

**EKSPRESI VEGF-A DAN REAKSI DESMOPLASIA SEBAGAI
FAKTOR POTENSIAL PROGRESIVITAS PADA PASIEN KANKER
KOLOREKTAL USIA MUDA**

TESIS

**ADITYAWATI GANGGAISWARI
NPM 0706170886**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
KEKHUSUSAN ONKOLOGI
JAKARTA
JUNI 2009**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Adityawati Ganggaiswari

NPM : 0706170886

Tanda Tangan :



Tanggal : 23 Juni 2009

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Adityawati Ganggaiswari
NPM : 0706170886
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Onkologi
Judul Tesis : Ekspresi VEGF-A dan Reaksi Desmoplasia sebagai Faktor potensial progresivitas pada pasien kanker kolorektal usia muda

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. dr. Siti Boedina Kresno, SpPK (K)

Pembimbing II : dr. Ening Krisnuhoni, SpPA (K)

Penguji I : DR.dr. Aru W. Sudoyo, SpPD, KHOM, FACP

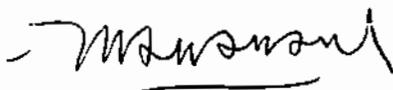
Penguji II : Dr.rer.nat.Dra. Asmarinah, MS

Penguji III : dr. Nurjati Chaerani Siregar, SpPA(K), PhD

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 23 Juni 2009

Kepua Program Studi Magister Ilmu Biomedik



Dr.rer.physiol.dr.Septelia Inawati Wanandi

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena hanya atas berkah dan karunia-Nya maka penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan ini. Salam dan shalawat saya sampaikan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, yang telah menyampaikan ajaran dan tuntunan berakhlak mulia, yang menjadi suri tauladan bagi kita semua.

Tesis ini dilaksanakan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi Program Magister Ilmu Biomedik dalam Tesis yang berjudul **Ekspresi VEGF dan Reaksi Desmoplasia sebagai faktor Potensial Progresivitas pada pasien kanker kolorektal usia muda.**

Keseluruhan pendidikan program studi yang saya jalani, mulai dari perkuliahan, bimbingan kekhususan, penelitian sampai penyusunan dan penulisan tesis ini tidak mungkin terlaksana tanpa bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, izinkan saya menyampaikan ucapan terima kasih yang setulusnya terutama kepada :

1. Dr. dr. Ratna Sitompul, Sp.M (K) sebagai dekan FKUI dan Prof. dr. Menaldi Rasmin Sp.P (K), FCCP sebagai Dekan periode 2004-2008 yang menerima saya sebagai mahasiswa biomedik .
2. Dr. rer. physiol.dr. Septelia Inawati W sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan pengajaran dan pengarahan selama saya menjalankan pendidikan.
3. Prof. dr. Siti Boedina Kresno, SpPK (K) sebagai Ketua Kekhususan Onkologi, Ketua IV PP Yayasan Kanker Indonesia, yang sekaligus juga sebagai pembimbing dalam penelitian dan penulisan tesis saya. Beliau selalu dengan sabar membimbing, mengarahkan dan memberikan dukungan kepada saya. Terimakasih yang tak terhingga saya haturkan atas semua bimbingan, koreksi, arahan dan dukungan yang diberikan dari sejak awal saya mengikuti pendidikan.
4. Ny. Karlinah Umar Wirahadikusumah, Ketua Pembina Yayasan Kanker Indonesia beserta seluruh Pembina YKI, Ny. Sri Murti Ali Said, Ny. Suyetty Wardhanto, Ny. T. Satrio Sasono, DR. dr. FA. Moelock, SpOG, yang sejak awal memberikan dorongan semangat dan dukungan yang besar kepada saya serta memberikan bantuan sebagian dana untuk menjalani pendidikan ini.

5. Ny. Adiati Arifin M Siregar, Ketua Umum Yayasan Kanker Indonesia, yang sejak awal selalu memberikan dukungan dan perhatian yang besar selama saya mengikuti pendidikan ini serta telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini.
6. DR. dr. Aida Suriadiredja, SpKK (K) sebagai Sekretaris Kekhususan Onkologi yang ditengah kesibukan beliau selalu bersedia membantu dan mengingatkan saya akan banyak hal selama dalam pendidikan.
7. dr. Endang Sri Roostini Hardjolukito, SpPA (K), Ketua Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, dosen, yang telah mengizinkan dan memberikan kesempatan kepada saya untuk melaksanakan penelitian di departemen PA hingga selesai.
8. dr. Ening Krisnuhoni, SpPA (K), dosen, pembimbing dalam penelitian dan tesis ini. Ditengah kesibukan beliau, beliau selalu dengan sabar dan lemah lembut menyempatkan untuk membimbing, mengarahkan dan mendukung saya hingga penelitian ini selesai. Terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan atas waktu, bimbingan dan dukungan yang diberikan selama ini.
9. DR. dr. Aru W. Sudoyo, SpPD, KHOM, FACP, sebagai dosen, anggota bidang Pelayanan Sosial PP Yayasan Kanker Indonesia, yang semenjak awal sebelum saya mulai mengikuti pendidikan ini, kepada beliau lah saya selalu berkonsultasi dan mohon pendapat. Ditengah kesibukan beliau yang begitu padat, beliau masih menyempatkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan dan dukungan terus menerus hingga penelitian dan tesis saya selesai. Terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan atas waktu dan dukungan serta perhatian yang diberikan selama ini.
10. Dr. Maryantoro Oemardi, SpPD, KEMD, yang selama ini telah banyak memberikan bimbingan dan pengarahannya terutama dalam bidang statistik semenjak proposal hingga penelitian dan tesis ini selesai. Terima kasih tak terhingga saya sampaikan atas waktu, bimbingan serta dukungan terus menerus yang diberikan.

11. dr. Melissa S. Luwia, MHA dan dr. Sumarjati Arjoso, SKM, Ketua II dan Ketua III PP YKI, yang sejak awal telah memberikan dukungan kepada saya untuk mengikuti pendidikan ini. Terima kasih atas dukungan dan pengertian yang diberikan selama ini.
12. dr. Utari Drijatsiwi, Kepala Klinik Deteksi Dini YKI, sejawat, teman, sahabat, kakak, yang selama saya mengikuti pendidikan, beliau telah banyak membantu meringankan pekerjaan saya di YKI dan selalu memberikan semangat.
13. Seluruh Guru dan staf di Departemen Patologi Anatomi FKUI, dr. Dyah Rini Handjari, SpPA, yang telah banyak membantu saya ditengah kesibukan beliau, terutama dalam memilihkan sampel-sampel penelitian. Dra. Ria Kodaria, MS, Kepala Laboratorium Imunopatologi, yang telah membantu secara administratif dari sejak awal saya akan mulai penelitian saya. Mbak Upik Sri Widianingsih, Pak Dedi Rushadi, Pak Udin Ichwanudin, mas Pahang Pihanto dan mas Eko Prapujianto, yang telah selalu bersedia membantu saya dalam mencarikan sampel-sampel, mencarikan blok-blok parafin jaringan, membantu memotong blok-blok parafin menjadi sediaan unstained dan membantu saya setiap kali saya mewarnai slide-slide dengan pewarnaan rutin maupun imunohistokimia. Terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan atas semua perhatian dan bantuan yang diberikan serta suasana bekerja yang selalu menyenangkan.
14. Seluruh teman-teman seangkatan selama pendidikan biomedik terutama kekhususan onkologi, semoga hubungan pribadi, keakraban, saling mengingatkan, membantu, menunjang, kebersamaan yang tidak mengenal batas usia yang terbina selama ini dapat dilanjutkan terus.
15. Kepada seluruh staf sekretariat program studi magister biomedik, pak Dani, pak Zacky dan mbak Ella di sekretariat FKUI, dan mbak Tika di sekretariat kekhususan onkologi di RS Kanker Dharmais, terima kasih atas semua bantuannya terutama dalam melaksanakan semua proses-proses administrasi, perkuliahan dan seminar-seminar serta ujian-ujian dan penulisan tesis hingga semua berjalan lancar.
16. Penghormatan dan terimakasih yang tiada tara kepada guru-guru saya yang telah mengajarkan berbagai ilmu kepada saya sejak Taman Kanak-kanak hingga

