lipogenesis*. Sedangkan pada proses proteolisis, sitokin ini dapat menyebabkan degradasi protein melalui aktivasi dari ROS (*Reaktif Oxygen Species*) dengan meningkatkan iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*) yang dapat menghambat proses myogenesis melalui jalur NF κ B (*Nucleus Factor κ B*). Selain itu sitokin ini dapat pula meningkatkan termogenesis dengan memobilisasi lemak dan protein. Secara umum sitokin yang terus menerus diproduksi dapat menyebabkan terjadinya kaheksia.²³

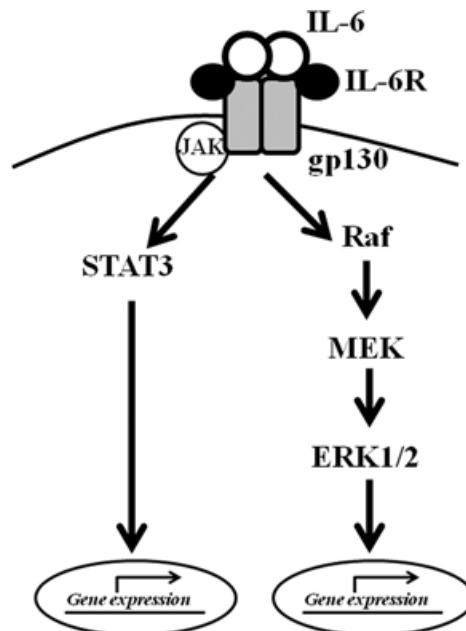
2.4.2.2 IL-6

IL-6 muncul sebagai sitokin yang terlibat dalam terjadinya kaheksia pada beberapa kanker, IL-6 memberikan implikasi pada beberapa target organ seperti otot, lemak, saluran pencernaan dan hati, yang kesemuanya dapat menyebabkan terjadinya proses terjadinya kaheksia yang meliputi atrofi otot, kehilangan lemak, hipoalbuminemia dan anemia. Hambatan IL-6 pada beberapa model tikus yang dibuat kanker menunjukkan hambatan terhadap terjadinya kaheksia.⁹ Lihat Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Efek IL-6 terhadap kejadian kaheksia⁹

IL-6 dihasilkan oleh beberapa sel diantaranya sel B, sel T, monosit, fibroblast, keratinosit, sel endotel, sel mesangial, sel lemak dan beberapa sel tumor. IL-6 dapat memberikan efek biologi melalui 2 molekul yaitu IL-6R (dikenal juga sebagai IL-6R α , gp 80 atau CD 26) dan gp 130 (dikenal juga sebagai IL-6R β atau CD130). Ikatan antara IL-6, IL-6R dan gp130 akan mengaktifkan jalur JAK/STAT dan jalur raf-MEK-ERK.⁸ Lihat gambar 2.4

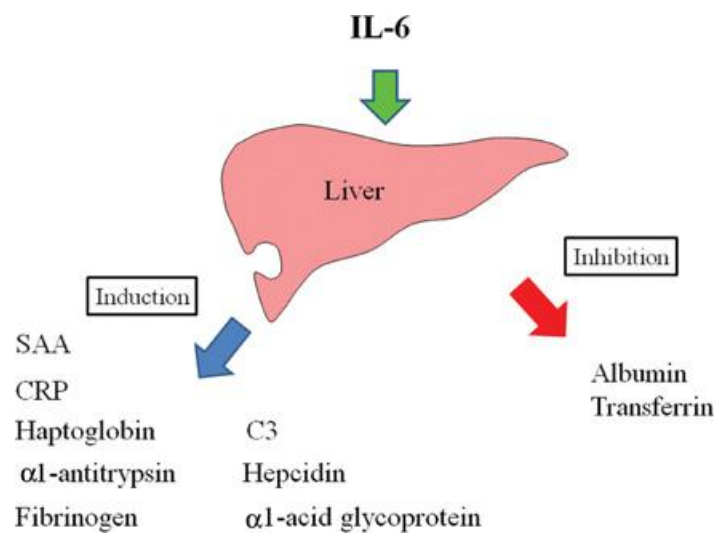


Gambar 2.4 Jalur sinyal IL-6.⁸

Peningkatan plasma IL-6 menunjukkan penurunan berat otot gastrocnemius pada tikus transgenic²⁴ dan terjadi atrofi pada otot C2C12, dimana IL-6 merupakan mediator dari

proses proteolysis dari otot melalui kedua jalur tersebut.²⁵ Penelitian lain menunjukkan level yang rendah dari IL-6 dapat meningkatkan aktivasi regenerasi sel satelit dan myotubes.²⁶

APR (*Acute Phase Response*) merupakan respon inflamasi yang berhubungan dengan infeksi, luka, keganasan dan factor lainnya. APR menyebabkan demam, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan produksi APP oleh hepatosit.^{8,27} pemberian IL-6 dapat meningkatkan acute phase protein seperti SAA (*Serum Amyloid A*), CRP, $\alpha 1$ AGP (*$\alpha 1$ Acid Glyco Protein*), $\alpha 1$ -antichymotrypsin, haptoglobin, $\alpha 1$ -antitrypsin, fibrinogen, complement component C3 and caeruloplasmin, dengan respon yang sangat cepat pada SAA dan CRP. Dan menurunkan APP, seperti albumin, transferrin, transthyretin dan *retinol-binding protein*.^{8,28} Lihat gambar 2.5



Gambar 2.5 APR oleh IL-6.⁸

2.4.2.3 Miostatin

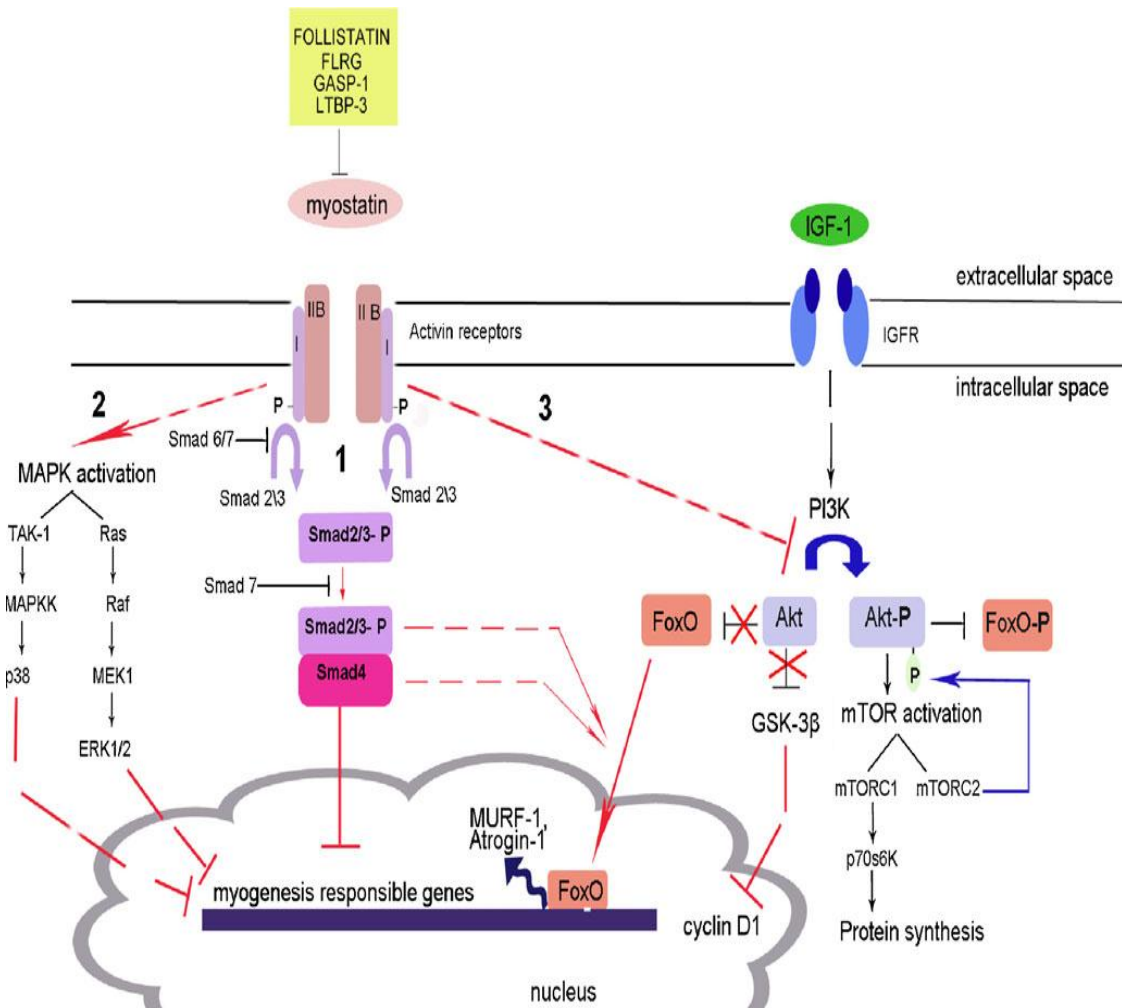
Miostatin diproduksi dan disekresi oleh sel otot, dikenal juga sebagai GDF 8 (*Growth Differentiation Factor 8*) yang merupakan kelompok TGF β (*Tumour Growth Factor β*). Miostatin merupakan sitokin ekstraseluler yang berikatan dengan *aktivin* reseptor yaitu ActRIIB (*Activin Receptor II B*) yang menghambat proses diferensiasi dan proliferasi dari mioblas. *Activin* reseptor merupakan transmembran *threonin/serin kinase* yang dibagi dalam 2 tipe yaitu ALK 4 (*Activin receptor Like Kinase 4*)/ALK 5 dan ActRII. Aktivasi miostatin melalui kedua kompleks reseptor ini.²⁹ Lihat gambar 2.6

Miostatin berikatan dengan ActRIIB dapat mengaktifasi Smad 2/3 menjadi Smad 2/3 yang terphosphorilasi untuk berikatan dengan Smad 4 yang akan menghambat gen transkripsi yang bertanggung jawab pada proses miogenesis. Selain itu ikatan miostatin dengan reseptor

dapat mengaktifasi jalur lain yaitu jalur MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase*), Ras–Raf–MEK 1–ERK ½ (*Extracellular Regulated Kinase*) yang akan menghambat proses miogenesis. Selain itu miostatin akan menghambat IGF–1 (*Insulin Growth Factor–1*) dengan menghambat proses fosforilasi dari Akt sehingga mengaktifkan FoxO (*Forkhead box O*) kemudian meningkatkan Atrogin 1 dan MuRF 1 yang berperan pada proses UPP (*Ubiquitin Proteasome Pathway*). Seperti diketahui bahwa fosforilasi Akt dapat mengaktifkan m TOR (*Mammalian Target Of Rapamycin*) yang berperan pada sintesis protein.²⁹ Lihat gambar 2.6

2.4.2.4 IGF–1 (Insulin Growth Factor–1)

IGF–1 merupakan salah satu positif regulator dari pertumbuhan otot. Pada insulin yang sensitif, ikatan insulin di reseptornya dapat meningkatkan aktifitas PI3K (*Phospho Inositide 3 Kinase*) sehingga Akt akan terfosforilasi. Akt yang terfosforilasi akan menghambat FoxO dan menurunkan transkripsi dari Atrogin 1 dan MuRF 1 (*Muscle Ring Finger 1*) dimana kedua protein tersebut berperan dalam E3 enzim (regulator UPP). Penurunan Atrogin dan MuRF 1 dapat menurunkan aktifitas proteolitik. Namun sebaliknya penurunan aktifitas PI3K dan Akt yang terfosforilasi oleh miostatin dapat meningkatkan proses proteolitik.³⁰ Lihat gambar 2.6



Gambar 2.6 Jalur sinyal miostatin dan IGF 1.²⁹

2.4.3 Tumor Derived Factors

Tumor derived factors merupakan salah satu komponen yang mempengaruhi terjadinya kaheksia pada kanker. Terdapat 2 komponen *Tumor derived factors* yang sering dipelajari yaitu LMF/ZAG (*Zinc α_2 Glycoprotein*) dan PIF.³¹

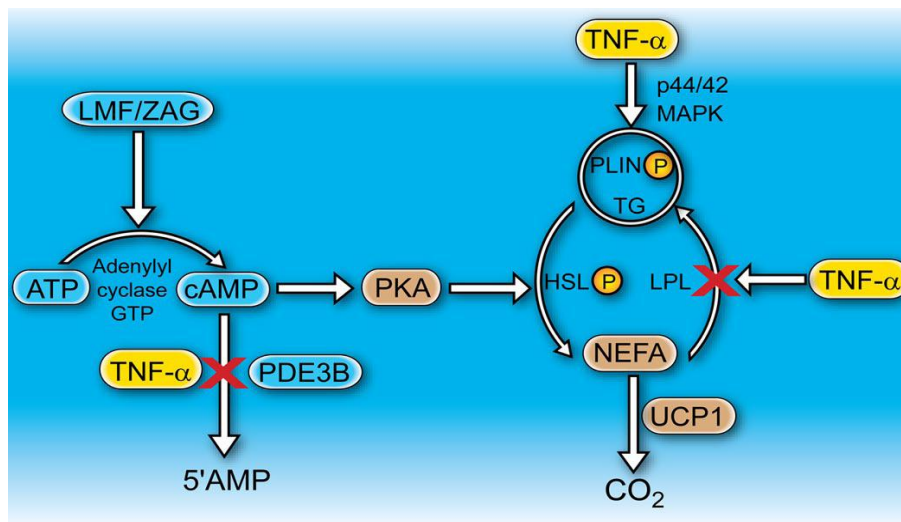
2.4.3.1 LMF (*Lipid Mobilizing Factor*) dan ZAG (*Zinc α_2 Glycoprotein*)

LMF merupakan molekul dengan massa 70–75 kDa, yang bersifat asam dan merupakan hasil konversi tripsin menjadi material dengan berat molekul rendah. LMF resisten terhadap degradasi enzim proteolitik. Beberapa tumor memproduksi LMF yang dapat menyebabkan berkurangnya lemak pada kaheksia.

ZAG merupakan molekul dengan massa 43 kDa, merupakan sequens dari asam amino yang bersifat immunoreaktif. Asam lemak di simpan dalam jaringan lemak dalam bentuk

TAG (*Triacylglycerols*). Enzim LPL (*Lipo Protein Lipase*) menghidrolisis asam lemak dari plasma lipoprotein dan ditransport ke jaringan lemak untuk disintesis menjadi TAG. Lipolisis dimediasi oleh hormon seperti epinephrin, glukagon dan ACTH (*Adreno Cortico Tropic Hormone*) melalui mekanisme cAMP (*Adenyl Mono Phosphate*). LMF dan ZAG menginduksi proses lipolisis oleh mekanisme cAMP melalui stimulasi adenyl cyclase pada proses GTP yang mengubah ATP menjadi cAMP. cAMP akan mengaktifasi PKA (*protein kinase*) untuk mengubah satu molekul TAG menjadi tiga molekul NEFA (*Non Esterified Fatty Acid*) oleh HSL (*Hormon Sensitive Lipase*) yang terfosforilasi. PKA juga memfosforilasi PLIN (*Perilipin*) yang dapat merubah susunan lemak, sehingga memudahkan HSL untuk proses hidrolisis TAG.³¹

Pada kasus kaheksia peran TNF α dalam proses lipolisis membutuhkan aktivasi MAPK p44/42 dan JNK (*c Jun NH2 terminal Kinase*). Selain itu cAMP ditingkatkan dengan menghambat PDE3B (*Phospho Di Ester 3B*). TNF α juga dapat menurunkan kadar LPL sehingga terjadi hambatan dalam pembentukan TAG.³¹ Lihat gambar 2.7



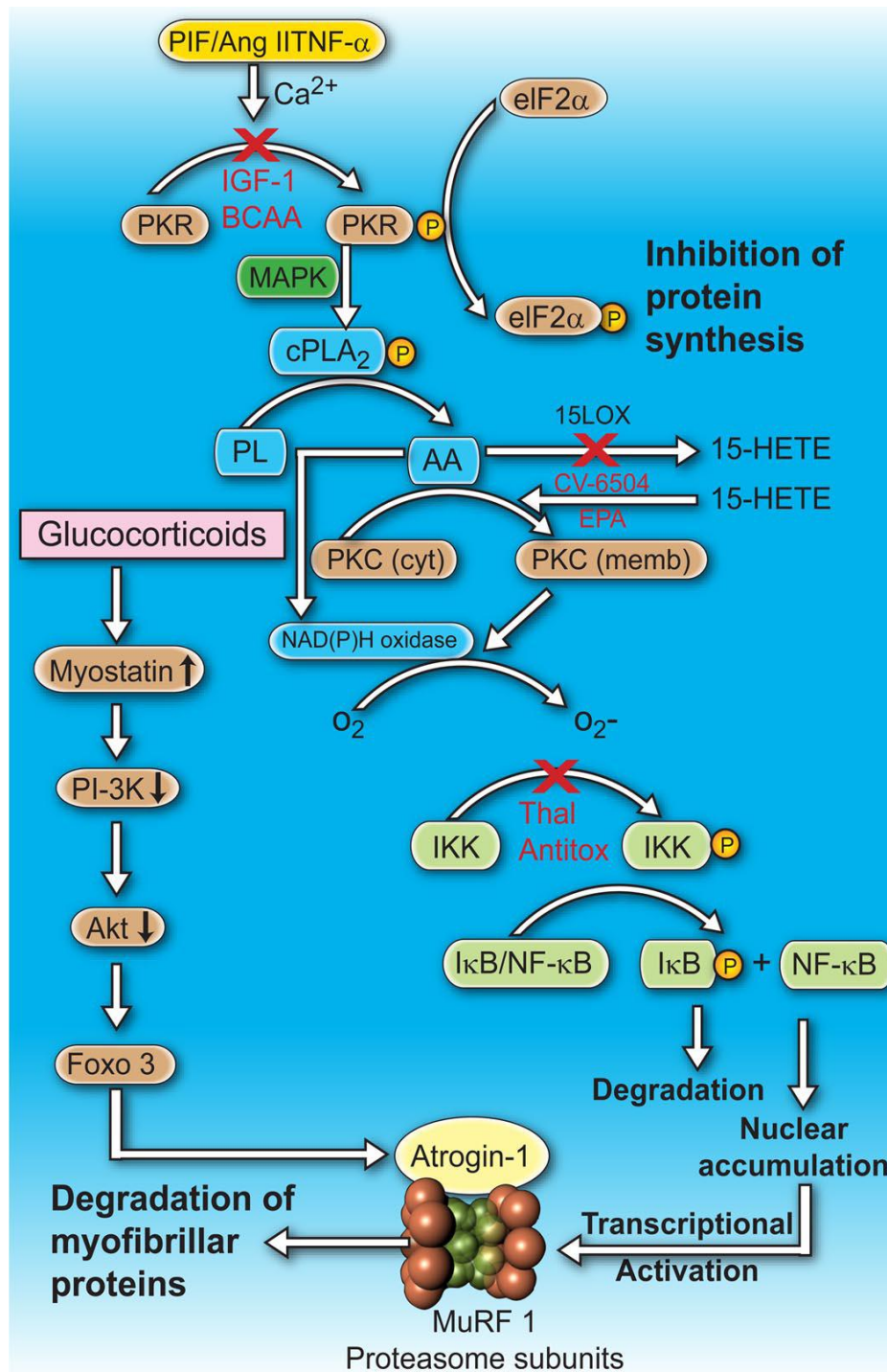
Gambar 2.7 Mekanisme kontrol dari TAG /TG dari LMF, ZAG dan TNF α .³¹

2.4.3.2. PIF (*Proteolysis Inducing Factor*)

PIF merupakan molekul glikoprotein dengan massa 24 kDa. PIF menghambat sintesis protein dan meningkatkan degradasi protein miotub yang memiliki efek yang sama dengan TNF α dan IFN γ . Proses degradasi protein oleh PIF melalui peningkatan komponen dari UPP (*Ubiquitin Proteosome Pathway*) pada miotub melalui aktivasi peningkatan faktor transkripsi NF κ B. NF κ B akan menghasilkan Atrogin 1 dan MuRF1 sehingga menyebabkan degradasi protein oleh proteosom. Aktivasi NF κ B dipengaruhi oleh aktivasi IKK β (*Inhibitor*

κB Kinase). IKK dipengaruhi oleh peningkatan ROS yang akan mendegradasi I κ B. PIF mengaktifasi ROS melalui aktifasi NADPH (*Nikotinamide Adenin Dinukleotida Phosphate*) oksidase (NOX) oleh AA (*Asam Arachidonic*). AA dibentuk oleh katalisasi cPLA₂ (*Phospolipase A₂*) dari membran PL (*Phospolipid*)³¹ Lihat gambar 2.8

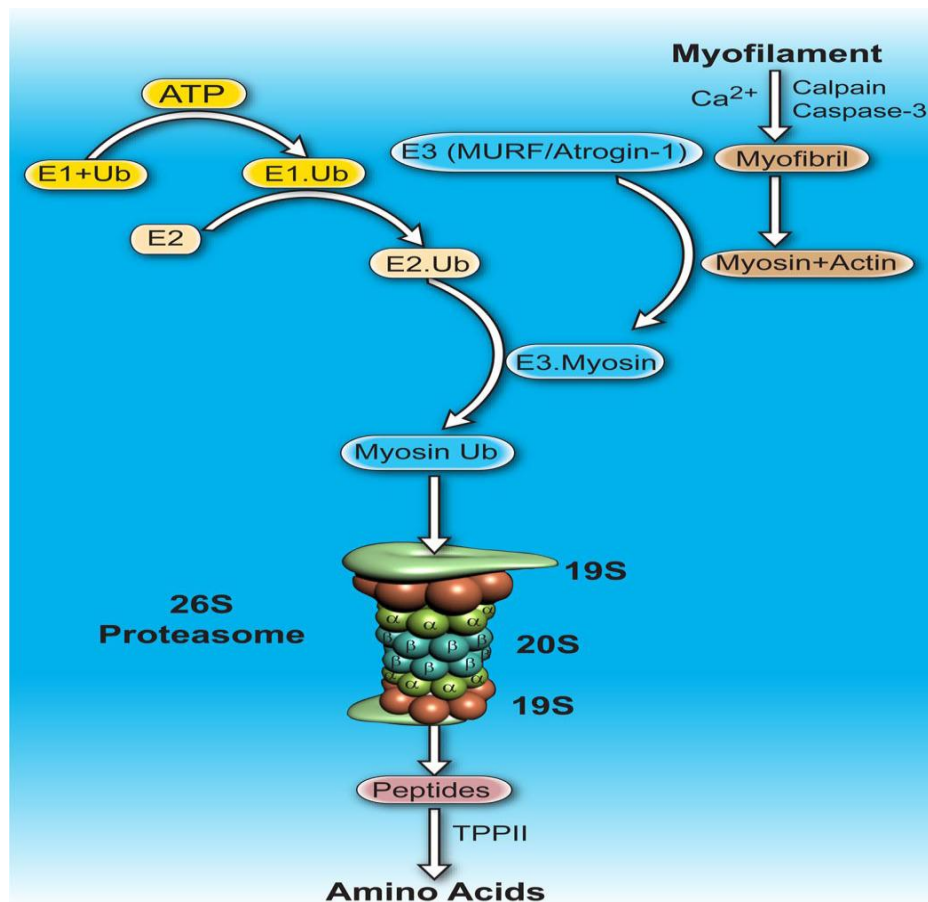
NADPH sangat di pengaruhi oleh aktivasi dari PKC (*Protein Kinase C*) karena dapat meningkatkan AA. Aktifasi PKC dapat meningkatkan AA setelah dikonversi menjadi 15 HETE (*Hydroxy Eicosate Tetra Enoic acid*) oleh 15 LOX (*Lipo Oxygenase*). Hambatan pada 15 LOX dapat mencegah atrofi otot. Seperti diketahui bahwa PIF menyebabkan PKR (*Protein Kinase RNA dependent*) terfosforilasi, kemudian fosforilasi PKR akan menyebabkan eIF2 α (*Eukariotic Initiation Factor 2 α*) terfosforilasi sehingga terjadi hambatan pada proses sintesis protein. Fosforilasi PKR juga dapat menyebabkan cPLA₂ terfosforilasi dengan bantuan MAPK yang akan mengkatalisasi AA dari membran PL.³¹ Lihat gambar 2.8



Gambar 2.8 Jalur induksi ubiquitin–proteosom.³¹

Proses degradasi protein melibatkan proses ubiquitinisasi dimana MuRF 1 dan Atrogin berperan sebagai E3 yang akan berinteraksi dengan miosin sehingga terbentuk kompleks E3. Miosin. Kemudian melalui E2.Ub, E3.Miosin menjadi Miosin.Ub sehingga

mengaktifkan proteosom untuk dipecah menjadi peptida dan oleh enzim TPPII (*Tri Peptide Peptidase II*) dipecah menjadi asam amino.³¹ Lihat gambar 2.9



Gambar 2.9 Mekanisme katabolisme miofilamen pada otot.³¹

2.5 MikroRNA (miRNA)

Berkembangnya pengetahuan di bidang teknologi biomolekuler pada dekade terakhir memberikan dampak yang signifikan terhadap pemahaman kita mengenai pengaturan gen pada perkembangan sel normal maupun pada berbagai penyakit, termasuk kanker. Telah diketahui bahwa sel manusia normal mengekspresikan RNA (mRNA) yang merupakan cetakan bagi translasi gen menjadi protein. Berbagai penelitian membuktikan bahwa sel normal, di samping mengekspresikan RNA (mRNA) yang menyandi seperti disebut di atas, juga mengekspresikan beribu-ribu molekul RNA fungsional yang tidak menyandi (*non-coding* RNA). RNA *non-coding* ini disebut sebagai mikroRNA atau miRNA yang ditranskripsikan dari sekuen RNA dan terbukti mempunyai fungsi regulasi dalam sel normal.^{32,33}

MiRNA memiliki peran biologis untuk mengatur berbagai proses penting dalam pertumbuhan, diferensiasi, apoptosis, proliferasi, penuaan dan proses seluler lain.^{34,35} Oleh karena itu, diduga memegang peran pada mekanisme terjadinya kanker. Dari berbagai penelitian, terbukti bahwa ekspresi abnormal miRNA dapat mempromosikan tumorigenesis, metastasis, dan berbagai sifat kanker yang lain. miRNA dapat berperan sebagai *oncogenes* atau *tumor suppressor genes*. Dengan diketahuinya ekspresi miRNA pada kanker diharapkan dapat dijadikan salah satu bagian dari diagnostik dan biomarker prognostik dalam pengobatan kanker.³⁶ Penelitian bioinformatika dan *microarray* mengungkapkan bahwa satu miRNA tunggal dapat berikatan dengan 200 gen sasaran, dan bahwa gen sasaran ini dapat berupa faktor transkripsi, reseptor, faktor yang disekresikan maupun transporter. Diduga bahwa miRNA mengontrol ekspresi sekitar sepertiga dari seluruh mRNA manusia.^{32,33}

Salah satu peranan miRNA yaitu berperan penting dalam *myogenesis*. Ekspresi dari miRNA pada otot dikenal dengan sebutan *myomiRs* yang berasal dari singkatan *myo* (otot) dan *miR* (miRNA) yang artinya miRNA dalam otot. Sampai saat ini, keluarga dari *myomiRs* yang telah ditemukan adalah miRNA-1, miRNA-133a, miRNA-133b, miRNA-206, miRNA-208, miRNA-208b, miRNA-486, dan miRNA-499. Saat ini yang sering dipelajari pada differensiasi otot adalah *myomiR-1*, *myomiR-133*, *myomiR-206*.³⁵

Studi telah menunjukkan miRNA pada jaringan otot berkaitan dengan atrofi otot akibat kanker.³⁷ *myomiR-1* dan *myomiR-206* berkaitan dengan proses differensiasi dan regenerasi otot.^{14, 38} Sehingga adanya ekspresi miRNA yang berlebihan pada jaringan otot dapat mengubah metabolisme didalamnya.

2.5.1 Biogenesis MikroRNA

Pada tahun 1993 sebuah transkrip RNA *non-coding* tersusun atas 22 nukleotida pertama kali ditemukan pada penelitian Lee saat melakukan sekuen gen *lin-4*. Pada penelitian itu diketahui bahwa gen tersebut terlibat dalam menentukan waktu dan progresi siklus hidup nematoda *Caenorhabditis elegans* serta perkembangan larva. Eksperimen Lee ini mengungkapkan bahwa *lin-4* tidak menyandi protein, tetapi memproduksi sepasang RNA kecil yang mengatur translasi *lin-14*. Istilah *micro inhibitory RNAs* (miRNA) dikemukakan pada 2001, dan pada tahun itu pula miRNA diidentifikasi pada tahapan awal embriogenesis dan di-klon pada berbagai spesies, termasuk mamalia.³⁷

miRNA merupakan keluarga RNA yang tidak menyandi (*non-coding* RNA) yang tersusun atas 19–24 nukleotida yang menghambat translasi mRNA dan meningkatkan degradasi mRNA, hasilnya akan menurunkan tingkat ekspresi protein. miRNA secara khusus

mengikatkan diri pada regio 3' dari mRNA yang tidak diterjemahkan (*untranslated region*) dan menyebabkan represi dan atau degradasi paska transkripsi mRNA bersangkutan dalam sel yang berproliferasi. Jadi, singkatnya miRNA terlibat dalam tingkat paska transkripsi dengan mendegradasikan translasi mRNA sasaran yang berakibat modifikasi ekspresi gen. miRNA terletak dalam intron maupun ekson dari gen penyandi protein (70%) atau di daerah intergenik (30%).^{35, 37, 38}

miRNA dibentuk dari miRNA primer (sering juga disebut pri-miRNA) yang ditranskripsikan oleh RNA Pol II (polymerase II) dengan ekor 5' cap dan poly-A. Pri-miRNA dipecah oleh enzim ribonuklease III Drosha dan protein pengikat DNA untai ganda (double stranded DNA) Pasha/DCGR8 menjadi struktur pre-miRNA berbentuk seperti jepit rambut (*hair-pin loop*) yang besarnya 70–100 nukleotida, kemudian diekspor ke sitoplasma oleh exportin 5/Ran GTP. Selanjutnya, Dicer (*enzim ribonuklease III*) memproses pre-miRNA menjadi dupleks miRNA yang besarnya 19–24 nukleotida. Dicer juga mengawali pembentukan RISC (*RNA Induced Silencing Complex*) yang bertanggung jawab atas terjadinya gene silencing dengan cara mengikat dupleks miRNA. miRNA dapat ditranskripsikan sebagai unit tunggal atau sebagai cluster. miRNA yang ditranskripsikan sebagai cluster disebut sebagai “*polycistronic miRNA*”.^{32,39} Lihat gambar 2.10

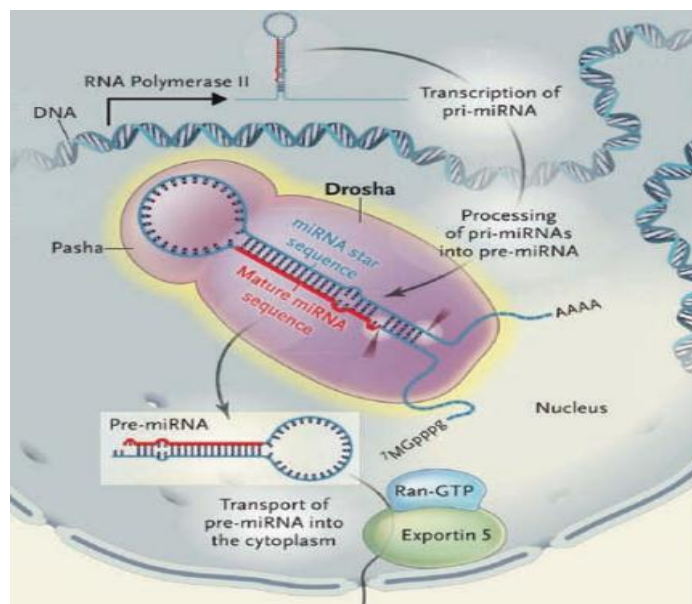
Dicer bersama-sama dengan partnernya Loqs-TRBP melaksanakan pemotongan kedua pada pre-miRNA untuk menghasilkan dupleks miRNA matang (*mature miRNA*). Dupleks ini kemudian masuk ke dalam kompleks protein ketiga yang disebut RISC, yang menghasilkan dan mengarahkan miRNA matang ke sasarannya. MiRNA matang kemudian berikatan pada regio 3'UTR dan regio penyandi mRNA sasaran.¹⁴