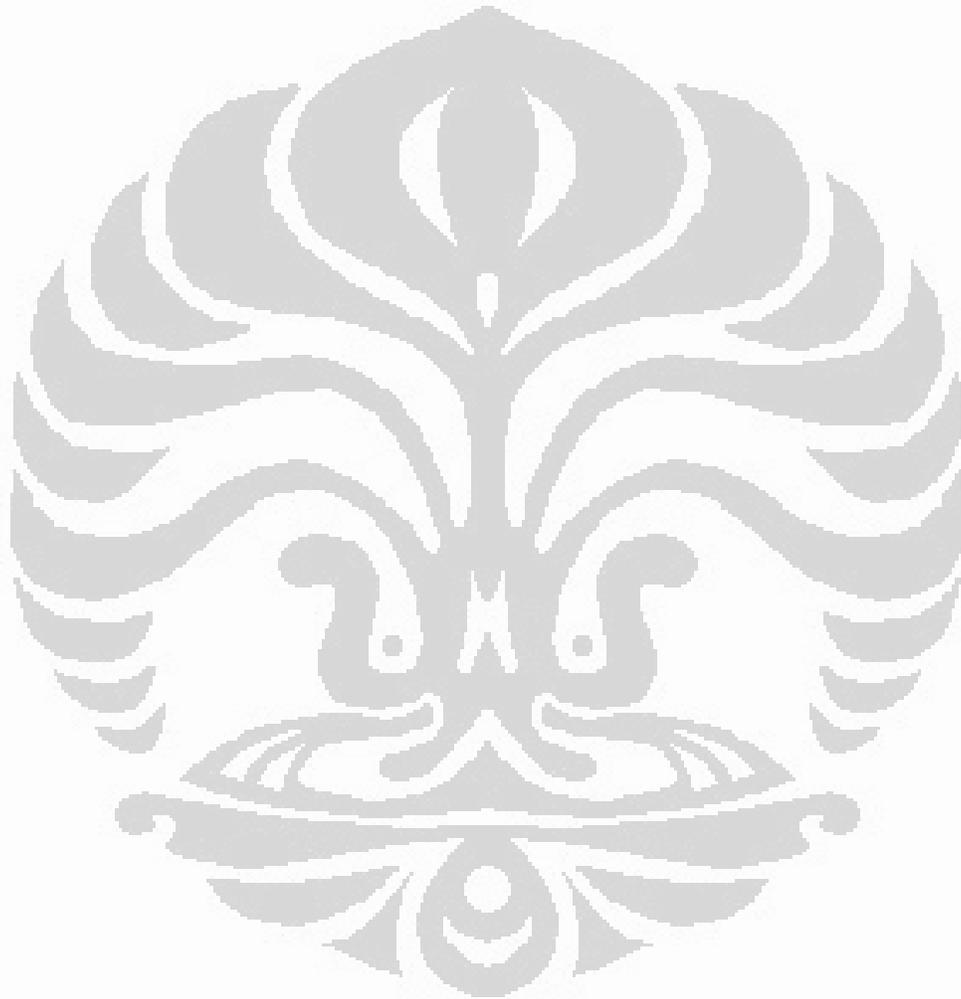
perguruan tinggi termasuk program magister ini, baik dari FKUI/RSCM maupun dari RS Kanker Dharmais.

17. Bapak H. Wachjoe Pienandoro, SH dan Ibu Hj. Siti Koestinah, kedua orang tua yang sangat saya cintai, yang telah membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang dengan cintanya yang tanpa batas. Beliau berdua selalu menekankan bahwa belajar itu tidak ada batasnya, dan selalu mendorong putra putrinya untuk mengikuti pendidikan setinggi-tingginya. Matur nuwun yang tak terhingga saya haturkan atas cinta dan perhatian serta dukungan selama ini terutama dalam saya mengikuti pendidikan.
18. Bapak PKT Parengkuan dan Ibu Frieda Elvire Mooyman, bapak dan ibu mertua tercinta, saya sampaikan rasa hormat dan terima kasih untuk segala perhatian, dukungan serta cinta kasih yang diberikan selama ini.
19. Suamiku tercinta, John TC Parengkuan, yang selama saya menjalani pendidikan selalu memberikan semangat, dorongan serta pengertian dan toleransi yang sangat besar, hingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini. Terima kasih atas kesabaran dan pengertian serta cinta yang selalu diberikan selama ini. Kepada anak-anakku tersayang, Michael Sean Fathony dan Arique Helmi Basili, kalian adalah mutiara-mutiara mama, yang merupakan pelita, sumber inspirasi dan kebahagiaan mama, yang selalu menjadi penyemangat mama untuk segera menyelesaikan pendidikan ini. Maafkan mama untuk banyak kehilangan waktu dalam membimbing kalian.
20. Adik-adik ku tersayang, Wachdanya Thoersina Argeswara, BM beserta istri, dra. Tika Prihastianti Bisono, dan Salsabilla Fithreswari, BSc beserta suami, Helmi Rizal Zamzami, BSc, terima kasih untuk selalu memberikan dukungan moril dan semangat yang tak pernah putus.
21. Serta semua pihak yang telah membantu penelitian dan penyusunan tesis ini, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga semua kebaikan yang telah diberikan senantiasa mendapat balasan dari Allah SWT. Dengan segala kerendahan hati saya menyadari bahwa tidak ada karya yang sempurna selain Maha Karya-Nya. Oleh karena itu kepada

segenap pembaca karya kecil ini, saya menghaturkan penghargaan dan ucapan terima kasih serta tidak menutup mata untuk koreksinya.

Jakarta, 23 Juni 2009



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

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

Nama : Adityawati Ganggaiswari
NPM : 0706170886
Program Studi : Pasca Sarjana Ilmu Biomedik
Departemen : Onkologi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

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

Ekspresi VEGF dan Reaksi Desmoplasia sebagai faktor potensial progresivitas pada pasien kanker kolorektal usia muda

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/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 : 23 Juni 2009

Yang Menyatakan



(Adityawati Ganggaiswari)

ABSTRAK

Nama : Adityawati Ganggaiswari
Program Studi : Ilmu Biomedik kekhususan Onkologi
Judul : Ekspresi VEGF-A dan Reaksi Desmoplastik sebagai Faktor Potensial Progresivitas pada pasien kanker kolorektal usia muda

Latar belakang :

Beberapa data dari luar negeri menunjukkan kanker kolorektal predominan terjadi pada populasi usia yang lebih tua (lebih dari 60 tahun). Kanker kolorektal yang terjadi pada usia lebih muda (kurang dari 40 tahun) hanya berkisar antara 3-6%. Dari penelitian terdahulu dilaporkan bahwa kanker kolorektal pada pasien usia muda cenderung memiliki gambaran perilaku tumor yang agresif dengan prognosis buruk. Pada beberapa penelitian, progresivitas dan prognosis yang buruk pada kanker kolorektal, dikaitkan dengan peristiwa angiogenesis. VEGF merupakan salah satu sitokin poten yang terlibat dalam proses angiogenesis sehingga tingginya kadar ekspresi VEGF berhubungan dengan progresivitas penyakit yang lebih tinggi dan prognosis yang buruk. *Cancer-associated stroma* mengalami perubahan-perubahan dinamis yang menyerupai reaksi penyembuhan luka, disebut sebagai reaksi desmoplastik. Reaksi ini didukung terutama oleh aktivasi "myofibroblas". Beberapa penelitian menunjukkan bahwa myofibroblas mempunyai peran untuk memfasilitasi tumorigenesis dan progresi beberapa karsinoma, dan dikenal sebagai suatu petanda penting yang potensial untuk diagnosis, pengobatan dan prognosis kanker.

Hasil :

Pada penelitian ini terlihat ekspresi VEGF-A pada usia muda dan usia tua hampir tidak berbeda, namun terdapat perbedaan yang bermakna pada reaksi desmoplastik usia muda dibandingkan pada usia tua. Nampak pula hubungan yang sejalan antara ekspresi VEGF-A positif kuat dengan reaksi desmoplastik yang keras pada kanker kolorektal usia muda. Hal ini menyokong hipotesa kedua dan ketiga dari penelitian ini.

Kesimpulan :

Progresivitas penyakit yang lebih tinggi dan prognosis yang buruk pada pasien kanker kolorektal usia muda kemungkinan disebabkan oleh faktor-faktor lain selain VEGF, yang masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kata kunci :

kanker kolorektal, usia muda, VEGF, reaksi desmoplastik.

ABSTRACT

Name : Adityawati Ganggaiswari
Program Study : Biomedic Science (Major Oncology)
Title : Expression of VEGF-A and Desmoplastic Reaction as a
Progressiveness Potential Risk Factor in Young
Colorectal Cancer

Background :

Some of the data from abroad shows that colorectal cancer predominantly occurred in the elderly population (above 60 year) whereas the younger age (less than 40 year) occurred only between 3-6%.

From previous research it was reported that colorectal cancer in younger patients apparently have an aggressive tumor behavior with poor prognosis. At several research, progressiveness and poor prognosis of colorectal cancer is connected with the angiogenesis process. VEGF is one of the most potent cytokine which is involved in the angiogenesis process so that the high grade VEGF expression correlated with the higher progressiveness of the disease and poor prognosis. Cancer-associated stroma experiences dynamic alterations which resembles the wound healing reaction, known as desmoplastic reaction. This reaction is mainly supported by "myofibroblast" activation. Some research indicated that myofibroblast has the role in facilitating tumorigenesis and progression of several carcinoma, and also known as an important marking potential for diagnosis, medication and cancer prognosis.

Result :

This research showed no significant difference between the expression of VEGF-A at young age and old age, but there is a significant difference in desmoplastic reaction in young age compared to old age. It also appeared the co-relationship between strong positive VEGF-A expression and the strong desmoplastic reaction at young age colorectal cancer.

This will endorse the second and third hypothesis of this research.

Conclusion :

A higher disease progressiveness and poor prognosis at young age colorectal cancer patients may be caused by factors other than VEGF, which still need further investigation.

Key words:

colorectal cancer, young age, VEGF, desmoplastic reaction.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	ix
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	5
1.3 Hipotesis	5
1.4 Tujuan.....	5
1.5 Makna Riset.....	6
2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Epidemiologi.....	7
2.2 Perangai Biologik Kanker Kolorektal.....	10
2.3 Faktor Pertumbuhan Endotel Vaskular (VEGF).....	13
2.3.1 Peran dan Aktivitas VEGF pada angiogenesis.....	17
2.3.2 Regulasi ekspresi VEGF pada Kanker Kolorektal.....	19
2.3.3 Ekspresi VEGF pada kanker kolorektal.....	22
2.4 Stroma Kanker – Reaksi Desmoplasia.....	23
3 METODE PENELITIAN.....	27
3.1 Kerangka Konsep.....	27
3.2 Desain Penelitian.....	28
3.3 Lokasi Penelitian.....	28
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	28
3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	28
3.5.1 Kriteria Inklusi.....	28
3.5.2 Kriteria Eksklusi.....	29
3.6. Besar Sampel.....	29
3.7 Cara Kerja.....	30
3.7.1 Bahan.....	30
3.7.2 Metode pemeriksaan.....	30
3.7.2.1 Cara kerja.....	30
3.7.2.2 Prosedur Laboratorium.....	31

3.8	Cara Mengukur Ekspresi VEGF	33
3.9	Cara Menilai Reaksi Desmoplasia.....	33
3.10	Pentahapan (<i>grading</i>).....	34
3.11	Rencana Analisa Data dan Cara Analisa Data.....	34
3.12	Definisi Operasional.....	34
3.13	Alur Penelitian.....	35
4	HASIL PENELITIAN.....	36
4.1	Karakteristik Subyek Penelitian.....	36
4.2	Histopatologi dan pentahapan.....	36
4.3	Hasil Pulasan Imunohistokimia VEGF.....	37
4.4	Hasil Pulasan Hematoksilin Eosin	40
5	PEMBAHASAN.....	44
6	KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
	DAFTAR REFERENSI	54
	LAMPIRAN.....	55
	RIWAYAT HIDUP.....	61
	DRAFT ARTIKEL.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Karakteristik Demografi.....	36
Tabel 4.2	Karakteristik jenis Histopatologi dan <i>Grading</i> pada kelompok usia <40 tahun dan usia >60 tahun.....	37
Tabel 4.3	Hubungan VEGF-A pada kelompok usia <40 tahun dan > 60 tahun dengan jenis tumor, <i>Grading</i> dan Reaksi Desmoplastik...	38
Tabel 4.4	Hubungan VEGF-A dengan kelompok usia < 40 tahun dan kelompok usia > 60 tahun	39
Tabel 4.5	Hubungan VEGF-A (+) kuat pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun dengan jenis tumor, <i>Grading</i> dan Reaksi Desmoplastik.....	40
Tabel 4.6	Hubungan VEGF-A dengan Reaksi Desmoplastik pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun.....	41
Tabel 4.7	Hubungan Reaksi Desmoplastik dengan <i>Grade</i> tumor pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun.....	42
Tabel 4.8	Hubungan reaksi desmoplasia dengan <i>grade</i> tumor pada kedua kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun.....	42
Tabel 4.9	Hubungan reaksi desmoplasia dengan jenis kelamin pada total sampel.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Distribusi kasus kanker kolorektal di Jakarta tahun 1995.....	9
Gambar 2.2	Suatu konsep model karsinogenesis yang teraplikasi.....	11
Gambar 2.3	Sekuens adenoma-karsinoma.....	12
Gambar 2.4	Keluarga VEGF dan reseptor-reseptornya.....	17
Gambar 2.5	Karakteristik tumor dan lingkungannya.....	19
Gambar 2.6	Jalur HIF-1 α pada keadaan normoksia dan hipoksia.....	21
Gambar 2.7	Peran sel-sel imun selama perkembangan kanker.....	24
Gambar 2.8	Faktor yang terlibat dalam TAM dihubungkan dengan angiogenesis.....	25
Gambar 3.1	Kerangka konsep penelitian.....	27
Gambar 3.2	Alur Penelitian.....	35
Gambar 4.1	Hasil Pulasan Imunohistokimia.....	38
Gambar 4.2	Diagram <i>pie</i> yang memperlihatkan ekspresi VEGF-A (+) kuat dan (+) ringan.....	39
Gambar 4.3	Hasil Pulasan Hematoksilin Eosin – Reaksi Desmoplastik....	41

DAFTAR SINGKATAN

1. VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
2. VEGFR : *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*
3. HNPCC : *Hereditary Non Poliposis Colorectal Cancer*
4. VPF : *Vascular Permeability Factor*
5. aFGF : *acidic Fibroblast Growth Factor*
6. bFGF : *basic Fibroblast Growth Factor*
7. HIF : *Hypoxia Inducible Factor*
8. TAM : *Tumor Associated Macrophag*
9. VHL : *Von Hippel Lindau*
10. CAF : *Carcinoma Associated Fibroblast*
11. ECM : *Extra Cellular Matrix*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Laporan dari negara maju menunjukkan kanker kolorektal secara predominan ditemukan pada populasi usia yang lebih tua (60 tahun atau lebih), dan kanker kolorektal yang terjadi pada pasien usia 40 tahun dilaporkan dalam literatur-literatur dari Amerika dan Eropa hanya ditemukan pada sekitar 2-8 persen.⁽¹⁾ Sedang di Singapore dilaporkan pada periode april 1989 sampai dengan 1992, terdapat 5.9 persen pasien kanker kolorektal usia 40 tahun atau kurang.⁽²⁾ Dari laporan Direktorat Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI bersama Perhimpunan Patologi Anatomi Indonesia pada tahun 1995 diperoleh data dari beberapa tempat di Indonesia yang memperlihatkan usia yang lebih muda pada waktu di diagnosa. Kanker kolorektal yang terjadi pada pasien usia muda (40 tahun atau kurang) cenderung memiliki gambaran perilaku tumor yang agresif dengan prognosis yang buruk. Karakteristik yang diperoleh memperlihatkan gambaran karsinoma berdiferensiasi buruk, jenis adenokarsinoma tipe musin yang memiliki prognosis buruk, stadium lanjut dan sering dijumpai adanya invasi kelenjar limfa yang secara statistik bermakna. Berdasarkan hasil temuan tersebut seringkali disebut bahwa perilaku tumor yang agresif merupakan karakteristik kanker kolorektal pada pasien usia muda.^(3, 4)

Berdasarkan ada tidaknya mutasi germ line pada kanker kolorektal ini maka kanker kolorektal dibedakan atas dua tipe, yaitu tipe herediter dan tipe sporadik. Kanker kolorektal tipe sporadik adalah kanker yang terjadinya tidak didasari atas kelainan herediter. Menurut Sudoyo AW⁽⁵⁾, kanker kolorektal usia muda pada orang Indonesia pribumi yang diwakili oleh suku Jawa, Sunda, Minang dan Makassar tidak ada yang dapat dikelompokkan dalam kanker kolorektal herediter berdasarkan hasil wawancara yang menggunakan

perangkat kriteria Amsterdam sehingga dapat dimasukkan dalam kategori kanker kolorektal sporadik.

Transformasi keganasan epitel kolorektal secara khas terjadi sebagai proses bertahap berupa *multistep*, *multipath*, *multifocal* yang pada akhirnya mengakibatkan kerusakan yang kumulatif pada beberapa gen di dalam dan lintas generasi selular. ⁽⁶⁾

Sebagian besar penderita kanker usia muda di Rumah Sakit Umum (RSU) Cipto Mangunkusumo cenderung berada pada stadium yang cukup lanjut pada waktu di diagnosis* sehingga mengakibatkan survival yang mengecewakan. ⁽⁷⁾ Meskipun penggunaan strategi penapisan meningkat, namun ternyata lebih dari sepertiga pasien kanker kolorektal akhirnya akan mengalami metastasis. Beberapa pilihan pengobatan baru juga telah tersedia untuk kanker kolorektal, namun kebanyakan pasien akhirnya akan meninggal karena metastasis yang tidak terkontrol dalam waktu singkat setelah di diagnosis. ⁽⁸⁾ Salah satu komponen terjadinya metastasis adalah neoangiogenesis.