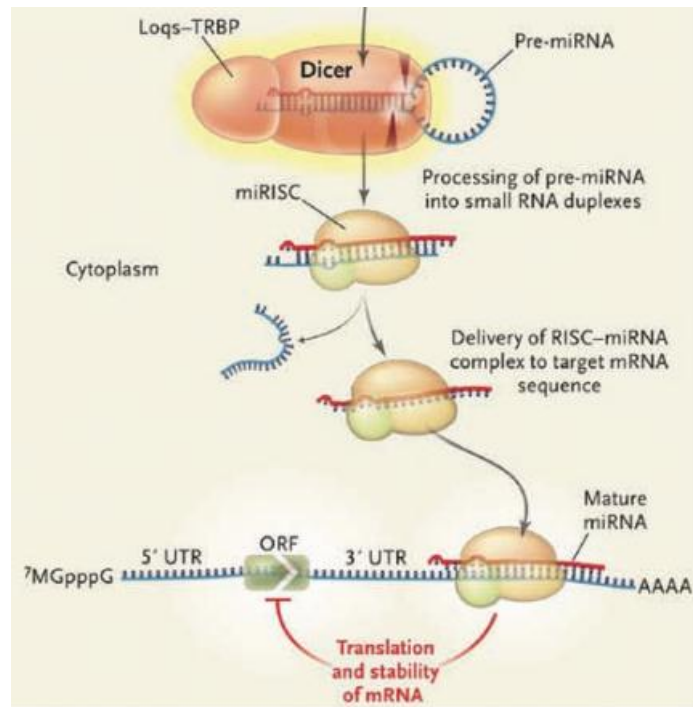
miRNA mengenali sasarannya berdasarkan sekuen komplementer. Sebagian miRNA matang komplementer dengan satu atau lebih mRNA. Pada manusia, situs komplementer ini biasanya terletak pada regio 3' mRNA sasaran yang tidak diterjemahkan. Supaya menjadi efektif, miRNA matang membentuk kompleks dengan RISC. miRNA yang terinkorporasi dalam *silencing complex* tersebut dapat berikatan dengan mRNA sasaran melalui pasangan basa (*base pairing*). *Base pairing* ini selanjutnya menyebabkan inhibisi translasi protein dan atau degradasi mRNA. Konsekuensinya adalah kadar protein gen sasaran berkurang, tetapi di lain pihak kadar mRNA sendiri dapat berkurang atau tidak.⁴⁰

Jadi, miRNA tidak membutuhkan komplementaritas yang sempurna pada regio targetnya dan penentu utama dari spesifikasi pengikatan pada sasaran komplementer mRNA ditentukan oleh Watson-Crick *base-pairing* dari nukleotida 2–8 pada ujung 5' *seed region*-nya, yang diistilahkan sebagai “*seed sequence*”. Sehingga dapat dikatakan satu miRNA dapat

meregulasi ratusan mRNA dan beberapa miRNA dapat meregulasi sebuah mRNA. Umumnya gen yang menjadi target miRNA sebagian besar merupakan pasangan basa dalam untaian (*sequence*) kecil. Untaian ini terdiri atas 6 nukleotida pada ujung 5' miRNA yang sekuennya cocok atau merupakan sekuen komplementer (*matching sequences, sequence complementarity*) dari mRNA spesifik.⁴⁰

MiRNA dapat ditemukan secara stabil di dalam cairan tubuh diantaranya air liur, urin, air susu dan darah. miRNA bisa stabil didalam cairan tubuh karena terbungkus kedalam *exosomes* atau *microvesicles*. Selain itu miRNA dapat terikat dengan HDL atau terikat dengan protein AGO. Hal ini yang menyebabkan miRNA tidak terdegradasi dan stabil dalam cairan tubuh.¹⁵





Gambar 2.10 Jalur Biogenesis mikroRNA³²

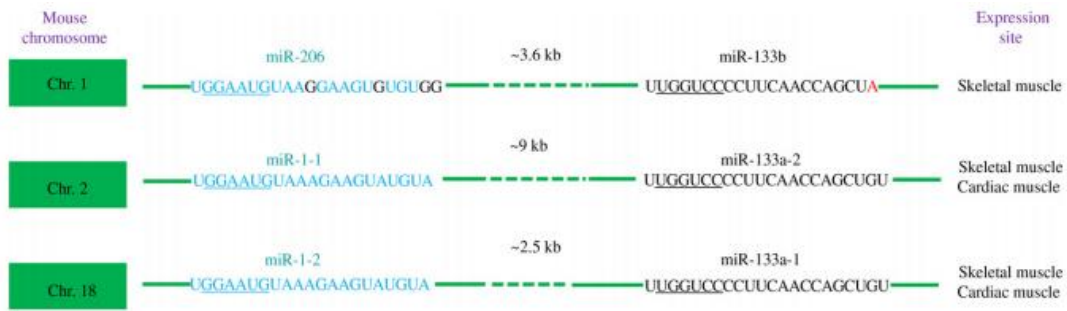
2.5.2 Fungsi MikroRNA

MiRNA diketahui memiliki peranan signifikan dalam regulasi berbagai proses selular, biologis dan patologis termasuk diferensiasi, progresi, apoptosis, dan proliferasi sel kanker. Molekul miRNA berperan pula pada translasi dan stabilitas dari mRNA termasuk gen-gen yang memediasi proses pada karsinogenesis, termasuk respon imun, metabolisme, inflamasi, kontrol siklus sel, replikasi virus, diferensiasi sel punca, dan perkembangan pada manusia.⁴¹

42

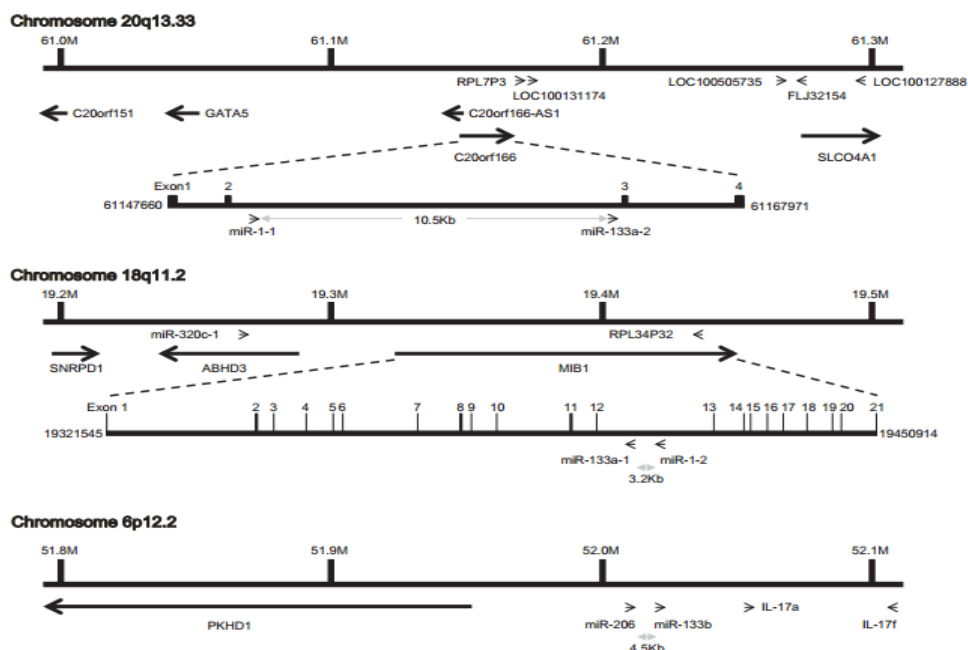
2.5.3 Keluarga MiRNA Spesifik terhadap Otot

MyomiRs bertanggung jawab terhadap perubahan metabolisme pada jaringan otot rangka. Pada umumnya *myomiRs* menargetkan gen otot yang terkait. *MyomiRs* memiliki 3 pasangan miRNA, masing-masing pasangan berada dalam 1 kromosom yang sama. Ketiga pasangan *myomiRs* adalah miRNA-1-1/133a-2, miRNA-1-2/133a-1, dan miRNA-206/133b. *MyomiRs* diterjemahkan menjadi transkripsi bicistronik pada kromosom - kromosom yang berbeda, telah memperlihatkan berbagai peranan dalam mengendalikan diferensiasi otot. Transkripsi bicistronik merupakan transkripsi yang memiliki atau melibatkan 2 cistron (unit materi hereditas dari molekul DNA atau RNA yang mengkode satu polipeptida tertentu).³⁸ Lihat gambar 2.11



Gambar 2.11 Sekuen, situs ekspresi dan lokasi dari MyomiRs pada tiga kromosom yang berbeda³⁸

Tiga kluster gen bicistronik yang mengkode 2 grup miRNA identik yang terdiri dari 6 anggota dan berlokasi pada tiga regio genom berbeda pada hewan coba tikus. Kluster I myomiR berlokasi pada regio kromosom 1 terdiri dari myomiR–206 dan myomiR–133b yang terekspresi pada daerah otot rangka, sedangkan kluster II dan III terdiri dari miR–1–1 dengan myomiR–133a–2 dan myomiR–1–2 dengan myomiR–133a–1 yang berlokasi pada kromosom 2 dan kromosom 18 yang terekspresi pada daerah otot rangka dan juga terekspresi pada daerah otot jantung. Selain genom dari tikus, genom dari manusia juga terdapat tiga kluster gen bicistronik yang mengkode 2 grup miRNA identic. Pada genom manusia terdiri dari 3 kluster, kluster I myomiR–206/133b terletak pada kromosom 6 pada daerah intergenik. Sedangkan kluster II dan III terdiri dari myomiR–1–1/133a–2 dan myomiR–1–2/133a–1 terletak pada kromosom 20 daerah intron gen C20orf166 dan kromosom 18 daerah intron gen MIB1.^{14,35} Lihat gambar 2.12

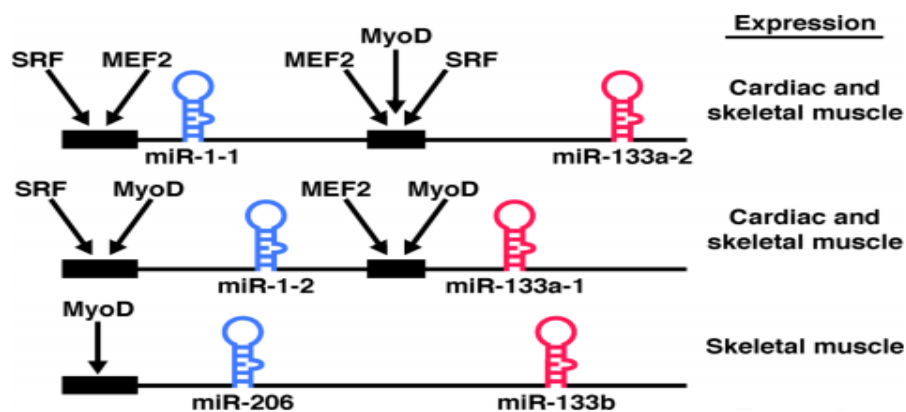


Gambar 2.12 Struktur kluster gen myomiRs pada genom manusia³⁵

Selain itu, keluarga *myomiRs* juga dapat dibagi menjadi dua grup yang memiliki kesamaan pada *seed sequences*. MyomiR-206, myomiR-1-1 dan myomiR-1-2 memiliki *seed sequences* yang sama sedangkan grup kedua yang memiliki *seed sequences* yang sama terdiri dari myomiR-133b, myomiR-133a-1 dan myomiR-133a-2. MyomiR-1-1 dan myomiR-1-2 bersifat identik dan berbeda dari myomiR-206 pada 4 nukleus, dan myomiR-133a-1 dan myomiR-133a-2 bersifat identik dan berbeda dari myomiR-133b pada 2 nukleus.¹⁴

Kedua grup myomiR memiliki kesamaan yaitu terdiri atas 6 nukleotida pada ujung 5' miRNA yang sekuennya cocok atau merupakan sekuen komplementer, akan tetapi juga memiliki perbedaan pada *seed sequences*. Pada grup pertama (myomiR-206, myomiR-1-1 dan myomiR-1-2) memiliki *seed sequences* GGAAUG sedangkan grup kedua (myomiR-133b, myomiR-133a-1 dan myomiR-133a-2) memiliki *seed sequences* UGGUCC. Kedua grup tersebut hanya memiliki kesamaan pada nukleotida urutan ke 2.^{14,38}

Transkripsi spesifik dari myomiR-1-1/133a-2 dan myomiR-1-2/133a-1 pada otot jantung dan rangka pada hewan bertulang belakang terlihat diatur oleh 2 *enhancers* terpisah, yang satunya upstream sedangkan yang lainnya intronik. Faktor transkripsi miogenik SRF (*Serum Response Factor*), MEF2 (*Myocyte Enhancer Factor 2*), dan MyoD mengatur ekspresi dari myomiR-1 dan myomiR-133a pada otot rangka dan jantung. MyoD, MEF2 dan SRF merupakan faktor transkripsi yang berfungsi sebagai protein pengatur yang terikat pada elemen kontrol spesifik di dalam DNA dan menstimulasi transkripsi spesifik otot melalui interaksi dengan faktor transkripsi lainnya. Pada kasus lokus myomiR-1-2/133a-1, SRF mengatur ekspresi yang spesifik jantung melalui *enhancer upstream* dan MEF2 mengatur ekspresi ventrikular melalui *enhancer intron*.¹⁴ Lihat gambar 2.13



Gambar 2.13 Ketiga kluster bicistronik pada miRNA spesifik otot¹⁴

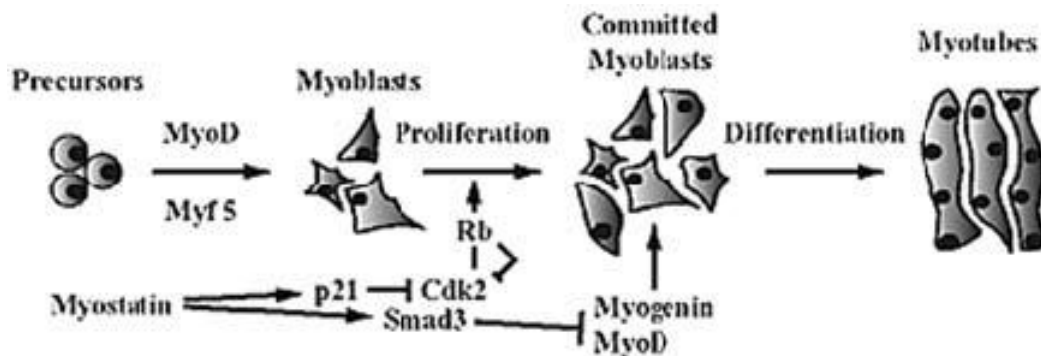
Pada kluster pertama dari myomiR spesifik otot melakukan pengkodean terhadap myomiR-206 dan myomiR - 133b diekspresikan secara spesifik pada otot rangka. Transkripsi spesifik otot rangka dari myomiR - 206/133b diatur oleh daerah regulasi upstream yang diperkaya untuk berikatan dengan MyoD pada uji Chip-on-chip menggunakan kromatin dari sel otot C2C12. Selain itu, penggunaan cell line fibroblast yang mengalami defisiensi/kekurangan MyoD telah menimbulkan efek yang dapat mengaktifkan transkripsi dari miRNA-206/133b.¹⁴

Persamaan yang mendasar dari myomiR-1 dan myomiR-206 yaitu myomiR-1 memiliki kesamaan dari urutan, sasaran gen, dan pola ekspresi yang spesifik terhadap otot dengan myomiR-206. Hal ini yang mengindikasikan bahwa miRNA-1 beroperasi dengan cara yang sama dengan myomiR-206 dalam pengaturan perkembangan otot rangka. Akan tetapi, kedua myomiR ini tidak dapat saling menggantikan satu sama lain dikarenakan masing-masing mempunyai peran dan karakteristik yang unik. Perbedaan inti diantara myomiR-1 dan myomiR-206 adalah pada tempat asalnya. Pada genom baik hewan coba, myomiR-206 terletak pada kromosom 1 sedangkan myomiR-1 terletak pada kromosom 2 dan 18. Perbedaan ini menunjukkan bahwa lingkungan kromosom diantara keduanya tidaklah sama, dan pengaturan keduanya juga berbeda. myomiR-1 diatur oleh MyoD dan myogenin, serupa dengan myomiR-206, dan juga SRF, MEF2 dan Twis. Perbedaan kedua antara miRNA-1 dan miRNA-206 adalah pada hal ekspresi. MyomiR-206 secara spesifik diekspresikan pada otot rangka sementara myomiR-1 dapat diekspresikan baik pada otot rangka ataupun jantung. Banyak studi yang telah menunjukkan bahwa myomiR-1 ternyata juga mampu untuk mengatur pertumbuhan otot jantung dan penyakit-penyakit yang berkaitan dengan otot jantung. Dalam hal pengaturan diferensiasi otot rangka, myomiR-1 lebih mempunyai fungsi pengaturan (regulator) jika dibandingkan dengan myomiR-206 dikarenakan myomiR-1 mempunyai sasaran gen lebih banyak yang mampu memberikan pengaruh lebih banyak pada proses differensiasi.³⁸