Proses neoangiogenesis terjadi pada kehamilan, proses penyembuhan jaringan dan pada proses patogenesis penyakit, dalam hal ini keganasan. Proses ini diperantarai oleh sitokin angiogenesis menyebabkan terjadinya pembentukan sel-sel endotel yang baru yang kemudian menyebabkan terjadinya neovaskularisasi. Adanya neovaskularisasi yang cukup akan memberikan sel tumor tidak saja faktor-faktor nutrisi untuk pertumbuhan, tetapi juga meningkatkan kesempatan bagi sel tumor untuk memasuki sirkulasi dan metastasis. Sitokin yang paling poten adalah Vaskular Endothelial Growth Factor (VEGF/VEGF-A).⁽⁹⁾ Pada perkembangan suatu tumor, terjadi gangguan keseimbangan produksi molekul angiogenik antara yang proangiogenik dan antiangiogenik, yang disebut "*Angiogenic switch*"

*Basir I, data telah dipresentasikan

yaitu berupa peningkatan faktor proangiogenik dan hal ini memungkinkan pertumbuhan, proliferasi dan metastasis sel-sel tumor berlangsung. ^(10, 11, 12)

Pembentukan stroma baru atau stromagenesis yang terbentuk selama perkembangan tumor biasanya longgar dan bersifat *oedematous*, hal ini memudahkan sel-sel endotel membentuk neovaskular dan memudahkan sel tumor melakukan penetrasi melalui stroma tersebut. Diketahui pula bahwa pertumbuhan stroma tumor, jumlah dan bangunan pembuluh darah serta kelenjar limfe berubah oleh berbagai rangsangan faktor-faktor stromal, salah satu faktor stromal adalah VEGF. Interaksi antara faktor pertumbuhan stromal dan anti pertumbuhan stroma tumor mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan progresi kanker kolorektal. ⁽¹³⁾

Pada kanker kolorektal, beberapa penelitian menunjukkan angiogenesis merupakan suatu peristiwa yang penting sekali yang dapat mengarah pada progresi kanker kolon. Faktanya, kanker kolorektal merupakan salah satu model terbaik untuk penelitian tentang angiogenesis tumor. Beberapa regulator angiogenik, termasuk VEGF, akan menunjukkan peningkatan ekspresi pada sel-sel kanker dan jaringan, pada kanker kolon yang lanjut. ⁽¹⁴⁾ Peran VEGF pada kanker kolorektal terutama difokuskan pada VEGF-A, yang konsentrasinya akan meningkat pada stadium lanjut. Ekspresi isoform VEGF₋₁₂₁ dan VEGF₋₁₆₅ dihubungkan dengan progresi kanker dan penyebaran limfatik. ⁽⁹⁾ Kemampuan angiogenesis, limfangiogenesis yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada kanker kolorektal, berkorelasi dengan keganasan yang lebih tinggi serta survival yang buruk. ^(13, 15, 16)

Pengobatan dengan anti angiogenik telah dimulai kira-kira pada tahun 2004 dimana telah ditemukan Bevacizumab, suatu varian antibodi monoclonal yang *humanized*, yang telah disetujui sebagai obat anti angiogenik pertama di USA. ⁽¹⁴⁾

Masih dalam kaitannya dengan pembentukan stroma pada kanker, *cancer-associated stroma* merupakan medium kompleks dimana terjadi berbagai interaksi antara tumor dan jaringan sel host. Sel tumor berproliferasi dan menginvasi stroma dimana sel-sel imun host berkumpul disekitar jaringan tumor dan mengembangkan angiogenesis tumor. Dikarenakan perubahan-perubahan dinamis pada *cancer-associated stroma* menyerupai reaksi penyembuhan luka, maka hal ini disebut sebagai reaksi desmoplastik. Reaksi desmoplastik diperkirakan didukung terutama oleh aktivasi fibroblast host yang disebut sebagai "myofibroblast". Beberapa penelitian menunjukkan bahwa myofibroblast kemungkinan mempunyai peran sebagai pendukung atau memfasilitasi tumorigenesis dan progresi beberapa karsinoma, sehingga mempunyai nilai klinis dan dikenal sebagai suatu petanda penting yang potensial untuk diagnosis, pengobatan dan prognosis kanker.⁽¹⁷⁾

Penelitian ini akan membandingkan ekspresi VEGF-A dan reaksi desmoplastik pada kanker kolorektal usia muda dengan usia tua dengan mengabaikan stadium tumor. Karena sampai saat ini belum terdapat data/gambaran khusus mengenai pola ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia muda dan usia tua di Indonesia, dan melihat bahwa pasien kanker kolorektal usia muda memiliki perjalanan penyakit yang lebih progresif, menjadi pertanyaan apakah ekspresi VEGF-A yang merupakan salah satu faktor risiko potensial terhadap terjadinya progresivitas kanker kolorektal lebih tinggi pada usia muda dibanding usia tua. Lebih lanjut, dengan diketahui adanya interaksi antara faktor stromal dan ekspresi VEGF-A maka ingin diketahui pula peran faktor stromal didalam progresivitas tumor dengan cara melihat adakah hubungan keberadaan myofibroblas yang diwujudkan dalam reaksi desmoplastik dengan ekspresi VEGF-A. Ekspresi VEGF-A yang tinggi menunjukkan kecenderungan peningkatan vaskularisasi pada tumor yang akan memudahkan terjadinya metastasis dan memicu progresivitas penyakit yang lebih tinggi.

1.2. Perumusan masalah

Berdasarkan pada latar belakang permasalahan, maka disusunlah rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia muda (≤ 40 tahun) dibandingkan dengan pasien kanker kolorektal usia tua (≥ 60 tahun).
2. Apakah terdapat perbedaan derajat reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal usia muda (≤ 40 tahun) dan usia tua (≥ 60 tahun).
3. Apakah ada hubungan antara ekspresi VEGF dengan derajat reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal.

1.3. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia muda dibandingkan dengan pasien kanker kolorektal usia tua.
2. Terdapat perbedaan derajat reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal usia muda dan usia tua.
3. Terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dengan derajat reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal usia muda dan usia tua.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Mempelajari pola angiogenesis dan reaksi desmoplasia pada kanker kolorektal pada pasien usia muda dan usia tua.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Mendapatkan pola atau gambaran ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia muda dan usia tua.
2. Menemukan/mengetahui adanya reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal.
3. Mendapatkan perbandingan ekspresi berlebihan VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia muda dan usia tua.
4. Mendapatkan perbandingan reaksi desmoplastik pada stromal pasien kanker kolorektal usia muda dan usia tua.
5. Membuktikan adanya hubungan antara VEGF-A dengan reaksi Desmoplastik pada pasien kanker kolorektal usia muda dan usia tua.

1.5. Makna Riset

Diharapkan dengan mengetahui ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal terutama usia muda, dapat diketahui penyebab potensial progresivitas penyakitnya dan lebih lanjut untuk menetapkan strategi penatalaksanaannya.

Dapat diketahuinya korelasi antara ekspresi VEGF-A dan reaksi desmoplastik sebagai *cancer-associated stroma* pada jaringan kanker kolorektal, akan lebih mendukung kemaknaan ekspresi VEGF-A pada progresivitas dan prognosis kanker kolorektal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Epidemiologi

Kanker kolorektal merupakan keganasan yang menduduki urutan ke-empat tersering di dunia dan secara global, hampir 800.000 kasus kanker kolorektal baru diperkirakan terjadi, yang mana merupakan 10% dari semua insiden kanker, dan kematian akibat kanker kolorektal diperkirakan hampir mencapai 450.000.^(18, 19) Di Amerika Serikat dan Kanada setiap tahunnya diperkirakan akan lebih dari 160.000 orang di diagnosa kanker kolorektal dengan perkiraan 65.000 kematian disebabkan karena kanker kolorektal.⁽²⁰⁾ Di Eropa pada tahun 2004, kanker kolorektal merupakan kanker nomor dua terbanyak dan juga merupakan penyebab kematian nomor dua tersering.⁽²¹⁾ Pada tahun 2006, kira-kira 150.000 penduduk Amerika di diagnosa dengan kanker kolorektal dan secara kasar diperkirakan 55.000 orang meninggal karena kanker tersebut.⁽¹⁹⁾

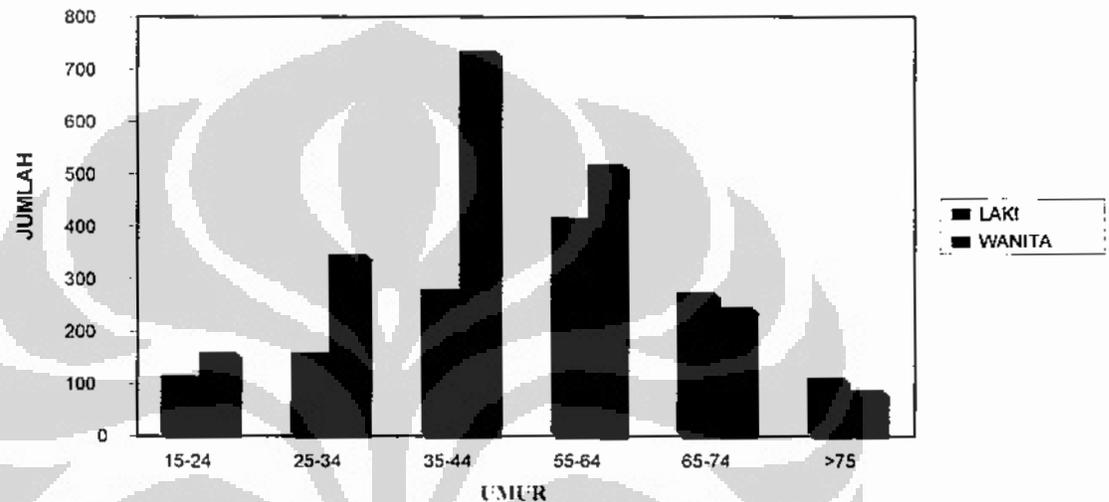
Kanker kolorektal adalah satu-satunya kanker yang dapat mengenai pria maupun wanita dengan perkiraan frekwensi yang hampir sama,^(18, 19, 20, 22) dan perkiraan kasus baru di dunia sebanyak 401.000 pada pria per tahunnya dan 381.000 pada wanita. Jumlah kasus baru di dunia cenderung meningkat secara cepat sejak tahun 1975.⁽¹⁸⁾ Populasi-populasi yang berbeda di dunia mengalami tingkatan-tingkatan yang berbeda dari kanker kolorektal, dan tingkatan-tingkatan ini berubah dengan berjalannya waktu. Populasi-populasi yang tinggal dalam satu komunitas yang gaya hidupnya berbeda dari mereka yang ada di komunitas yang sama, juga mengalami perbedaan tingkatan-tingkatan kanker kolorektal. Kelompok-kelompok migran secara cepat kehilangan risiko dihubungkan dengan komunitas tempat asal mereka dan mendapatkan gambaran yang sesuai dengan komunitasnya yang baru, seringkali hal ini dimulai dari satu generasi pendatang.^(18, 19) Analisa tentang risiko pada populasi migran dari negara yang risikonya rendah ke negara yang risikonya tinggi, memperlihatkan angka penyakitnya

meningkat seperti di negara tempat tinggalnya yang baru. Hal ini menunjukkan bahwa pajanan lingkungan sangat penting dalam meningkatkan insiden kanker kolorektal dan membuat suatu landasan untuk memperhatikan modifikasi pola makan dan gaya hidup sebagai ukuran-ukuran pencegahan. ^(19, 10)

Perbedaan etnik dan ras pada kanker kolorektal, sebagaimana pada kelompok migran, memberi kesan bahwa faktor-faktor lingkungan berperan sebagai bagian terbesar penyebab terjadinya kanker kolorektal. ⁽¹⁸⁾ Pada kelompok pria Yahudi-Israel yang lahir di Eropa atau di Amerika Serikat memiliki risiko yang lebih besar untuk terkena kanker kolorektal dibandingkan dengan mereka yang dilahirkan di Afrika atau Asia. Risiko pada populasi keturunan Jepang yang telah bermigrasi ke Amerika Serikat telah berubah – insidensinya sekarang mendekati atau melebihi orang kulit putih pada populasi yang sama, dan tiga atau empat kali lebih tinggi dibandingkan orang-orang Jepang yang menetap di Jepang. Untuk alasan-alasan itulah, kanker kolorektal secara luas dipercaya sebagai suatu penyakit yang terkait dengan lingkungan, dimana "lingkungan" didefinisikan secara luas termasuk faktor budaya, sosial, gaya hidup dan diet ^(18, 10) terutama diet tinggi lemak dan rendah serat. ⁽²²⁾

Kanker kolorektal secara predominan terjadi pada kelompok usia lanjut, bahkan dikatakan 90% kasus terjadi setelah usia 50 tahun. ⁽²⁰⁾ Meskipun demikian ternyata juga dapat mengenai kelompok usia yang lebih muda (40 tahun atau kurang) dengan insiden yang bervariasi antara 1,6% sampai 23%. Hal ini diperkirakan akan membawa dampak prognosis yang kurang menyenangkan dibandingkan keseluruhan populasi. ⁽⁴⁾ Di Swedia, kira-kira 12% dari kasus kanker adalah kanker kolorektal, dan 5% dari pasien-pasiennya berusia di bawah 50 tahun. Perkembangan tumor pada usia muda kemungkinan merupakan suatu indikator dari kanker herediter, seperti kanker kolorektal non poliposis herediter (HNPCC), yang dikarakterisasikan dengan berkembangnya kanker kolorektal pada usia rata-rata 43 tahun dan merupakan suatu peningkatan risiko juga untuk kanker lain seperti endometrium, ovarium, urothelium dan usus kecil. ⁽²³⁾

Dari laporan Direktorat Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI bersama dengan Perhimpunan Patologi Anatomi Indonesia pada tahun 1995 diperoleh data dari beberapa tempat di Indonesia yang memperlihatkan pola yang berbeda yaitu usia yang lebih muda pada saat di diagnosa. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. 1. di bawah ini.



Sumber : Departemen Kesehatan RI
Gambar 2.1. Distribusi kasus kanker kolorektal di Jakarta tahun 1995.⁽²⁴⁾

Data dari bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia tahun 2003 – 2007 menunjukkan pasien kanker kolon yang berusia di bawah 40 tahun berjumlah 91 orang dari angka keseluruhan 323 orang (28,17%). Dari data ini menunjukkan suatu kecenderungan pada umur yang lebih muda (untuk pasien di negara maju 2-6 persen dibandingkan dengan pasien di Indonesia 28 persen).⁽²³⁾

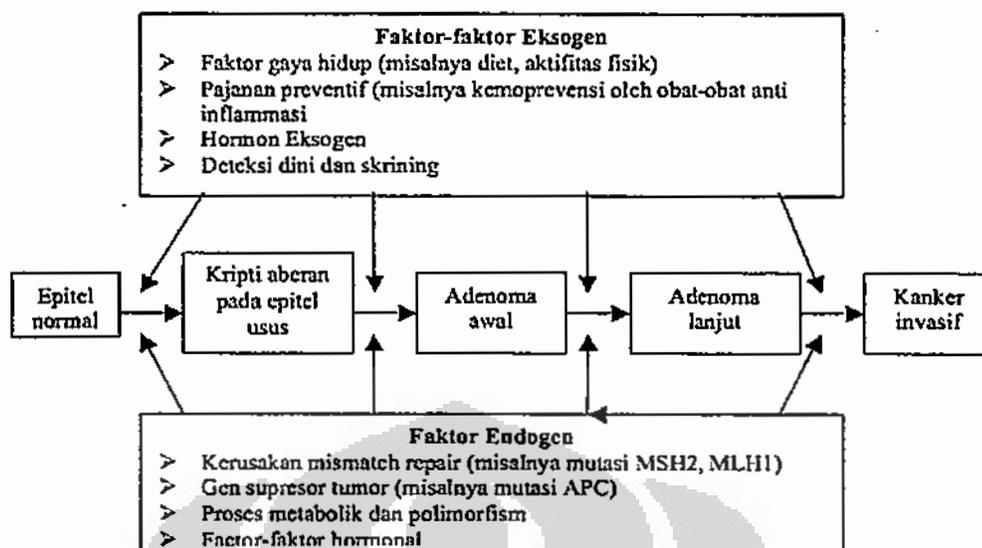
Kebanyakan kasus kanker kolorektal dipertimbangkan sebagai sporadik, dan ini mengindikasikan bahwa faktor-faktor predisposisi genetik atau familial tidak terlihat dengan mudah.⁽¹⁹⁾ Menurut Sudoyo AW, kanker kolorektal usia muda pada orang Indonesia suku Jawa, Sunda, Minang dan Makassar tidak ada yang dapat dikelompokkan dalam kanker kolorektal herediter berdasarkan hasil wawancara yang menggunakan

perangkat kriteria Amsterdam sehingga dapat dimasukkan dalam kategori kanker kolorektal sporadik. ⁽⁵⁾

2.2. Perangai biologik kanker kolorektal

Faktor etiologi yang spesifik dan mekanisme patogenetik yang mendasari perkembangan kanker kolon dan rektum nampak heterogen dan kompleks. Mungkin faktor-faktor etiologinya termasuk pajanan lingkungan dan makanan, tetapi untuk menentukan agen-agen yang spesifik sebagai faktor risiko kanker kolorektal merupakan tantangan yang besar. Kemajuan yang paling membesarkan hati adalah keberhasilan menetapkan adanya defek gen-gen yang spesifik yang mendasari beberapa bentuk kanker kolorektal yang diturunkan sebagaimana juga adanya wawasan-wawasan baru pada sekumpulan perubahan-perubahan molekular yang mempunyai kontribusi pada inisiasi dan progresi dari tumor-tumor sporadik. ⁽¹⁹⁾