2.5.4 Peran MyomiR dalam Metabolisme Otot

Ekspresi miRNA pada otot sangat dipengaruhi oleh myostatin. Myostatin merupakan gen yang berfungsi sebagai *feedback* bagi tubuh untuk menghentikan proses pembesaran massa otot, setelah ukuran massa otot mencapai puncak kebutuhan fisiologis tubuh sehingga myoblast tidak dapat berdiferensiasi menjadi myotube yang akan berkembang menjadi serat otot. Myostatin dapat mengaktifkan p21 yang berfungsi untuk menghambat Cdk2 supaya

tidak terjadi proliferasi *myoblast* dan Smad3 berfungsi untuk menghambat faktor transkripsi *myogenin* dan MyoD sehingga *myoblast* tidak mengalami diferensiasi.⁴³ Lihat gambar 2.14



Gambar 2.14 Mekanisme kerja myostatin dalam pertumbuhan dan diferensiasi otot⁴³

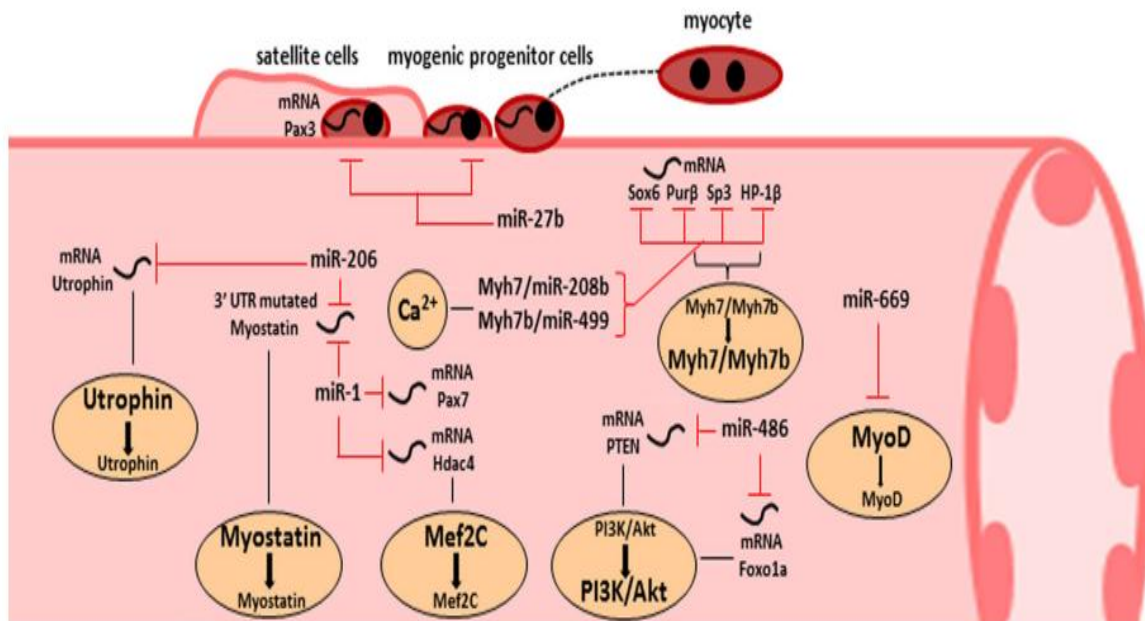
Myostatin disintesis dan disekresikan sebagai polipeptida tidak aktif. Myostatin yang masih muda membelah dan menjadi dewasa. Myostatin berikatan dengan reseptor *activin receptor IIB* yang ada di otot yang menyebabkan aktivasi gen Smad dan perubahan ekspresi gen. Reseptor ini bekerja dengan memberi signal interseluler yang mengaktifkan jalur dan aktivitas protein gen regulator, sehingga berperan dalam pengaturan massa otot.⁴⁴

Sebelumnya telah dijelaskan bahwa miRNA yang terekspresi di dalam otot rangka dinamakan sebagai myomiRs yang bekerja terhadap perubahan metabolisme pada jaringan otot rangka. Salah satu penelitian tentang hipertrofi otot domba *Texel* disebabkan karena mutasi titik pada lokasi 3'UTR dari *myostatin messenger RNA*. Adanya mutasi pada regio 3'UTR dapat menimbulkan aktivasi dari myomiR-1 dan myomiR-206, sehingga kedua myomiR banyak ditemukan pada jaringan otot rangka yang akan mempengaruhi myostatin.⁴⁵

Sasaran lain dari myomiR-206 yaitu Utrophin yang merupakan sebuah sitoskeleton homolog dengan protein dystrophin. Utrophin biasanya dibuat di persimpangan ketika saraf otot bertemu, sebuah daerah yang disebut sambungan neuromuskuler atau sinaps. Pada sel otot normal dystrophin merupakan bagian dari kompleks protein yang menempel sel otot untuk menghubungkan sitoskeleton dari setiap serat otot pada jaringannya. MyomiR-206 terekspresikan secara konsisten di musculoskeletal.⁴⁶

MyomiR juga dapat menanggulangi proses hilangnya massa otot. myomiR-486 memiliki sasaran gen yaitu PTEN (*Phosphatase and Tensin homolog*) dan FoxO1A, yang merupakan bagian dari jalur PI3K/Akt yang terlibat dalam proses hilangnya massa otot dan apoptosis. Aktivasi dari myomiR-486 berakibat pada hipertrofi otot. Hal ini dikarenakan teraktivasinya mTOR melalui hambatan PTEN, serta berkurangnya produksi ligase ubiquitin,

yang berfungsi untuk mempertahankan atrofi pada jaringan otot rangka. Selain itu, ekspresi berlebih dari myomiR-27b menyebabkan terjadinya diferensiasi prematur dari sel otot satelit. Ketika myoblast keluar dari siklus sel, myomiR-27b akan menargetkan pada regio 3'UTR dari Pax3.³⁷ Lihat gambar 2.15



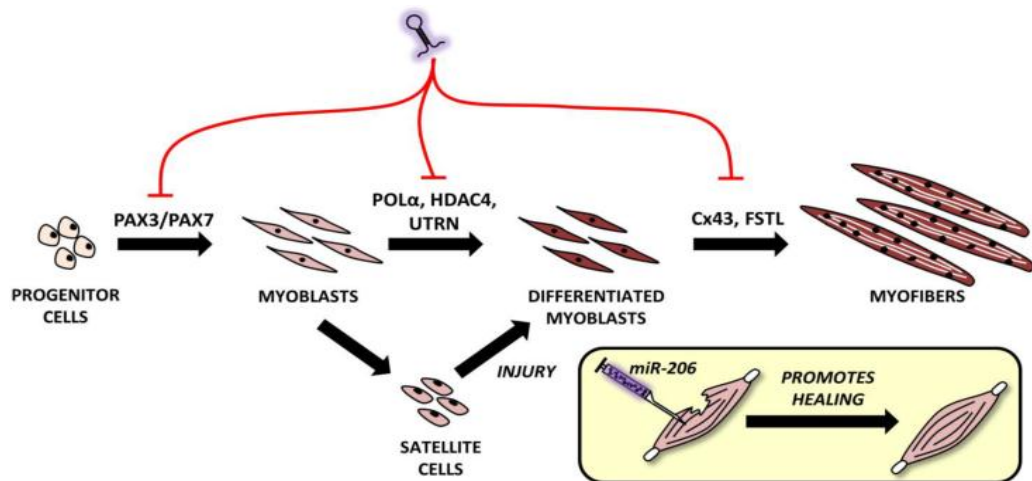
Gambar 2.15 Peran miRNA dalam metabolisme otot³⁷

Eksresi tersistematis dari myomiR-499 dan miRNA-208b berperan penting pada pengendalian kinerja otot rangka. Sebagai respon terhadap sinyal ion kalsium, myomiR-208b dan myomiR-499 memang memperkuat proses perubahan serat dengan melakukan ekspresi β -MHC dan Myh7b. Mereka dikenal sebagai *MyomiRs* karena mereka dikodekan melalui intron dari gen host *myosin* Myh7 dan Myh7b. Kedua miRNA intron ini akan menarget penghambatan transkripsi dari gen *myofiber* yang lambat, termasuk Sox6, Pur β , Sp3, dan HP 1 β . Dan baru-baru ini telah berhasil teridentifikasi keluarga myomiR yang bernama myomiR-669 yang diduga dapat menghambat faktor transkripsi yaitu MyoD.³⁷ Lihat gambar 2.15

2.5.5 Peran MyomiR-206 dalam Metabolisme Otot

Secara garis besar myomiR-206 dapat mengalami down regulation dan upregulation di beberapa stage dari proses myogenesis. Seperti diketahui myomiR-206 dapat menghambat PAX 3/PAX 7 yang berperan dalam perubahan progenitor sel menjadi *myoblast*. myomiR-

206 juga menghambat $POL \alpha$, HDAC4 dan utropin yang berperan pada perubahan *myoblast* menjadi *differentiated myoblast*. Seperti diketahui bahwa hambatan terhadap $POL \alpha$ dapat mengakhiri proses proliferasi dari sel otot. Selain itu myomiR-206 juga menghambat connexin 43 dan FSTL yang berperan pada perubahan *differentiated myoblast* menjadi *myofiber*. Secara umum myomiR-206 berperan dalam perkembangan dari sel otot.¹² Lihat gambar 2.16



Gambar 2.16. Peran myomiR-206 dalam perkembangan otot.¹²

2.5.5.1 DNA Pol α 1

Terhentinya *cell cycle* dan penurunan sintesis DNA sangat mempengaruhi proses diferensiasi dari otot. Pol α merupakan komponen terbesar dari DNA polymerase yang bertanggung jawab pada proses sintesis DNA. myomiR-206 menghambat proses translasi dari Pol α sehingga menyebabkan penurunan sintesis DNA dalam *cell line myoblast* C2C12 dengan cara mendegradasi mRNA dari Pol α . Seperti diketahui bahwa Pol α berperan penting dalam sel *quiescence*. Dengan demikian myomiR-206 berhubungan *quiescence stage* dalam proses myogenesis.¹³ Lihat gambar 2.17.

2.5.5.2 Pax3 dan Pax7

factor transkripsi Pax3 and Pax7 berperan dalam penghambatan apoptosis dari sel satelit dan menjaga sel satelit atau *myoblast* bertahan hidup dan melakukan proliferasi. Penurunan ekspresi dari myomiR-206 membuat sel satelit atau *primary myoblast* dapat berubah dari proses proliferasi menjadi diferensiasi.¹³ Lihat gambar 2.17.

2.5.4.3 Cx43

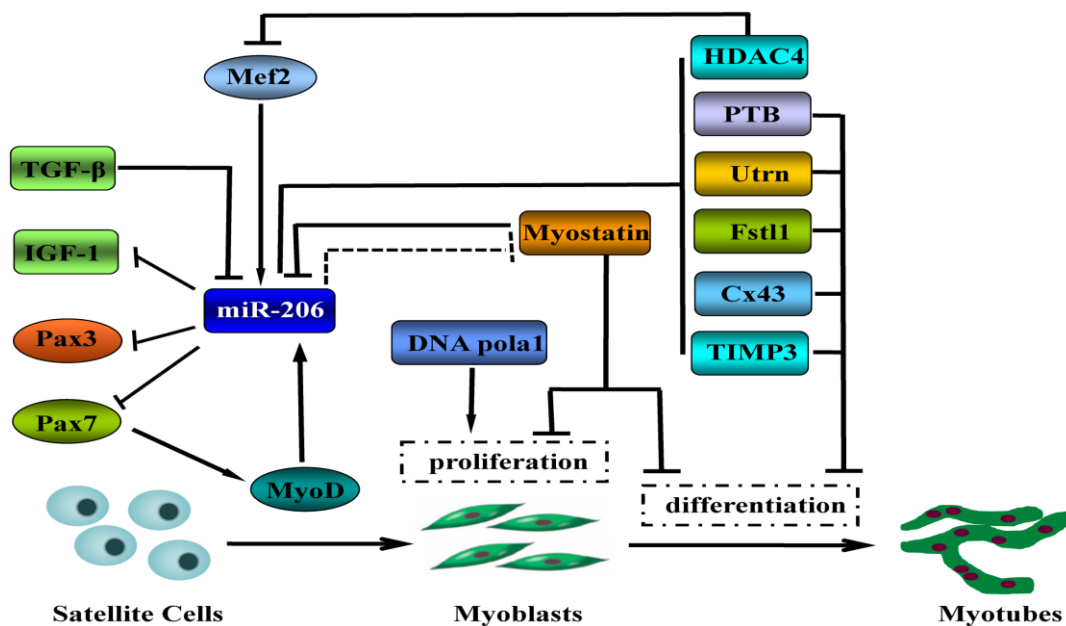
Cx43 merupakan komponen utama dalam gap junctions, yang memediasi proses sinyal molekuler dan metabolit yang berperan dalam proses diferensiasi dan kontraksi pada otot skeletal. Cx43 berperan penting dalam regenerasi dan diferensiasi. Penurunan Cx43 dalam perkembangan otot berperan penting dalam proses pematangan neuro muscular ction. Proses translasi mRNA Cx43 di hambat oleh myomiR-206 sehingga mengganggu pertumbuhan otot sehingga proses diferensiasi otot dapat terjadi.¹³ Lihat gambar 2.17.

2.5.5.4 Utrn dan Fstl1

MyomiR-206 mengaktivasi ekspresi dari MyoD dengan menghambat ekspresi gen post transkripsi utropin dan Fstl1 yang berperan dalam proses defferensiasi dari *myoblast*.¹³ Lihat gambar 2.17.

2.5.5.5 HDAC4

Histone deacetylase berperan dalam proses *chromatin remodeling*. HDAC4 banyak di ekspresikan pada otot jantung dan skeletal. HDAC4 berperan dalam menekan factor transkripsi MEF-2 yang dapat menghambat proses diferensiasi dari *myoblast*. MyomiR-206 meningkatkan proses diferensiasi dari sel otot melalui hambatan terhadap HDAC4.¹³ Lihat gambar 2.17.



Gambar 2.17. Peran myomiR-206 secara mekanisme molekuler dalam perkembangan sel otot.¹³

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian *cross sectional*

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari sampai Juli 2016.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah pasien kanker paru yang menjalani rawat inap, rawat singkat, dan rawat jalan di rumah sakit kanker Dharmais Jakarta.

Sampel penelitian adalah serum yang diambil pada populasi yang memenuhi syarat inklusi.

3.4 Kriteria Pemilihan Subyek Penelitian

Kriteria Inklusi :

1. Pasien yang didiagnosis menderita kanker paru berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi/sitologi jaringan.
2. Pasien yang belum, sedang dan pernah mendapat terapi kanker

Kriteria Eksklusi :

1. Pasien tidak bersedia mengikuti penelitian

3.5 Sumber Data

Sumber data berasal dari data primer dan data sekunder. Data primer digunakan untuk menilai variabel terikat dan bebas yaitu kaheksia melalui berat badan, tinggi badan, indeks massa tubuh, pemeriksaan laboratorium Hb, Albumin, IL-6, CRP dan myomiR-206 . Data sekunder yang diambil dari status yaitu jenis kanker dan histopatologi.

3.6 Besar Sampel

besar sampel dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$n = \frac{Z\alpha^2 \cdot p \cdot q}{d^2} = \frac{Z\alpha^2 p(1-p)}{d^2}$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel minimal yang diperlukan

Z α = Nilai baku distribusi normal pada α tertentu (1,96)

p = Proporsi variabel tergantung dan variabel bebas pada penelitian sebelumnya

q = 1 – p

d = Derajat akurasi/presisi mutlak (0,15)

Pada penelitian sebelumnya dari 3.047 pasien kanker paru terdapat 36% yang mengalami kaheksia.⁴⁷ Sehingga besar sample yang didapat adalah 40 orang.