Proses terjadinya kanker kolorektal merupakan contoh yang paling baik untuk melihat perubahan-perubahan genetik yang mendasari proses terjadinya kanker pada manusia. Kanker kolon diperkirakan terjadi sebagai hasil dari serangkaian perubahan molekular dan histopatologik yang mengakibatkan berubahnya sel-sel epitel normal pada kolon menjadi karsinoma kolon, dengan polip adenoma sebagai suatu tahap intermediate pada proses ini. Secara universal polip terjadi pada orang-orang dengan riwayat *familial adenomatous polyposis*, suatu keadaan herediter autosomal dominan, namun angka kejadiannya hanya 1% dari kasus-kasus kanker kolorektal. Pada populasi umum kira-kira 33% polip adenoma dijumpai pada usia 50 tahun dan kira-kira 50% pada usia 70 tahun. Untuk menjadi tahap progresi dilibatkan interaksi antara sejumlah faktor-faktor endogen dan eksogen. ^(10, 25)



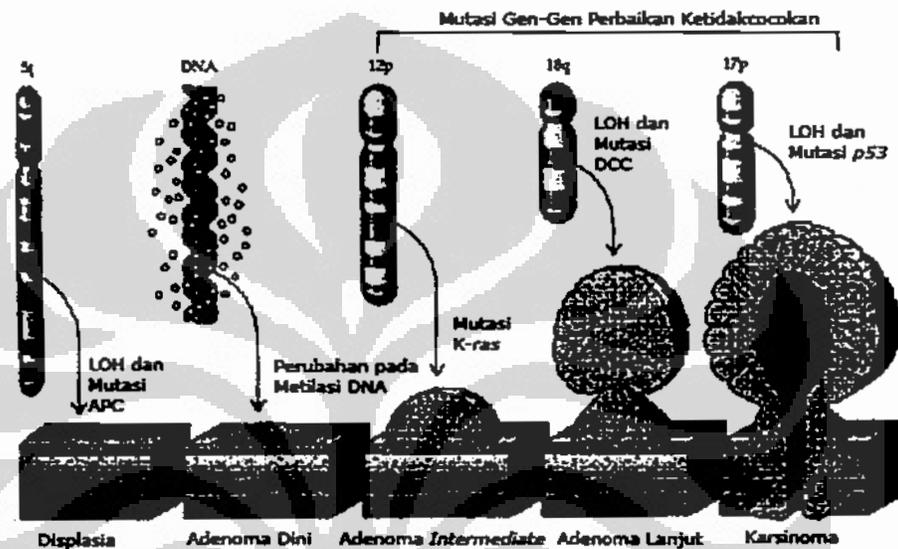
Gambar 2. 2. Suatu konsep model karsinogenesis yang teraplikasi pada kanker kolorektal, dimana progresi dan kekambuhan dilibatkan oleh faktor-faktor eksogen dan endogen (diambil dari Basic Science of Oncology, hal.19)

Lebih dari satu dekade yang lalu, Fearon dan Vogelstein menyampaikan wawasan-wawasan awal mengenai dasar molekular keganasan pada kolorektal, yang kemudian membuat suatu paradigma untuk karakterisasi molekular dari perkembangan kanker pada organ-organ tubuh yang lainnya juga. ⁽¹²⁾

Saat ini sudah diterima konsep bahwa mutasi-mutasi pada gen adalah penyebab kanker, dan bahwa diperlukan beberapa mutasi ("multihit") untuk terjadinya kanker. Konsep ini juga menjadi dasar pemahaman bahwa kejadian kanker berhubungan dengan usia, karena kerusakan dianggap berbanding lurus dengan proses penuaan, lama serta banyaknya paparan bahan-bahan karsinogenik lingkungan. ⁽¹⁰⁾ Perubahan-perubahan yang terjadi pada sel usus besar pada kanker kolorektal saat ini digunakan sebagai model karsinogenesis, yaitu perubahan dari sel normal menjadi sel kanker (*adenoma-carcinoma sequence*). ⁽¹¹⁾

Pada kebanyakan kasus kanker kolorektal penyebabnya adalah sporadik, yang mana hal ini membuat deteksi dini menjadi penting. Namun sayangnya, secara ekonomis tidak memungkinkan untuk mengidentifikasi semua individu pada populasi umum yang tergolong risiko tinggi terhadap terjadinya kanker kolorektal. Kebanyakan pasien

yang datang secara klinis telah menunjukkan tanda-tanda kanker yang lanjut. Metastasis yang terjadi lebih lanjut umumnya tidak dapat disembuhkan lagi, dan dengan regimen pengobatan saat ini hanya berdampak kecil terhadap *5 years survival rate*. Pendekatan lain yang penting untuk mengurangi angka kesakitan dan kematian pada kanker kolorektal adalah melibatkan pencegahannya. ⁽²⁶⁾



Gambar 2. 3. Sekuens adenoma-karsinoma yang menjadi model untuk karsinogenesis. Tampak peran kelainan-kelainan genetik yang terjadi secara sekuensial. (Diambil dari Vogelstein)

Pemahaman mengenai perkembangan kanker kolon mengalami kemajuan yang pesat, dan saat ini telah diketahui dengan baik bahwa kebanyakan kanker kolorektal berkembang dari lesi prekursor neoplasma. Progresi multistep dari suatu polip adenomatosa menjadi kanker invasif saat ini telah diketahui dengan baik dan menawarkan kemungkinan untuk melakukan pencegahan dengan menggunakan obat (kemoprevensi). ⁽²⁷⁾ Dalam aksioma dunia kedokteran, pencegahan lebih baik dari pada pengobatan. Pencegahan secara umum dapat dibagi atas hal-hal yang berkaitan dengan perubahan gaya hidup dan hal-hal yang berkaitan dengan pengobatan langsung menggunakan *nutraceutical* dan/atau zat-zat kimia. ^(26, 28)

Biasanya keganasan ini didahului dengan lesi premaligna yang dapat dikenali dengan baik, namun seringkali terlambat di diagnosa sehingga mengakibatkan survival yang mengecewakan. ⁽⁷⁾ Meskipun penggunaan strategi skrining meningkat, seperti tes darah samar (*fecal occult blood test*), sigmoidoskopi dan kolonoskopi, namun lebih dari sepertiga pasien kanker kolorektal akhirnya akan mengalami metastasis. Beberapa pilihan pengobatan baru telah tersedia untuk kanker kolorektal, tetapi kebanyakan pasien akhirnya akan meninggal karena metastasis yang tidak terkontrol dalam beberapa tahun setelah diagnosis. ⁽⁸⁾

Dari suatu penelitian mengenai karakteristik kanker kolorektal pada pasien-pasien usia muda (40 tahun atau kurang), diperoleh hasil bahwa pasien-pasien usia muda memiliki diferensiasi tumor yang buruk dengan jenis adenokarsinoma tipe musin. Dari TNM didapatkan tumor stadium III lebih sering pada pasien usia muda dan pada pasien usia muda juga menunjukkan invasi limfatik yang secara statistik bermakna. Sehingga seringkali disebutkan perilaku tumor yang agresif merupakan karakteristik kanker kolorektal pada pasien usia muda. Hingga saat ini masih menjadi perdebatan mengenai karakteristik, perilaku dan prognosis dari tumor-tumor tersebut. Namun beberapa mempercayai bahwa pasien-pasien usia muda yang menderita kanker kolorektal memiliki prognosis yang buruk karena sifat biologi tumor yang agresif, distribusi tumor yang berbeda dan stadium yang lebih lanjut. ⁽⁴⁾

Jenis histopatologi kanker kolorektal yang terbanyak yaitu 90-95% adalah jenis Adenokarsinoma, yang biasanya mudah dikenali dengan unsur-unsur kelenjarnya. Jenis lainnya adalah adenokarsinoma musin dan *signet cell ring*. ⁽²⁹⁾

2.3. Faktor Pertumbuhan Endotelial Vaskular (VEGF)

Salah satu komponen yang memudahkan terjadinya proses metastasis pada kanker kolorektal lanjut adalah neoangiogenesis. Proses neoangiogenesis dapat terjadi pada kehamilan, proses penyembuhan jaringan dan pada proses patogenesis penyakit, dalam hal ini keganasan.