3.7 Definisi Operasional

1. Kanker paru : Keganasan yang terjadi pada organ pernapasan manusia yaitu paru – paru
2. Hemoglobin : Kadar hemoglobin dikatakan normal bila kadar hemoglobin ≥ 13 g/dL dan menurun bila kadar hemoglobin < 13 g/dL.⁴⁸
3. Albumin : Kadar albumin dikatakan normal bila kadar albumin $\geq 3,2$ g/dL dan menurun bila kadar albumin $< 3,2$ g/dL.⁴⁸
4. IL–6 : Kadar IL–6 dikatakan normal bila kadar IL–6 $< 12,5$ pg/mL dan meningkat bila kadar IL–6 $\geq 12,5$ pg/mL.⁴⁸
5. CRP : Kadar CRP dikatakan normal bila kadar CRP < 6 mg/L dan meningkat bila kadar CRP ≥ 6 mg/L.⁴⁸
6. MyomiR – 206: Ekpresi myomiR–206 yang diwakilkan dengan *fold change* miRNA–206.
7. Pre kaheksia : Berdasarkan kriteria *the SCRINIO international cancer cachexia working group* yaitu persentase penurunan berat badan $< 10\%$.
8. Kaheksia : Berdasarkan kriteria *the SCRINIO international cancer cachexia working group* yaitu persentase penurunan berat badan $\geq 10\%$

3.8 Bahan dan Alat

3.8.1 Bahan

Bahan penelitian ini terdiri adalah serum sampel, Qiagen mirNeasy serum/plasma kit untuk ekstraksi miRNA, kit TaqMan miRNA *reverse transcription* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) dan miRNA spesifik primer *stem loop* (TaqMan miRNA assay kit, Applied Biosystems) untuk merubah miRNA menjadi *reverse transcribed*, primer myomiR–

206 (UGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGG) dari TaqMan Mirna assay kit *Applied Biosystems* dan gen *reference miRNA-16*.

3.8.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *realtime PCR Applied Biosystem 7500 Fast System*, *PCR Applied Biosystem Veriti 96 Well Thermal Cycler*, *Centrifuge ThermoFisher Scientific MicroCl 17R*, *Centrifuge Hettich Universal 320R*, *Micro Centrifuge LX-100*, *NanoDrop 2000/2000c Thermo Scientific*.

3.9 Cara Penelitian

3.9.1 Pengambilan sampel

1. Terhadap pasien kanker paru yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pengambilan sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan laboratorium seperti hemoglobin, albumin, IL-6, CRP dan myomiR-206.
2. Dilakukan anamnesis dan pemeriksaan fisik pada pasien kanker paru.
Anamnesis : Penurunan berat badan, anoreksia, dan kelelahan.
Pemeriksaan fisik : Berat badan, tinggi badan.

3.9.2 Analisis Biochemical

IL-6 diukur dengan menggunakan ELISA pada mesin Cobas e601 analyzer (Tokyo, Jepang), albumin dan CRP diukur dengan menggunakan mesin Cobas c501 analyzer (Tokyo, Jepang). Pengukuran hemoglobin dengan mesin Sysmex XN 10 (Kobe, Japan)

3.9.3 Pembuatan Serum

Darah yang diperoleh didiamkan selama sekitar 1 jam pada suhu kamar sebelum disentrifugasi pada 1.800 g selama 10 menit. Serum yang diperoleh dipisahkan ke *cryotube* 1,5 ml dan disimpan pada - 80⁰ C sampai digunakan.

3.9.4 Isolasi RNA

Siapkan serum sampel, kemudian masukkan 200 µl serum sampel kedalam tube, campur dengan Qiazol Lysis Reagent sebanyak 1000 µl dengan menggunakan vortex, sampel diinkubasi selama 5 menit pada suhu kamar (25⁰ C), tambahkan 3,5 µl *Spike in control* dan 200 µl chloroform, vortex selama 15 detik, kemudian diinkubasi selama 3 menit pada suhu 25⁰C. sampel kemudian di *centrifuge* dengan 12000 g selama 15 menit pada suhu 4⁰C.

Aqueous Phase dipindahkan ke tube baru, bila jumlahnya 600 μl maka ditambahkan etanol 100% sebanyak 900 μl kemudian di pipet up and down. Kemudian masukkan 700 μl ke dalam tube 2 ml, lakukan *centrifuge* 8500 g selam 15 detik pada suhu 25⁰C, buang cairan di coll. Tube. Kemudian tambahkan 500 μl buffer RPE, kemudian *centrifuge* 8500 g selama 15 detik pada suhu 25⁰C, buang cairan di coll tube. Kemudian tambahkan 500 μl etanol 80%, lalu *centrifuge* 8500 g selama 2 menit pada suhu 25⁰C, buang cairan di coll tube. Kemudian letakkan coll tube baru tanpa tutup 2 ml pada masing – masing spin kolom sample, *centrifuge* 12000 g selama 5 menit pada suhu 25⁰C, tutup tetap terbuka saat *centrifuge*, buang coll tube dan cairan jika ada. Kemudian ganti dengan 1,5 ml tube tertutup dan tambahkan 14 μl RNase free water Qiagen, inkubasi selama 10 menit pada suhu 25⁰C, kemudian *centrifuge* 12000 g selama 1 menit pada suhu 25⁰C. simpan hasil ekstraksi RNA pada suhu – 80⁰C untuk analisis selanjutnya.

3.9.5 Micro RNA Reverse Transcription

Reverse transcription dari RNA diubah menjadi cDNA menggunakan TaqMan MicroRNA *Reverse Transcription kit* sesuai dengan petunjuk pabrik. Masing–masing RT terdiri dari 2 ng/ μl total RNA. *Thawed* komponen kit TaqMan dan RT primer diatas es. Setiap reaksi RT terdiri dari 0,15 μl 10 mM dNTP, 1 μl *MultiScribe Reverse Transcriptase* (50 U/ μl). 1,5 μl 10x *Reverse Transcriptase buffer*, 0,19 μl *RNAse Inhibitor* [20 U/ μl], 4,16 μl *Nuclease Free Water*, 3 μl *Reverse Transcriptase primer*, jadi total volume RT mix dan RT primer sebanyak 10 μl . kemudian pipet komponen reaksi kedalam tube 1,5 μl untuk membuat RT mix, vortex dengan kecepatan rendah dan spin sebentar. Pipet masing – masing 10 μl RT mix dan RT primer ke dalam tube PCR. Kemudian di program dalam *thermal cycle* 30 menit pada suhu 16⁰C, 30 menit pada suhu 42⁰C, 5 menit pada suhu 85⁰C, kemudian 4⁰C. cDNA sample disimpan pada suhu 4⁰C.

3.9.6 Real Time Quantitative PCR MyomiR–206.

TaqMan Micro RNA Assay digunakan untuk mengukur kadar mikro RNA sesuai instruksi pabrik. Masing – masing reaksi PCR terdiri dari 1 μl *TaqMan Micro RNA Assay* [20x], 1,33 μl cDNA, 10 μl *TaqMan Universal PCR Master Mix* dan 7,67 μl *nuclease free water*. Masing – masing mikro RNA dibuat duplo dengan control sampel normal dan NTC. PCR menggunakan *realtime PCR Applied Biosystem 7500 Fast System*. Dengan primer myomiR–206 (UGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGG) dari TaqMan Mirna assay kit, Applied Biosystems. Analisis data myomiR–206 dengan gen *reference* miRNA–16.⁴⁹ Setelah

diketahui nilai Ct, kemudian menetapkan Ct threshold secara manual pada daerah eksponensial. Fold change dihitung menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta CT}$. $\Delta\Delta CT = \Delta CT \text{ sampel} - \Delta CT \text{ kontrol}$. $\Delta CT \text{ sampel} = \text{nilai CT sampel yang telah dinormalkan dengan } endogenous \text{ control}$.

3.10 Etik Penelitian

Dalam penelitian ini ada beberapa hal yang diperhatikan:

1. Subjek penelitian akan mendapatkan penjelasan mengenai tujuan prosedur penelitian
2. Subjek penelitian setelah mendapat penjelasan berhak untuk menyetujui atau menolak menjadi peserta penelitian. Apabila bersedia subjek diminta untuk menandatangani surat kesediaan berpartisipasi.
3. Apabila subjek menolak ikut penelitian maka akan tetap mendapat pelayanan sesuai prosedur
4. Identitas dan hasil pemeriksaan terhadap subjek akan dirahasiakan.
5. Tindakan pengambilan darah vena akan dilakukan oleh dokter dan tenaga kesehatan yang terlatih.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

3.11 Rencana Pengolahan dan Analisis Data.

1. Analisis dan pengolahan data secara keseluruhan akan menggunakan program SPSS 22.0 for windows. Uji hipotesis akan disertakan nilai kemaknaan (P) dan kemaknaan yang ditentukan untuk penelitian ini adalah $p < 0,05$.
2. Uji normalitas data dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk.
3. Untuk analisis bivariat kaheksia dengan IL-6, CRP, Hemoglobin, Albumin dan myomiR-206 digunakan uji t tidak berpasangan. Jika tidak memenuhi syarat (data distribusi tidak normal) maka menggunakan uji Mann Whitney
4. Untuk uji korelasi hubungan antara ekspresi myomiR-206 dengan IL-6 dilakukan uji pearson. Jika data terdistribusi tidak normal dilakukan uji korelasi Spearman.

BAB 4

HASIL

4.1 Gambaran *Clinicopathology* pada Pasien Kanker Paru

Gambaran *clinicopathology* dapat dilihat pada tabel 4.1. Pada penelitian ini didapatkan pasien laki – laki lebih banyak dari pada pasien perempuan (laki–laki 75%, perempuan 25%). Pasien berumur antara 17 tahun sampai 70 tahun dengan rata–rata umur 52 tahun. Sebagian besar pasien yang menderita kanker paru dengan gambaran histologinya berjenis adenokarsinoma (57,5%). Semua pasien telah menjalani terapi baik kemoterapi, radiasi maupun kemoradiasi, namun 50% pasien hanya menjalani kemoterapi saja.

Tabel 4.1. Gambaran *Clinicopathology* Pasien Kanker Paru

		n	%
Jenis kelamin	Laki–laki	30	75
	Perempuan	10	25
Umur berdasar rerata	< 52 tahun	18	45
	≥ 52 tahun	22	55
Histologi	Type lain	8	20
	Adenokarsinoma	23	57,5
	Karsinoma sel skuamosa	7	17,5
	Karsinoma sel kecil	2	5
Pengobatan	Kemoterapi	20	50
	Radioterapi	3	7,5
	Kemoradiasi	13	32,5
	Tidak diketahui	4	10

4.2. Perbedaan kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL–6 < 12,5 pg/mL dengan IL–6 ≥ 12,5 pg/mL pada Pasien Kanker Paru

Perbedaan kadar CRP, hemoglobin dan albumin antara IL–6 < 12,5 pg/mL dengan IL–6 ≥ 12,5 pg/mL pada pasien kanker paru dapat dilihat pada tabel 4.2. Pada penelitian ini pasien di klasifikasikan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok IL–6 < 12,5 pg/mL untuk nilai normal dan kelompok dengan IL–6 ≥ 12,5 pg/mL untuk nilai yang meningkat. Berdasarkan tabel 4.2 didapatkan bahwa IL–6 dapat menyebabkan penurunan hemoglobin dan albumin, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok baik hemoglobin ($p = 0,252$) maupun albumin ($p = 0,199$) berdasarkan uji t tidak berpasangan. Selain itu IL–6 menyebabkan peningkatan CRP dan terdapat perbedaan yang bermakna antar kedua kelompok ($p = 0,000$) berdasarkan uji Mann Whitney.

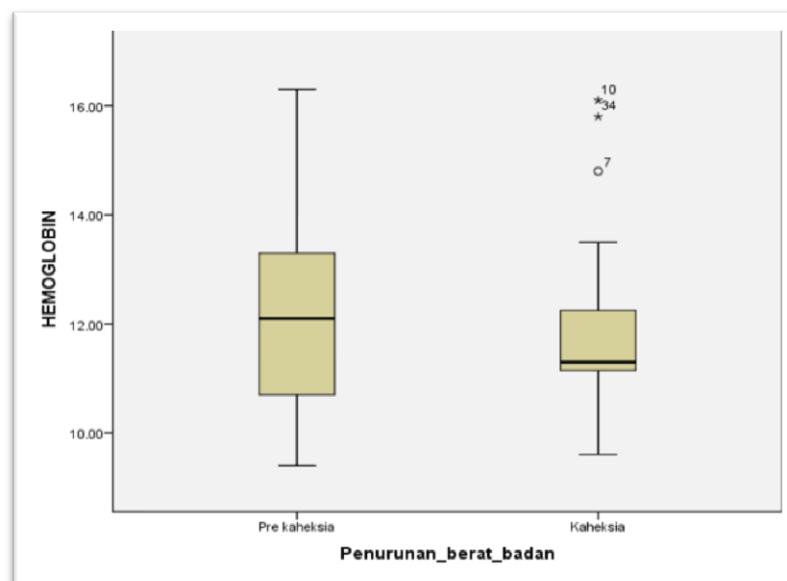
Tabel 4.2. Perbedaan kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 ≥ 12,5 pg/mL pada Pasien Kanker Paru

	IL-6 < 12,5 pg/mL Mean ± SE	IL-6 ≥ 12,5 pg/mL Mean ± SE	p
CRP	14,94 ± 5,31	75,56 ± 16,93	0,000*
Hemoglobin	12,38 ± 0,41	11,76 ± 0,33	0,252
Albumin	4,01 ± 0,13	3,78 ± 0,11	0,199

Data berdasarkan mean ± SE. * p < 0,05

4.3. Perbedaan Kadar Hemoglobin, Albumin, IL-6 dan CRP antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru

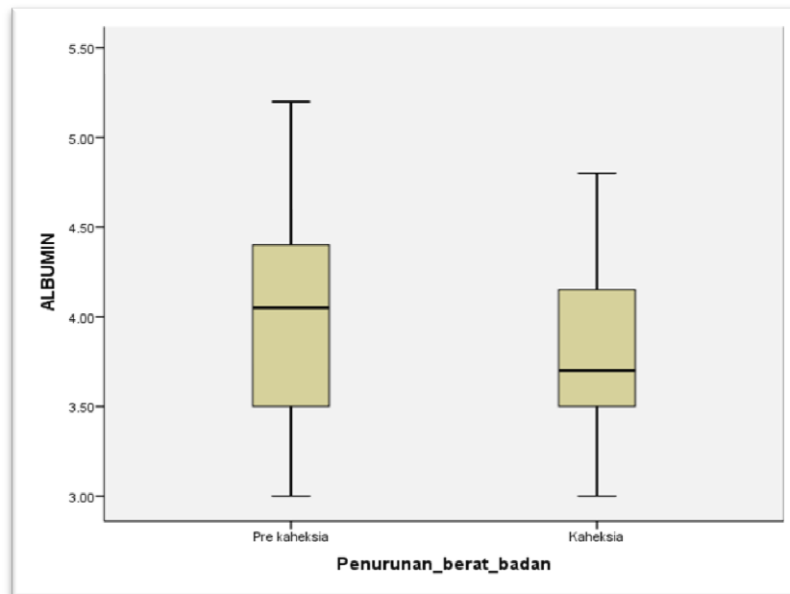
Perbedaan kadar hemoglobin antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru dapat dilihat pada gambar 4.1. Pada penelitian ini antara kelompok pre kaheksia dan kaheksia didapatkan penurunan hemoglobin namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok (p = 0,442) berdasarkan uji Mann Whitney.