Proses ini diperantarai oleh sitokin angiogenesis yang memberikan sel tumor tidak saja faktor-faktor nutrisi untuk pertumbuhan, tetapi juga meningkatkan kesempatan bagi sel tumor untuk memasuki sirkulasi dan metastasis. Sitokin yang paling poten adalah *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF/VEGF-A).⁽⁹⁾ Pada perkembangan suatu tumor, terjadi gangguan keseimbangan produksi molekul angiogenik antara yang proangiogenik dan antiangiogenik, yang disebut "*Angiogenic Switch*" dan memungkinkan pertumbuhan, proliferasi dan metastasis sel-sel tumor berlangsung.^(10, 11, 12, 30, 31) Sejumlah faktor muncul untuk turut menyumbang pada perubahan keseimbangan dari sinyal pro- versus anti-angiogenik selama perkembangan tumor. Ini termasuk onkogen yang mendorong produksi faktor-faktor pertumbuhan oleh sel-sel tumor, perubahan pada *microenvironment* tumor, pengerahan progenitor sel-sel endotel dari sumsum tulang, dan *down-regulation* dari inhibitor alami angiogenesis.⁽¹⁰⁾

Peran VEGF pada kanker kolorektal terutama di fokuskan pada VEGF-A, yang konsentrasinya akan meningkat pada stadium lanjut. VEGF-A memiliki beberapa isoform dan berkaitan dengan penyebaran serta progresi kanker kolorektal. Kemampuan angiogenesis, limfangiogenesis yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada kanker kolorektal, berkorelasi dengan keganasan yang lebih tinggi serta survival yang buruk.^(15, 16)

Sistem *cardiovascular* merupakan sistim organ yang pertama dibentuk dan mencapai keadaan fungsional pada embrio. Pembentukan sistem pembuluh darah ini merupakan suatu prasyarat untuk proses embriogenesis pada vertebrata dalam rangka memenuhi kebutuhan oksigen dan nutrisi dalam jumlah yang cukup ke jaringan dan organ serta memungkinkan untuk pembuangan sisa-sisa metabolisme. Tahap inisial pembentukan sistem pembuluh darah terdiri dari Vaskulogenesis yaitu pembentukan pembuluh darah melalui diferensiasi *in situ* progenitor sel endotel seperti angioblas atau hemangioblas. Sedang Angiogenesis didefinisikan sebagai pembentukan pembuluh darah baru yang berasal dari

pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya, khususnya dari vena-vena post kapiler. Selama perkembangan embrionik, pembuluh darah dibentuk oleh vaskulogenesis dan angiogenesis, sedangkan pembuluh darah baru pada orang dewasa terutama terbentuk melalui angiogenesis, meskipun juga bisa terbentuk melalui vaskulogenesis oleh sumsum tulang yang merupakan tempat asal progenitor sel endotel. Selain diperlukan pada masa perkembangan embrionik, angiogenesis juga diperlukan pada proses kehamilan, perbaikan jaringan dan penyembuhan luka pada orang dewasa, selain juga merupakan kunci yang mendasari proses-proses pada patogenesis beberapa penyakit utama pada manusia, termasuk kanker. ^(10, 16, 31, 32, 33, 34)

Dari beberapa faktor proangiogenik yang telah diidentifikasi, Faktor Pertumbuhan Endotelial Vaskular (VEGF; yang dikenal juga sebagai Faktor Permeabilitas Vaskular/VPF), merupakan faktor proangiogenik yang digolongkan paling baik. VEGF dikaitkan dengan peningkatan angiogenesis dan stadium lanjut penyakit pada berbagai jenis tumor solid termasuk kanker kolon. VEGF merupakan suatu glikoprotein homodimer yang berikatan dengan heparin, memiliki potensi angiogenik, mitogenik dan *vascular permeability* – meningkatkan aktivitas yang spesifik untuk sel-sel endotel. Protein-protein yang termasuk dalam keluarga VEGF merupakan protein-protein yang secara struktural sangat saling berhubungan, terdiri dari enam molekul yaitu VEGF-A (sering ditunjuk sebagai VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan VEGF-E, dan Faktor Pertumbuhan Plasenta. VEGF-A terbukti merupakan varian yang predominan dan regulator yang paling penting untuk pembentukan pembuluh darah pada keadaan sehat dan pada suatu penyakit. VEGF-A merangsang proliferasi sel endotel dan berperan sebagai faktor anti-apoptotik. ^(9, 16, 35, 36)

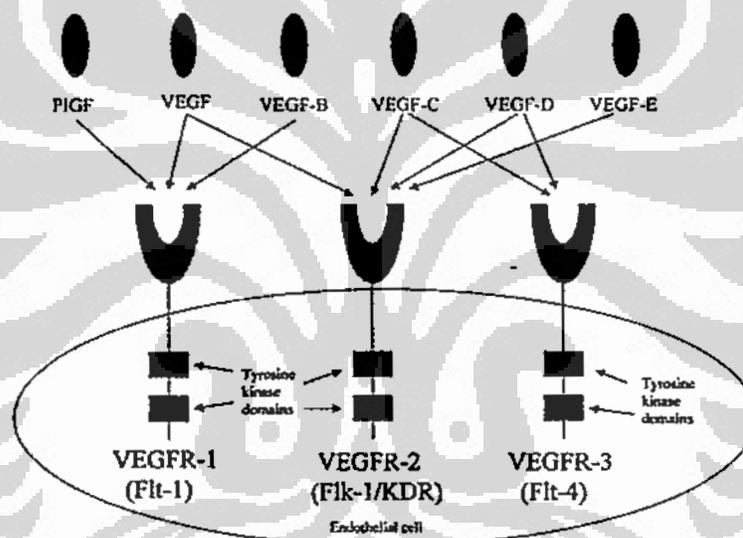
Gen VEGF-A manusia terorganisasi dalam delapan exon dan berlokasi pada kromosom 6. Sebagai hasil *alternative mRNA splicing*, telah terdeteksi paling sedikit empat isoform yang berbeda dan diberi nama menurut jumlah asam amino pada struktur primernya : 121, 165, 189

dan 206 (VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆) yang masing-masing mempunyai gambaran ekspresi yang saling berbeda sebagaimana juga sifat-sifat biokimia dan biologiknya. VEGF₁₂₁ adalah polipeptida asam yang lemah yang tidak berikatan dengan heparin, dan terlarut secara bebas. VEGF₁₆₅ merupakan bentuk dominan yang disekresikan oleh sejumlah sel yang normal dan sel yang telah mengalami transformasi, adalah suatu glikoprotein yang berikatan dengan heparin. Meskipun disekresikan, sejumlah porsi yang berarti masih tetap berikatan dengan permukaan sel atau matriks ekstraselular. Isoform VEGF₁₈₉ termasuk 24 asam amino tambahan dan tidak disekresikan secara bebas, tetapi tetap yang utama berikatan dengan permukaan sel dan atau matriks ekstraselular. VEGF₂₀₆ merupakan isoform yang jarang, sejauh ini hanya diidentifikasi terdapat pada *human fetal liver cDNA library*.^(9, 10, 15, 16) Dari penelitian terbanyak menyimpulkan bahwa VEGF₁₆₅ merupakan isoform yang paling banyak dan secara biologik yang paling aktif. VEGF₁₂₁ memiliki aktifitas biologik pada sel endotel namun potensinya lebih rendah dibandingkan dengan VEGF₁₆₅.^(16, 35)

Alternative splicing dari gen VEGF-B manusia terdeteksi dua transkrip, mengkode isoform residu asam amino 167 dan 186, berbeda hanya pada domain karboksi terminalnya. Dua jenis sitokin lain yang lebih baru ditemukan yaitu VEGF-C dan VEGF-D, tidak hanya memiliki potensi angiogenesis tetapi juga limfangiogenesis. Namun sedikit yang diketahui tentang *alternative splicing* gen-gen tersebut. VEGF-C dan VEGF-D berhubungan erat, baik secara struktur maupun fungsionalnya.⁽¹⁶⁾

Anggota keluarga VEGF terutama beraksi melalui tiga reseptor tirosin kinase yang berikatan dengan membran : VEGF reseptor-1 (VEGFR-1) yang dikenal juga sebagai *fetal liver tyrosine kinase-1* (Flt-1); VEGF reseptor-2 (VEGFR-2), atau kinase domain region/fetal liver kinase-1 (Flk-1/KDR); dan VEGF reseptor-3 (VEGFR-3), atau fetal liver tyrosin kinase-4 (Flt-4). Penelitian mengenai lokalisasi, struktur, dan fungsi dari reseptor-reseptor tersebut menunjukkan bahwa mereka secara

relatif spesifik untuk sel-sel endotel dan mengandung suatu domain sinyal intraselular tyrosin kinase. VEGFR-1 dan VEGFR-2 secara predominan diekspresikan pada endotel pembuluh darah, dimana VEGFR-3 terutama berlokasi pada endotel limfatik. VEGF-A berperan melalui reseptor VEGFR-1 dan VEGFR-2, dan VEGFR-3 nampaknya secara predominan berperan sebagai reseptor untuk VEGF-C dan VEGF-D, selain juga dapat berperan melalui reseptor VEGFR-2. Namun meskipun VEGFR-1 memiliki afinitas yang lebih besar terhadap VEGF-A, VEGFR-2 yang merupakan tyrosin yang terfosforilasi lebih efisien pada saat ikatan ligan dan pada sel endotel menyebabkan terjadinya mitogenesis, kemotaksis dan perubahan pada morfologi sel. (15, 35 37, 38)



Gambar 2. 4. Interaksi dari 6 anggota keluarga VEGF dengan reseptor-reseptornya. PlGF, placenta growth factor; VEGFR, VEGF receptor; Flt, fetal liver tyrosine kinase; Flk-1/KDR, fetal liver kinase-1/kinase domain region. (diambil dari Boedefeld WM, Ann.Surg.Oncol, 2003).