Gambar 4.1. Perbedaan kadar hemoglobin antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru

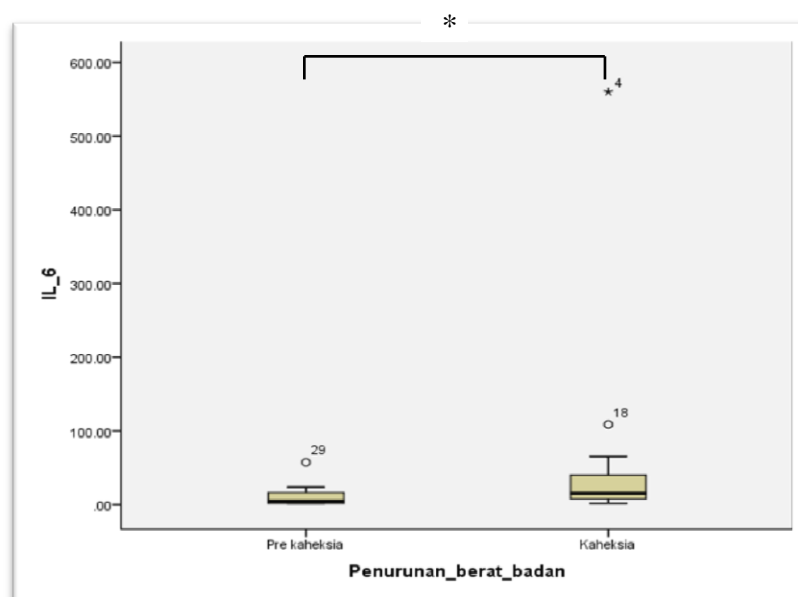
Perbedaan kadar albumin antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru dapat dilihat pada gambar 4.2. Pada penelitian ini antara kelompok pre kaheksia dan

kaheksia didapatkan penurunan albumin namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,275$) berdasarkan uji t tidak berpasangan.



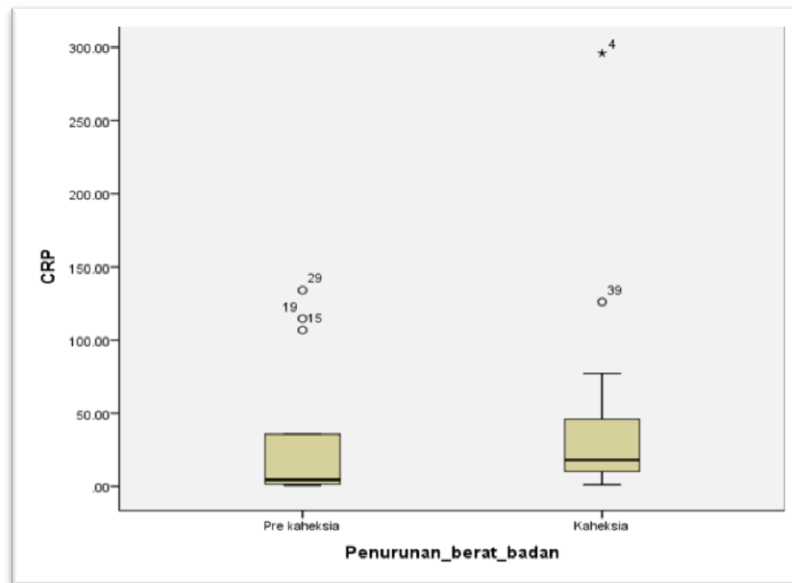
Gambar 4.2. Perbedaan kadar albumin antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru

Perbedaan kadar IL-6 antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru dapat dilihat pada gambar 4.3. Pada penelitian ini antara kelompok pre kaheksia dan kaheksia didapatkan peningkatan kadar IL-6 dan terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,026$) berdasarkan uji Mann Whitney



Gambar 4.3. Perbedaan kadar IL-6 antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru

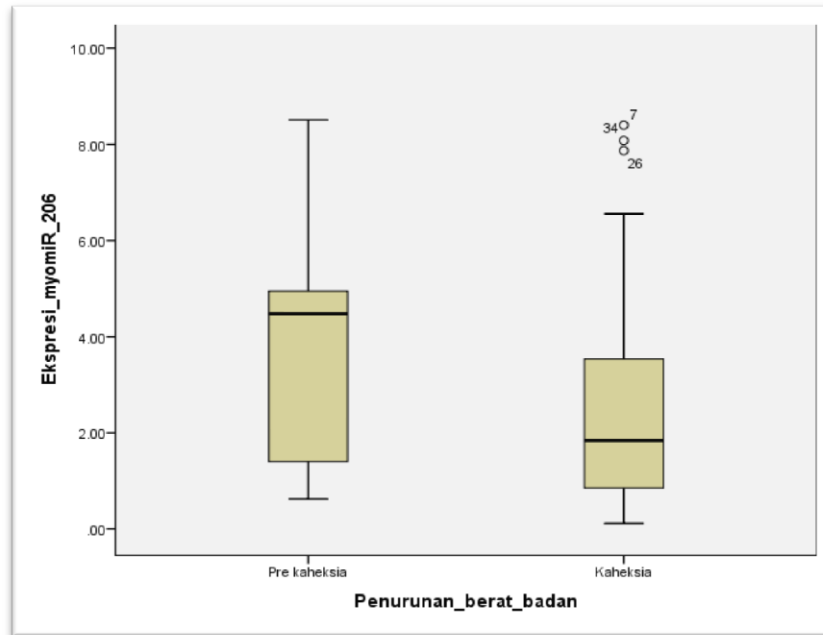
Perbedaan kadar CRP antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru dapat dilihat pada gambar 4.4. Pada penelitian ini antara kelompok pre kaheksia dan kaheksia didapatkan peningkatan kadar CRP namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,159$) berdasarkan uji Mann Whitney



Gambar 4.4. Perbedaan kadar CRP antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru

4.4. Ekspresi MyomiR-206 antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru

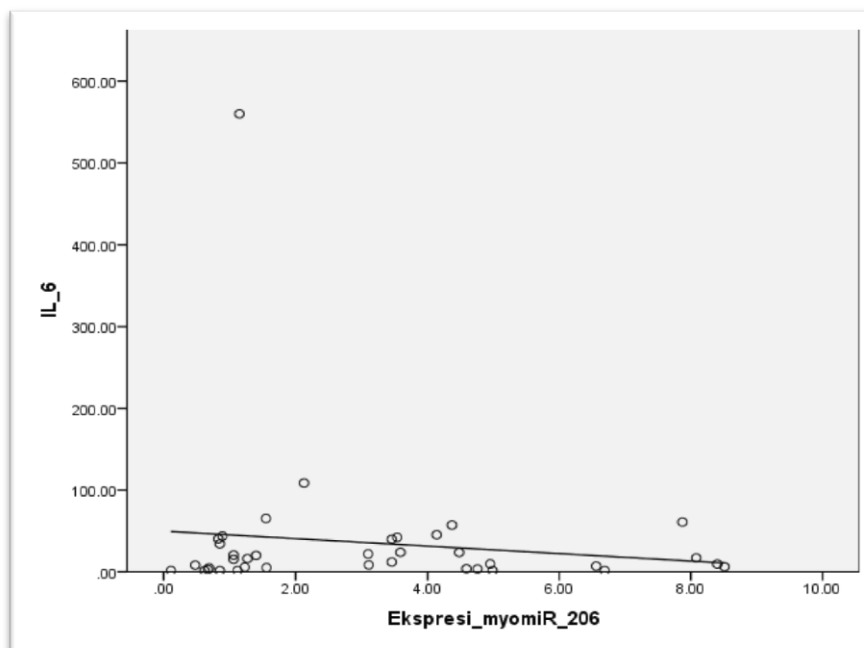
Ekspresi myomiR-206 antara pre kaheksia dengan kaheksia pada pasien kanker paru dapat dilihat pada gambar 4.5. Ekspresi myomiR-206 diwakilkan dengan *fold change* myomiR-206. Pada penelitian ini didapatkan penurunan ekspresi myomiR-206 antara kelompok pre kaheksia dan kaheksia namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,109$) berdasarkan uji Mann Whitney



Gambar 4.5. Ekspresi myomiR-206 antara pre kaheksia dan kaheksia pada pasien kanker paru

4.5. Hubungan Ekspresi MyomiR-206 dengan IL-6 pada Pasien Kanker Paru

Hubungan Ekspresi MyomiR-206 dengan IL-6 dapat dilihat pada gambar 4.6. Pada penelitian ini tidak didapatkan adanya korelasi yang bermakna antara ekspresi myomiR-206 dengan IL-6 ($r = -0,103$, $p = 0,538$) berdasarkan uji Spearman



Gambar 4.6. Hubungan ekspresi myomiR-206 dengan IL-6 pada pasien kanker paru

BAB 5 PEMBAHASAN

Pathogenesis kaheksia pada kanker begitu kompleks sehingga belum diketahui secara pasti penyebab utamanya.³ Namun kaheksia berdampak terhadap kualitas hidup, angka kesakitan dan kematian dari penderita kanker.⁵⁰ Sehingga fokus penelitian saat ini mencari biomarker yang potensial terhadap penderita kanker yang mengalami kaheksia. Mikro RNA memang dijadikan sebagai biomarker pada beberapa kanker namun mikro RNA sebagai biomarker penurunan masa otot belum diketahui secara pasti.⁵¹

5.1. Gambaran *Clinicopathology* pada Pasien Kanker Paru

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pasien laki-laki lebih banyak yang menderita kanker paru dibandingkan dengan perempuan (laki-laki 75%, perempuan 25%) dengan umur rata-rata 52 tahun. Sebagian besar pasien menderita kanker paru dengan gambaran histologisnya berjenis adenokarsinoma (57,5%) dengan mayoritas pasien menjalani kemoterapi.

Data ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pakzad dan rekan, dimana gambaran secara umum di Asia tahun 2015 angka kejadian pasien kanker paru pada laki – laki 71.13% sedangkan pada perempuan 28.87% dan secara khusus di Indonesia angka kejadian pasien kanker paru pada laki-laki 76.11% sedangkan pada perempuan 23.89%.⁵²

Berdasarkan American Cancer Society 2015 didapatkan pasien kanker paru pada laki – laki 52,26 % sedangkan pada perempuan 47,74% dengan angka probabilitas (%) kejadian kanker paru berdasarkan kelompok umur pada pria adalah . 0,2% (1 : 578) usia 0–49 tahun, 0,7% (1 : 140) usia 50–59 tahun, 2% (1 : 49) usia 60–69 tahun, and 6,6% (1 : 15) usia lebih dari 70 tahun. Dari data tersebut didapatkan angka kejadian kanker paru pada usia lebih dari 70 tahun lebih besar probabilitasnya.¹ Seperti diketahui bahwa angka kejadian kanker paru berdasarkan umur adalah 1,5 sampai 2,3 kali lebih tinggi negara maju ketimbang negara tidak maju. Hal ini berkaitan dengan tingginya harapan hidup negara maju ketimbang negara berkembang.⁵³ Indonesia adalah negara berkembang sehingga angka kejadian kanker paru berdasarkan umur lebih rendah ketimbang negara maju.

Penelitian yang dilakukan oleh Yang dan rekan didapatkan gambaran histologi pasien kanker paru mayoritas berjenis adenokarsinoma (123 *small cell*, 115 *squamous cell*, dan 234 adenocarcinoma). Selain itu Yang dan rekan menghubungkan gambaran histologi dengan merokok. Hasilnya didapatkan adanya korelasi yang kuat antara merokok dengan kejadian

adenokarsinoma pada kanker paru dibanding dengan gambaran histologi lainnya yaitu *small cell* dan *squamous cell*.⁵⁴

Seperti diketahui bahwa masyarakat Indonesia memiliki kebiasaan yang cukup tinggi angkanya dalam penggunaan tembakau. Berdasarkan data GATS Indonesia 2011 jumlah perokok di Indonesia dengan umur diatas 15 tahun adalah 59,884.500 dimana kebiasaan merokok lebih banyak dilakukan oleh pria ketimbang perempuan (laki-laki 57,586.800, perempuan 2,297.700).⁵⁵ Merokok merupakan salah satu faktor resiko yang menyebabkan kanker paru.^{56, 57}

5.2. Perbedaan Kadar CRP, Hemoglobin dan Albumin antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 ≥ 12,5 pg/mL pada Pasien Kanker Paru

Pada penelitian ini didapatkan IL-6 menyebabkan peningkatan CRP dan terdapat hubungan yang bermakna antar kedua kelompok. Selain itu IL-6 dapat menyebabkan penurunan hemoglobin dan albumin, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok. Penelitian ini sejalan dengan dengan penelitian yang dilakukan oleh Songur dan rekan bahwa peningkatan IL-6 sangat berhubungan dengan peningkatan komponen CRP, penurunan berat badan, penurunan albumin dan transferrin.⁵⁸

IL-6 merangsang produksi CRP oleh hati melalui aktivasi interaksi antara CCAAT/*Enhancer Binding Protein* β (C/EBP β) and Rel p50.⁵⁹ Penurunan kadar albumin dapat disebabkan oleh menurunnya intake protein akibat anoreksia ataupun akibat peningkatan sitokin dan *acute phase reaction* akibat proses inflamasi.⁶⁰ Menurunnya intake disebabkan adanya mekanisme IL-6 yang berpengaruh terhadap penurunan kadar leptin dan dapat berdampak terjadinya anoreksia. Salah satu dampak dari anoreksia adalah berkurangnya intake protein.⁶¹ Penelitian yang dilakukan Aleman dan rekan menunjukkan adanya penurunan kadar leptin berhubungan dengan peningkatan sitokin dan *acute phase protein* (IL-6, CRP, TNF α) yang akan berdampak terhadap kondisi malnutrisi.⁶² Sedangkan proses inflamasi dapat menyebabkan terjadinya hipoalbuminemia disebabkan karena hambatan terhadap sintesis albumin dan meningkatkan albumin FCR (*fractional catabolic rate*) di hati.⁶³

Penelitian yang dilakukan Nemeth dan rekan, Nicolas dan rekan menunjukkan bahwa IL-6 dapat menyebabkan hipoferremia dengan menginduksi hormon hepcidin yang dihasilkan oleh sel hati, dimana hepcidin dapat menghambat penyerapan zat besi di usus halus dan melepas *recycled iron* oleh makrofag. Kondisi seperti ini dapat menyebabkan

terjadinya anemia akibat gangguan deliveri zat besi dalam proses pematangan eritrosit di sumsum tulang.^{64, 65, 66}

5.3. Perbedaan Kadar Hemoglobin, Albumin, IL-6 dan CRP antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan kadar IL-6 pada kelompok kaheksia dibandingkan dengan kelompok pre kaheksia.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Letilovic dan rekan, dimana terjadi peningkatan CRP, penurunan hemoglobin dan albumin pada non hematologi tumor antara kelompok non kaheksia dan kaheksia.⁶⁷ Penelitian yang dilakukan Scott dan rekan menunjukkan bahwa penurunan berat badan berhubungan dengan peningkatan IL-6 dan CRP.⁶⁸ Penelitian yang dilakukan Bonetto dan rekan menunjukkan bahwa peningkatan IL-6 disertai dengan peningkatan *acute phase respons* dan penurunan masa otot melalui aktivasi JAK STAT.⁶⁹ Penelitian White dan rekan menunjukkan bahwa IL-6 dapat menghambat pertumbuhan otot melalui penekanan terhadap mTOR melalui aktivasi dari AMPK.⁷⁰ Sedangkan penelitian yang dilakukan Sandri dan rekan menunjukkan bahwa atrofi otot berkaitan dengan aktifasi dari *FoxO Transcription factor* dan induksi Atrogin 1 dengan jalan menurunkan aktifitas dari PI3K/AKT.⁷¹

5.4. Ekspresi MyomiR-206 antara Pre Kaheksia dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru

Pada penelitian ini didapatkan penurunan ekspresi myomiR-206 pada kelompok kaheksia dibandingkan dengan kelompok pre kaheksia namun tidak didapatkan perbedaan yang bermakna diantara kedua kelompok.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan McGregor dimana terjadi penurunan ekspresi myomiR-206 pada kelompok kaheksia dibandingkan dengan kelompok pre kaheksia namun tidak terdapat hubungan bermakna diantara kedua kelompok.⁷² Seperti diketahui bahwa myomiR-1/206 dapat menekan IGF-1 pada *Myoblast*.⁷³ IGF-1 merupakan salah satu positif regulator dari pertumbuhan otot. Pada insulin yang sensitif, ikatan insulin di reseptornya dapat meningkatkan aktifitas PI3K (*Phospho Inositide 3 Kinase*) sehingga Akt akan terfosforilasi. Akt yang terfosforilasi akan menghambat FoxO dan menurunkan transkripsi dari Atrogin 1 dan MuRF 1 (*Muscle Ring Finger 1*) dimana kedua protein tersebut berperan dalam E3 enzim (regulator UPP). Penurunan Atrogin dan MuRF 1 dapat menurunkan aktifitas proteolitik. Namun sebaliknya penurunan aktifitas PI3K dan Akt yang

terfosforilasi dapat meningkatkan proses proteolitik.³⁰ Dalam beberapa kasus pasien kaheksia pada kanker kolorektal mengalami penurunan IGF-1 namun sebaliknya terjadi peningkatan pada pasien kaheksia kanker gaster.⁷⁴ Hal ini menunjukkan bahwa kaheksia pada beberapa kanker bisa berbeda kondisi IGF-1 nya, sehingga myomiR-206 tidak bisa dijadikan indikator mutlak dalam proses penurunan berat badan.

Penelitian Reed dan rekan menunjukkan bahwa degradasi protein otot pada kaheksia terutama disebabkan oleh mekanisme *ubiquitin proteasome*, yang di induksi melalui aktivasi E3 ligase, atrogin-1/MAFbx, and MurF 1. FoxO juga berperan pada proses ini dengan menginduksi transkripsi dari E3 ubiquitin ligase dan ketiga komponen (FoxO1, FoxO3, and FoxO4). Hambatan terhadap proses transkripsi FoxO dapat mencegah atrofi otot pada kondisi kaheksia.⁷⁵ Selain itu penelitian yang dilakukan Soares dan rekan menunjukkan bahwa myomiR-206 dapat terlibat dalam penurunan masa otot rangka selama proses katabolisme terjadi melalui pengaturan fungsi mitokondria.¹¹ Hambatan terhadap faktor transkripsi YY1 (*Yin Yang 1*) pada otot dapat menyebabkan kelainan *morphology* dari mitokondria dan gangguan fungsi oksidatif, sehingga myomiR sangat tergantung terhadap hambatan YY1 yang berperan dalam metabolisme.^{76,77}

Penelitian yang dilakukan Rao dan rekan menunjukkan myomiR-206 pada *myoblast* C2C12 berperan penting pada pertumbuhan dan perkembangan sel otot, dimana myomiR-206 merangsang proses differensiasi dari *myoblast* ke *myotubes*.⁷⁸ Penelitian yang dilakukan Liu dan rekan menunjukkan myomiR-206 meningkatkan proses differensiasi pada sel *myoblast* dengan mensupresi *negative regulator* dari proses *myogenesis* diantaranya Pax 7, notch 3 dll.⁷⁹ Penelitian yang dilakukan Huang menunjukkan over ekspresi myomiR-206 meningkatkan proses differensiasi dari sel satelit dengan melemahkan proses *Denervation-Induced Skeletal Muscle Atrophy* melalui penekanan terhadap TGF β 1, SMAD 3 dan HDAC4, Seperti diketahui bahwa TGF β 1, SMAD 3 dan HDAC4 berperan dalam proses terjadinya atrofi otot.⁸⁰ Penelitian yang dilakukan McCarthy dan rekan menunjukkan bahwa ekspresi myomiR-206 dapat meningkat pada otot diaphragm dari tikus dystropin-deficient namun tidak pada otot soleus dan plantaris.⁸¹

MyomiR-206 dapat mengalami *downregulation* dan *upregulation* dalam tahap yang berbeda dari proses *myogenesis*. Faktor transkripsi Pax 3 dan Pax 7 dapat mencegah terjadinya apoptosis dari sel satelit, sehingga sel satelit dapat bertahan hidup dan melakukan proliferasi. Hambatan terhadap faktor transkripsi tersebut dapat mencegah terjadinya proses proliferasi dari sel satelit ke *myoblast*.^{82, 83} *Downregulation* myomiR-206 diperlukan sel *satellite* atau *myoblast* untuk proliferasi, karena myomiR-206 dapat menghambat Pax 3 dan

Pax 7.^{84,85} Kemudian dibutuhkan *Upregulation* dari myomiR–206 untuk mensupresi Utropin dan Folistatin like 1 yang berperan dalam proses differensiasi dari myoblast. Hambatan terhadap Utropin dan Folistatin like 1 menyebabkan otot masuk ke tahap berikutnya yaitu proses differensiasi.⁸⁶ myomiR–206 dapat mengalami *downregulation* dan *upregulation*, hal ini sesuai dengan kondisi proses myogenesis, pada saat dibutuhkan proses proliferasi maka myomiR–206 mengalami *downregulation* dan pada saat proses differensiasi myomiR–206 mengalami *upregulation*.

Dari data diatas menunjukkan bahwa myomiR–206 sulit dikaitkan dengan kaheksia karena banyak hal yang berpengaruh diantaranya penurunan berat badan tidak bisa dijadikan indikator penurunan massa otot karena penurunan berat badan bisa juga dipengaruhi oleh penurunan massa lemak tubuh, proses terjadinya atrofi otot dipengaruhi banyak faktor salah satunya peran IGF–1 dalam degradasi protein, proses terjadinya atrofi otot dipengaruhi banyak myomiR yang berperan, ekspresi myomiR sangat dipengaruhi oleh jenis otot. Oleh karena itu pengambilan sampel terhadap otot langsung sangat menentukan ekspresi myomiR dibandingkan sampel melalui darah walaupun myomiR dapat ditemukan secara stabil di dalam cairan tubuh diantaranya air liur, urin, air susu dan darah, penelitian ini dilakukan secara *cross sectional*, sehingga tidak bisa melihat perkembangan lebih lanjut, oleh karena itu diperlukan penelitian yang berkelanjutan.

5.5. Hubungan Ekspresi MyomiR–206 dengan IL–6 pada Pasien Kanker Paru

Pada penelitian ini tidak didapatkan adanya korelasi yang bermakna antara ekspresi myomiR–206 dengan IL–6. Penelitian ini berbeda dengan dengan penelitian yang dilakukan oleh Georgantas dan rekan dimana penurunan ekspresi myomiR–206 pada penderita DM berhubungan dengan peningkatan sitokin.¹⁷ Hal ini disebabkan kadar IL–6 pada penelitian ini tidak semuanya mengalami peningkatan IL–6, sebagian pasien mempunyai kadar IL–6 yang normal. Kondisi ini bisa disebabkan karena hampir sebagian besar pasien sedang menjalani pengobatan sehingga akan berdampak pada proses inflamasi.

5.6. Keterbatasan Penelitian

Penurunan berat badan sering digunakan sebagai indikator umum dalam penentuan kaheksia pada kanker.⁸⁷ Penurunan berat badan sangat dipengaruhi oleh berkurangnya massa otot dan lemak. Seperti diketahui bahwa myomiR–206 berperan dalam proses myogenesis, sehingga otot dijadikan sebagai ukuran terhadap aktifitas myomiR–206. Sehingga indikator berat badan tidak dapat secara langsung dihubungkan dengan penurunan massa otot

walaupun penurunan massa otot merupakan salah satu bagian dari berat badan, boleh jadi penurunan berat badan bisa dipengaruhi penurunan lemak tanpa pengurangan massa otot. Penelitian yang akan datang seharusnya dilakukan juga pengukuran terhadap massa otot dan lemak dengan menggunakan *cross-sectional computerized axial tomography and magnetic resonance*.⁸⁸

Salah satu komponen yang mempengaruhi penurunan berat badan adalah otot. Seperti diketahui bahwa proses myogenesis otot rangka juga dipengaruhi oleh regulasi dari myomiR yang lain seperti myomiR-1, myomiR-133, myomiR-208b, myomiR-499.¹² Sehingga myomiR-206 tidak bisa dijadikan indikator tunggal pada proses penurunan berat badan khususnya otot.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Mayoritas pasien yang menderita kanker paru adalah laki – laki dengan umur rata – rata 52 tahun. Sebagian besar pasien menderita kanker paru dengan gambaran histologisnya berjenis adenokarsinoma dengan mayoritas pasien menjalani kemoterapi.
2. Terdapat perbedaan bermakna kadar CRP antara IL-6 < 12,5 pg/mL dengan IL-6 ≥ 12,5 pg/mL pada pasien kanker paru
3. Terdapat perbedaan ekspresi myomiR-206 antara pre kahkesia dengan kaheksia namun tidak bermakna secara statistik
4. Tidak terdapat hubungan antara ekspresi myomiR-206 dengan IL-6.

6.2 Saran

1. Penurunan berat badan tidak bisa dijadikan indikator penurunan massa otot karena penurunan berat badan bisa juga dipengaruhi oleh penurunan massa lemak tubuh. Penelitian yang akan datang seharusnya dilakukan juga pengukuran terhadap massa otot dan lemak dengan menggunakan *cross-sectional computerized axial tomography and magnetic resonance*
2. Merekomendasikan penelitian lebih lanjut dengan pemeriksaan myomiR yang lain seperti myomiR-1, myomiR-133, myomiR-208b, myomiR-499. Karena proses myogenesis otot melibatkan banyak myomiR.
3. Merekomendasikan pemeriksaan melalui jaringan otot langsung untuk melihat ekspresi myomiR secara lebih akurat. Mengingat ekspresi myomiR sangat ditentukan oleh jenis otot.
4. Merekomendasikan penelitian berkelanjutan untuk melihat perkembangan lebih lanjut dalam waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Cancer Society. Cancer facts & figures 2015. Atlanta: American Cancer Society; 2015.
2. Stewart AJ, Srinivasan V, Surendran J, Chiramana H, Vangipuram S, Bhatt NN, Et al. The ACT-ONE Trial, a multicentre, randomised, double-blind, placebo controlled, dose finding study of the anabolic/catabolic transforming agent, MT-102 in subjects with cachexia related to stage III and IV non small cell lung Cancer and colorectal cancer: study design. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* . 2011 ; 2:201–7.
3. Von Haehling S, Anker SD. Prevalence, incidence and clinical impact of cachexia: facts and numbers—update 2014. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2014; 5:261–3.
4. Bozzetti F, Mariani L. Defining and Classifying Cancer Cachexia : A Proposal by the SCRINIO Working Group. *J Parenter Enteral Nutr*. 2009; 33(4) : 361–7
5. Srdic D, Plestina S, Peternac AS, Nikolac N, Simundic AN, Samarzija M, Cancer cachexia, sarcopenia and biochemical markers in patients with advanced non-small cell lung cancer—chemotherapy toxicity and prognostic value. *Supp. Care Cancer*. 2016.
6. Tan CR, Yaffee PM, Jamil LH, Lo SK, Nissen N, Pando SJ, et al. Pancreatic cancer cachexia : a review of mechanisms and therapeutics. *Front Physiol*. 2014; 5: 88.
7. Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Nakamura N, Inui A. Cancer cachexia pathophysiology and management. 2013. *J Gastroenterol*. 2013; 48 : 574–94.
8. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Science*. 2012; 122: 143–59.
9. Narsale AA, Carson JA. Role of IL-6 In Cachexia – Therapeutic Implications. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2014; 8(4): 321–7
10. Soares RJ, Cagnin S, Chemello F, Silvestrin M, Musaro A, De Pitta C, et al. Molecular based disease : Involvement of miRNAs in the regulation of muscle wasting during catabolic condition. *J Biol Chem*. 2014.
11. Winbanks CE, Ooi JY, Nguyen SS, McMullen JR, Bernardo BC. MicroRNAs differentially regulated in cardiac and skeletal muscle in health and disease: Potential drug targets?. *Proceedings of the Australian Physiological Society*. 2014; 45:1–13.

12. Novak J, Kruzliak P, Vasku JB, Slaby O, Novák M. MicroRNA-206: a promising theranostic marker. *Theranostics*. 2014; 4 (2) : 119–33.
13. Ma G, Wang Y, Li Y, Cui L, Zhao Y, Zhao B, Li K. MiR-206, a Key Modulator of Skeletal Muscle Development and Disease. *Int. J. Biol. Sci.* 2015; 11(3): 345–52.
14. Williams AH, Liu N, van Rooij E, Olson EN. MicroRNA control of muscle development and disease. *Curr Opin Cell Biol.* 2009; 21: 461–9.
15. Zhang J, Li S, Li L, Li M, Guo C, Yao J, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2015; 13: 17–24.
16. Camargo RG, Ribeiro HQT, Geraldo MV, Neto EM, Neves RQ, Carnevali Jr LC, et al. Cancer Cachexia and MicroRNAs. *Hindawi Pub. Corp.* 2015: 1–5.
17. Georgantas RW, Streicher K, Greenberg SA, Greenlees LM, Zhu W, Brohawn PZ, et al. Inhibition of Myogenic MicroRNAs 1, 133, and 206 by Inflammatory Cytokines Links Inflammation and Muscle Degeneration in Adult Inflammatory Myopathies. *Arthritis & Rheumatology.* 2014; 66(4) : 1022 – 33
18. Argiles JM, Lopez-Soriano FJ, Toledo M, Betancourt A, Serpe B, Busquets S. The cachexia score (CASCO): a new tool for staging cachectic cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2011; 2:87–93
19. Utech AE, Tadros EM, Hayes TG, Garcia JM. Predicting survival in cancer patients: the role of cachexia and hormonal, nutritional and inflammatory markers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2012; 3:245–51
20. Vaughan VC, Martin P, Lewandowski PA. Cancer cachexia: impact, mechanisms and emerging Treatments. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2013; 4:95–109
21. PDPI. 2003. kanker paru : Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia 2003. Available <http://www.klikpdpi.com/konsensus/konsensuekankerparu/kankerparu.pdf>
22. Meng X, Zhong J, Liu S, Murray M, Gonzalez-Angulo AM. A new hypothesis for the cancer mechanism *Cancer Metastasis Rev.* 2012; 31:247–68.
23. Sakuma K, Yamaguchi A. Sarcopenia and cachexia: the adaptations of negative regulators of skeletal muscle mass. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2012; 3:77–94
24. Zhou W, Jiang ZW, Tian J, Jiang J, Li N, Li JS. Role of NF- κ B and cytokine in experimental cancer cachexia. *World J Gastroenterol* 2003; 9(7): 1567–70

25. Tsujinaka T, Fujita J, Ebisui C, Yano M, Kominami E, Suzuki K, et al. Interleukin 6 Receptor Antibody Inhibits Muscle Atrophy and Modulates Proteolytic Systems in Interleukin 6 Transgenic Mice. *J. Clin. Invest.* 1996; 97(1) : 244–9
26. Belizário JE, Fontes-Oliveira CC, Borges JP, Kashiabara JA, Vannier E. Skeletal muscle wasting and renewal: a pivotal role of myokine IL-6. *SpringerPlus.* 2016; 5:619.
27. Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, et al. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. 1989; 242(2) : 237–9.
28. Banks RE, Forbes MA, Storr M, Higginson J, Thompson D, Raynest J, et al. the acute phase protein response in patients receiving subcutaneous il-6. *Clin exp immunol.* 1995; 102:217–23
29. Elkina Y, Von Haehling S, Anker SD, Springer J. The role of myostatin in muscle wasting: an overview. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2011; 2:143–51
30. Honors MA, Kinziq KP. The role of insulin resistance in the development of muscle wasting during cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2012; 3:5–11. doi 10.1007/s13539-011-0051-5.
31. Tisdale MJ. Mechanisms of Cancer Cachexia. *Physiol Rev.* 2009; 89: 381–410
32. Slack FJ, Weidhaas JB. MicroRNA in cancer prognosis. *New Engl J Med.* 2008; 359(25): 2720–2.
33. Xia HP. Great potential of microRNA in cancer stem cell. *J Cancer Mol.* 2008; 4(3): 79–89.
34. Lund AH. miR-10 in development and cancer. *Cell Death Diff.* 2010; 17: 209–14.
35. Nohata N, Hanazawa T, Enokida H, Seki N. MicroRNA-1/133a and microRNA-206/133b clusters: dysregulation and functional roles in human cancers. *Oncotarget.* 2012; 3(1): 9–21.
36. Reddy KB. MicroRNA (miRNA) in cancer. *Reddy Cancer Cell International.* 2015; 15:38.
37. Berardi E, Annibali D, Cassano M, Crippa S, Sampaolesi M. Molecular and cell-based therapies for muscle degeneration: a road under construction. *Front Physiol.* 2014; 5(119): 1–13.
38. Luo W, Nie Q, and Zhang X. MicroRNAs involved in skeletal muscle differentiation. *J Genet Genomics.* 2013; 40: 107–16.

39. Bhagavathi S, Czader M. MicroRNAs in benign and malignant hematopoiesis. *Arch Pathol Lab Med.* 2010; 134: 1276–80.
40. Sassen S, Miska EA, Caldas C. Micro-RNA – implications for cancer. *Virchows Arch.* 2008; 452: 1–10.
41. Kavitha N, Vijayarathna S, Jothy SL. MicroRNAs: Biogenesis, Roles for Carcinogenesis and as Potential Biomarkers for Cancer Diagnosis and Prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev,* 2014; 15 (18), 7489 – 97.
42. Kinose Y, Sawada K, Nakamura K, Kimura T. The role of miRNAs in ovarian cancer. *BioMed Research International.* 2014.
43. Langley B, Thomas M, Bishop A, Sharma M, Gilmour S, Kambadur R. Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating myoD expression. *J Biol Chem.* 2002; 277(51): 49831–40.
44. McNally EM. Powerful genes – myostatin regulation of human muscle mass. *N Engl J Med.* 2004; 350(26): 2642–4.
45. Clop A, Marcq F, Takeda H, Pirottin D, Tordoir X, Bibe B, et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat Genet.* 2006; 38: 813–8.
46. McCarthy JJ. MicroRNA-206: The skeletal muscle-specific myomiRs. *Biochim Biophys Acta.* 2008; 1779(11): 682–91.
47. Von Haehling S, Anker SD. Cachexia as a mayor underestimated and unmet medical need : facts and number. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2010; 1 : 1–5.
48. Direktur Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan. Pedoman Interpretasi Data Klinik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011 : 1–83
49. Mizuno H, Nakamura A, Aoki Y, Ito N, Kishi S, Yamamoto K, et al. Identification of muscle spesific micro RNAs in serum of muscular dystrophy animal models : promising novel blood Based markers for muscular dystrophy. *Plos One.* 2011; 6(3) : 18–88.
50. Farkas J, Von Haehling S, Zadeh KK, Morley ZE, Anker SD, Lainscak M. Cachexia as a major public health problem: frequent, costly, and deadly. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2013; 4:173–8
51. Cho W. OncomiRs: the discovery and progress of microRNAs in cancers. *Molecular Cancer.* 2007; 6:60 doi:10.1186/1476-4598-6-60.

52. Pakzad R, Hafshejani AM, Ghoncheh M, Pakza I, Salehiniya H. The incidence and mortality of lung cancer and their relationship to development in Asia. *Transl Lung Cancer Res* 2015;4(6):763–774
53. Youlten DR, Cramb SM, Baade PD. The International Epidemiology of Lung Cancer : Geographical Distribution and Secular Trends. *J. Thorac Oncol.* 2008; 3 : 8
54. Yang P, Cerhan JR, Vierkant RA, Olson JE, Vachon CM, Limburg PJ, et al. Adenocarcinoma of the Lung Is Strongly Associated with Cigarette Smoking : Further Evidence from a Prospective Study of Women. *Am J Epidemiol* 2002; 156 : 1114–22
55. National Institute of Health Research and Development Ministry of Health. Global Adult Tobacco survey: indonesia report 2011.
56. Gironés R, López P, Chulvi R, Cañabate M, Dolores TM. Ten years of lung cancer in a single center: gender, histology, stage and survival. *J. Cancer Metastasis and Treatment.* 2015; 1(3) : 201–7.
57. Furrukh M. Tobacco Smoking and Lung Cancer Perception-changing facts. *Sultan Qaboos University Med J.* 2013; 13(3) : 34 –58
58. Songür N, Kuru B, Kalkan F, Ozdilekcan C, Cakmak H, Hizel N. Serum interleukin-6 levels correlate with malnutrition and survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Tumori.* 2004; 90: 196–200.
59. Agrawal A, Cha-Molstad H, Samols D, Kushner I, Transactivation of C – Reactive Protein by IL-6 Requires Synergistic Interaction of CCAAT/Enhancer Binding Protein b(C/EBPb) and Rel p501. *J Immunol.* 2001; 166:2378–84
60. Ballmer PE. Causes and mechanisms of hypoalbuminaemia. *Clin Nut.* 2001; 20(3): 271–3
61. Tourkantonis I, Kiagia M, Peponi E, Tsagouli S, Syrigos KN. The Role of Leptin in Cancer Pathogenesis. *Journal of Cancer Therapy.* 2013; 4 : 640–50
62. Alemaín MR, Santolaria F, Batista N, de la Vega MJ, Gonzaález-Reimers E, Milena A, et al. Leptin role in advanced lung cancer. A Mediator of the acute phase response Or a marker of the status of nutrition?. *Cytokine.* 2002; 19(1) : 21–26
63. Don BR, Kaysen G. Serum Albumin: Relationship to Inflammation and Nutrition. *Sem. Dialys.* 2004; 17(6) : 432 – 7
64. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin Invest.* 2004; 113(9) : 1271 – 6

65. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *PNAS*. 2002; 99(7) : 4596–4601
66. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *PNAS*. 2001; 98(15) : 8780–5
67. Letilovic T, Perkovic S, Mestric ZF, Vrhovac R. Differences in routine laboratory parameters related to cachexia between patients with hematological diseases and patients with solid tumors or heart failure – is there only one cachexia?. *Nutrition Journal*. 2013; 12(6) : 1–8
68. Scott HR, McMillan DC, Crilly A, McArdle CS, Milroy R. The relationship between weight loss and interleukin 6 in non-small-cell lung. *Cancer. BJ. Cancer*. 1996. 73 : 1560–62
69. Bonetto A, Aydogdu T, Kunzevitzky N, Guttridge DC, Khuri S, Koniaris LG, et al. STAT3 Activation in Skeletal Muscle Links Muscle Wasting and the Acute Phase Response in Cancer Cachexia. *PloS One*. 2011; 6(7) : e22538
70. White JP, Puppa MJ, Gao S, Sato S, Welle SL, Carson JA. Muscle mTORC1 suppression by IL-6 during cancer cachexia: a role for AMPK. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013; 304 : E1042–E1052
71. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A. Foxo Transcription Factors Induce the Atrophy-Related Ubiquitin Ligase Atrogin-1 and Cause Skeletal Muscle Atrophy. *Cell*. 2004; 117(3): 399–412.
72. McGregor RA. Skeletal muscle microRNAs in human cancer cachexia and Type 2 diabetes. 2009.
73. Shan, Z., Lin, Q., Fu, Y., Deng, C., Zhou, Z., Zhu, J., et al. Up-regulated expression of miR-1/miR-206 in a rat model of myocardial infarction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2009; 381(4), 597–601.
74. Huang, Q., Nai, Y., Jiang, Z., & Li, J. . Change of the growth hormone-insulin like growth factor-I axis in patients with gastrointestinal cancer: related to tumour type and nutritional status. *British Journal of Nutrition*. 2005; 93(6), 853–8.
75. S.A. Reed, P.B. Sandesara, S. M. Senf, and A.R. Judge. Inhibition of FoxO transcriptional activity prevents muscle fiber atrophy during cachexia and induces hypertrophy.” *FASEB J*. 2012; 26(3) : 987–1000.


76. Cunningham JT, Rodgers JT, Arlow DH, Vazquez F, Mootha VK, Puigserver P. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1–PGC-1 α transcriptional complex. *Nature*. 2007; 450 : 736–40
77. Blättler SM, Cunningham JT, Verdeguer F, Chim H, Haas W, Liu H, et al. Yin Yang 1 deficiency in skeletal muscle protects against rapamycin-induced diabetic-like symptoms through activation of insulin/IGF signaling. *Cell Metab*. 2012; 15(4): 505–517
78. Rao PK, Kumar RM, Farkhondeh M, Baskerville S, Lodish HF. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. *PNAS*. 2006; 103 (23) : 8721–6
79. Liu N, Williams AH, Maxeiner JM, Bezprozvannaya S, Shelton JM, Richardson JA, et al. microRNA-206 promotes skeletal muscle regeneration and delays progression of Duchenne muscular dystrophy in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122 : 2054–65.
80. Huang QK, Qiao HY, Fu MH, Li G, Li WB, Chen Z, et al. MiR-206 Attenuates Denervation-Induced Skeletal Muscle Atrophy in Rats Through Regulation of Satellite Cell Differentiation via TGF- β 1, Smad3, and HDAC4 Signaling. *Med Sci Monit*. 2016; 22: 1161–70
81. McCarthy JJ, Esser KA, Andrade FH. MicroRNA-206 is overexpressed in the diaphragm but not the hindlimb muscle of mdx mouse. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 293: 451–7.
82. Kassam-Duchossoy L, Giaccone E, Gayraud-Morel B, Jory A, Gomes D, Tajbakhsh S. Pax3/Pax7 mark a novel population of primitive myogenic cells during development. *Genes Dev*. 2005; 19: 1426 – 31.
83. Zammit PS, Relaix F, Nagata Y, Ruiz AP, Collins CA, Partridge TA, et al. Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *J Cell Sci*. 2006; 119: 1824–32.
84. Chen JF, Tao Y, Li J, Deng Z, Yan Z, Xiao X, et al. microRNA-1 and microRNA-206 regulate skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by repressing Pax7. *J Cell Biol*. 2010; 190: 867–79.
85. Hirai H, Verma M, Watanabe S, Tastad C, Asakura Y, Asakura A. MyoD regulates apoptosis of myoblasts through microRNA-mediated down-regulation of Pax3. *J Cell Biol*. 2010; 191: 347–65.

86. Rosenberg MI, Georges SA, Asawachaicharn A, Analau E, Tapscott SJ. MyoD inhibits Fstl1 and Utrn expression by inducing transcription of miR-206. *J Cell Biol.* 2006; 175: 77–85.
87. Weber, M., Krakowski-Roosen, H., Schröder, L., Kinscherf, R., Krix, M., Kopp-Schneider, A., et al. Morphology, metabolism, microcirculation, and strength of skeletal muscles in cancer-related cachexia. *Acta Oncologica.* 2009; 48(1), 116–24.
88. Shen W, Punyanitya M, Wang Z, Gallagher D, St-Onge MP, Albu J, et al. Total body skeletal muscle and adipose tissue volumes: estimation from a single abdominal cross-sectional image. *J Appl Physiol.* 2004; 97 : 2333–8

LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Lolos Kaji Etik

P.O. BOX 1358
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922977, 3927360, 3153236,
F 62 21 3912477, 31930372, 3157288.
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

 UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Nomor : B47 /UN2.F1/ETIK/2015

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

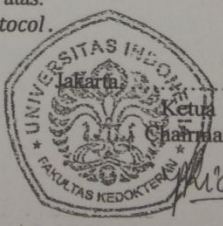
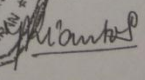
The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Hubungan antara MIR-1 dan MIR-206 dengan Kaheksia pada Pasien Kanker Paru dan Kanker Kepala Leher di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta".

Peneliti Utama : Dr. dr. Noorwati Sutandyo, SpPD-KHOM
Principal Investigator

Nama Institusi : Ilmu Penyakit Dalam RS Kanker Dharmais
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
And approved the above-mentioned protocol.

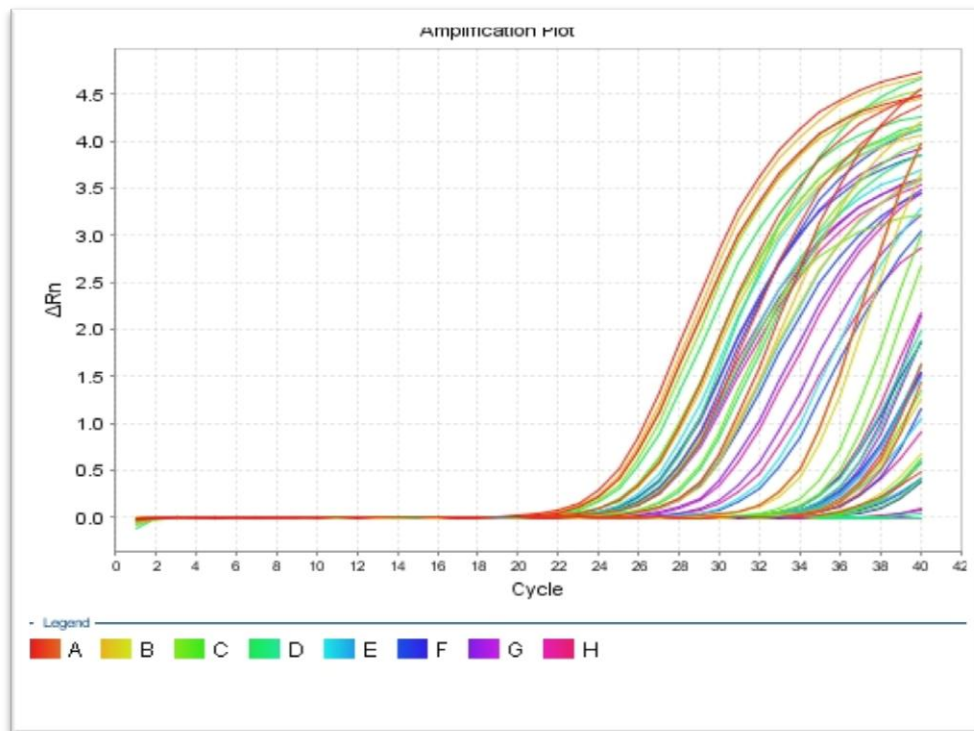
 05 OCT 2015
Ketua
Chairman

Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, SpFK

**Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan*
***Peneliti berkewajiban*

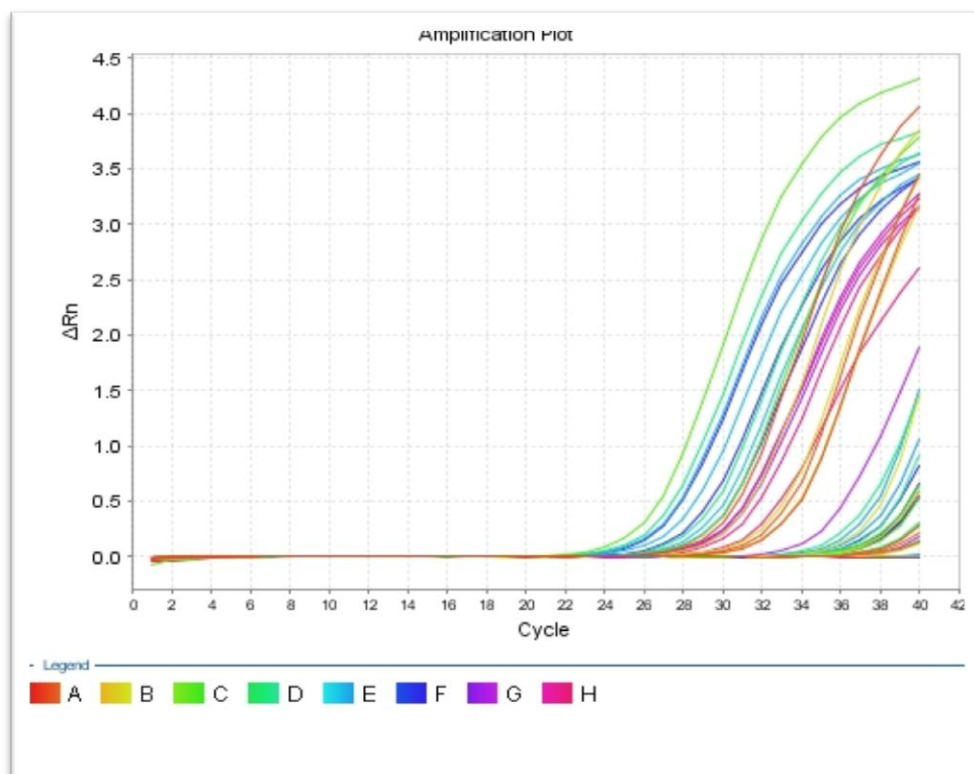
1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Semua prosedur persetujuan dilakukan sesuai dengan standar ICH-GCP.
All procedures of Ethical Approval are performed in accordance with ICH-GCP standard procedure.

Lampiran 2. Hasil Amplifikasi control, miRNA-16 dan myomiR-206



Kelompok kaheksia dan kontrol



Kelompok pre kaheksia

INFORMED CONSENT

Perkenalkan nama saya DR dr Noorwati Sutandyo SpPD – KHOM, dr Agus Rahmadi, kami bermaksud melakukan penelitian mengenai hubungan antara myomiR–206 dengan kaheksia pada pasien kanker paru di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta. Penelitian ini dilakukan untuk melihat profil kaheksia pada kanker paru

Saya berharap Bapak/Ibu bersedia untuk menjadi responden dalam penelitian ini dimana akan dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium terkait dengan penelitian.

Semua informasi yang Bapak/Ibu berikan terjamin kerahasiaannya. Setelah Bapak/Ibu maksud dari kegiatan penelitian di atas, maka saya mohon untuk mengisi nama dan tanda tangan di bawah ini

Saya setuju untuk ikut dalam penelitian ini

Nama :

Tandatangan :

Terima kasih atas kesediaan Bapak/Ibu untuk ikut serta dalam penelitian ini.