2.3.1. Peran dan aktifitas VEGF pada angiogenesis

Ketika suatu tumor tumbuh lebih besar dari 1-2 mm³, tumor tersebut harus merangsang *host* untuk membentuk vaskularisasinya sendiri yang akan memungkinkan tumor tersebut untuk tumbuh terus. Untuk menyempurnakan proses ini, sel tumor menginduksi pembuluh-pembuluh darah yang berdekatan untuk memunculkan pembuluh darah baru ke arah tumor. Pembuluh-pembuluh darah kecil (*microvessels*) yang *immature*

tidak dilapisi oleh pericyte, dan pembuluh darah tersebut tidak teratur dan bocor sehingga sel tumor dapat dengan mudah penetrasi pada pembuluh darah kecil yang *immature* dibandingkan pada yang *mature*.⁽¹³⁾

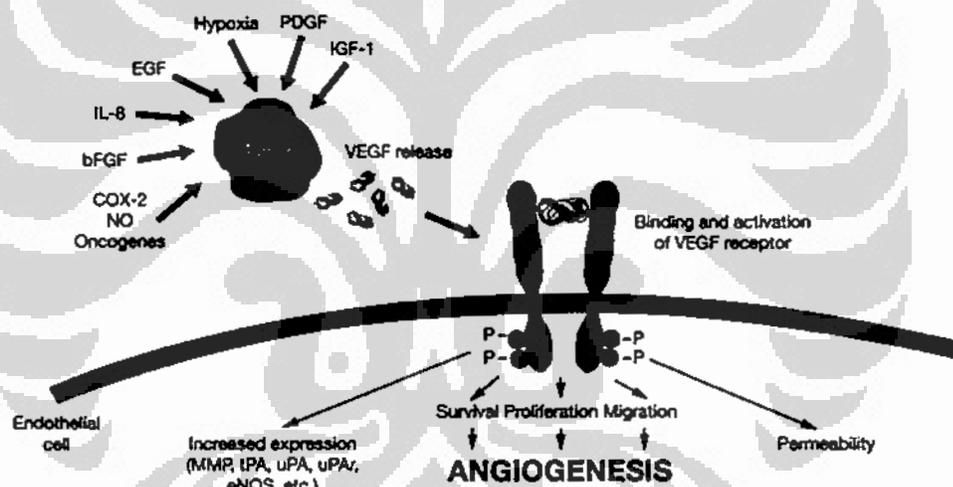
Secara mendasar terdapat dua kelompok faktor angiogenesis, yaitu (1) faktor-faktor spesifik (a.l VEGF, angiopoietins, dan lain-lain), dilepaskan oleh sejumlah jenis sel, yang berikatan secara spesifik dengan reseptor-reseptor pada sel endotel, dan (2) faktor-faktor angiogenik non spesifik (a.l aFGF, bFGF, TGF α , EGF, PDGF, angiogenin, IL-8, protein inhibitor makrofag, platelet factor-4) yang berikatan dengan sel-sel endotel tetapi juga mempengaruhi fungsi dari sel jenis yang lainnya. Jadi tidak spesifik hanya untuk sel endotel saja.⁽³⁴⁾

Proses angiogenesis tidak didorong hanya oleh satu molekul saja, namun lebih tergantung pada kerjasama dan integrasi berbagai faktor yang mengarah kepada proliferasi endotel, migrasi, invasi, diferensiasi dan pembentukan saluran kapiler. Aktivasi sel endotel, migrasi dan proliferasi merupakan kejadian-kejadian selular yang utama pada angiogenesis. Proses-proses ini dikontrol oleh faktor-faktor yang merangsang angiogenik maupun yang menekan angiogenik.⁽³⁴⁾ Pembuluh darah yang baru terbentuk harus mampu bertahan dibawah keadaan-keadaan yang tidak sesuai atau merugikan. Karena lingkungan mikro dari tumor memiliki tekanan oksigen yang rendah dan bersifat asam, maka sel-sel endotel memerlukan faktor-faktor *survival* angiogenik untuk memelihara integritasnya. Berbagai penelitian memperlihatkan bahwa VEGF berperan sebagai faktor *survival* untuk sel endotel dibawah berbagai keadaan-keadaan stres, termasuk *serum starvation* dan hipoksia, baik secara in vitro maupun in vivo.^(34, 38)

Efek biologik VEGF tidak hanya pada efek mitogeniknya pada sel endotel dan kemampuannya untuk menginduksi angiogenesis, tetapi juga termasuk kemampuannya untuk mencegah sel endotelial mengalami apoptosis dan berperan sebagai faktor survival untuk sel endotel. VEGF akan mencegah sel endotel mengalami apoptosis melalui berbagai mediator, termasuk Bcl-2, A1, dan IAP (famili protein-protein

penghambat apoptosis), dan melalui aktivasi sinyal transduksi PI3-kinase/Akt, MAPK/Erk dan inhibisi sinyal transduksi SAPK/JNK.^(34, 38)

VEGF ditemukan juga menginduksi ekspresi Matrix Metalloproteinase (MMP) interstitial kolagenase (MMP-1) pada sel endotel vena umbilikus manusia baik pada tingkat protein maupun mRNA, dan hal ini menginduksi ekspresi dan aktifitas dari aktivator plasminogen, menyatakan perannya dalam proteolisis ekstrasel. Selain itu VEGF juga berkontribusi dalam angiogenesis tumor melalui induksi permeabilitas mikrovaskular dengan kebocoran protein-protein plasma menghasilkan lingkungan yang kaya akan faktor proangiogenik fibrin yang merangsang migrasi sel-sel endotel dan fibroblas.⁽³⁸⁾



Gambar 2. 5. Karakteristik tumor dan lingkungannya yang mempromosi ekspresi VEGF. (diambil dari Mol Cancer Res, 2007)

2.3.2. Regulasi Ekspresi VEGF pada kanker kolorektal

Secara umum sel-sel kanker tidak dikontrol oleh mekanisme regulator yang normal, pertumbuhan tumor sangat tergantung pada suplai oksigen, nutrisi dan regulator-regulator yang berasal dari *host*. Saat ini telah dibuktikan bahwa vaskularisasi tumor tidak perlu berasal dari pemunculan sel endotel; malahan, jaringan kanker dapat memperoleh vaskularisasinya sendiri dengan cara *co-option* pembuluh darah yang telah ada, pertumbuhan mikrovaskular yang *intussusceptive*, *vasculogenesis*

postnata), angiogenesis glomeruloid atau *vasculogenic mimicry*. Jalur molekular yang mendorong terjadinya vaskularisasi pada tumor yang saat ini diketahui dengan baik adalah mekanisme adaptasi terhadap hipoksia.⁽³⁹⁾

Eksresi VEGF diregulasi oleh beberapa faktor antara lain hipoksia jaringan lokal, sitokin, onkogen, gen-gen supresor tumor, dan berbagai jenis faktor-faktor pertumbuhan. Suatu lingkungan dengan oksigenisasi jaringan yang adekuat sangat diperlukan untuk *survival* sel. Hipoksia jaringan dikaitkan dengan progresi keganasan, pembentukan metastasis, dan resistensi terhadap radioterapi.⁽³⁹⁾

Pertumbuhan tumor atau jaringan yang melebihi kemampuan suplai darahnya atau menjadi kekurangan oksigen, akan menyebabkan gen yang bertanggung jawab terhadap hipoksia di inisiasi. Meskipun beberapa jalur faktor transkripsi dilibatkan, namun perhatian difokuskan pada *hypoxia-inducible factor 1* (HIF-1).⁽⁴⁰⁾

Hypoxia-inducible transcription factor (HIF) dibentuk oleh dua subunit esensial yaitu HIF-1 α dan HIF-1 β . Pada keadaan hipoksia, HIF-1 α gagal didegradasi sehingga terjadi peningkatan konsentrasinya yang mengakibatkan up-regulasi secara fungsional kompleks faktor transkripsi HIF-1. Hal ini menyebabkan ekspresi dari kelompok gen target antara lain VEGF, PDGF, TGF- α dan lain-lain, yang produk-produknya terlibat dalam proses angiogenesis, eritropoesis, metabolisme energi (terutama glikolisis) dan transport glukosa ke dalam sel-sel. Proses tersebut diatas terjadi dengan tujuan jangka pendek untuk merangsang sintesa protein-protein yang memungkinkan suatu sel bertahan dibawah keadaan hipoksia. Sedangkan tujuan jangka panjangnya adalah untuk mendapatkan akses terhadap suplai oksigen yang adekuat, dengan cara protein-protein tadi akan berkolaborasi menarik pertumbuhan pembuluh-pembuluh darah baru ke dalam jaringan yang mengalami hipoksia. Dalam hal pertumbuhan tumor, pembentukan pembuluh darah baru ini penting agar tumor mendapat akses oksigen dan nutrisi serta untuk membuang sisa-sisa metabolisme⁽¹¹⁾ selain juga memudahkan invasi sel-sel tumor.⁽⁴¹⁾

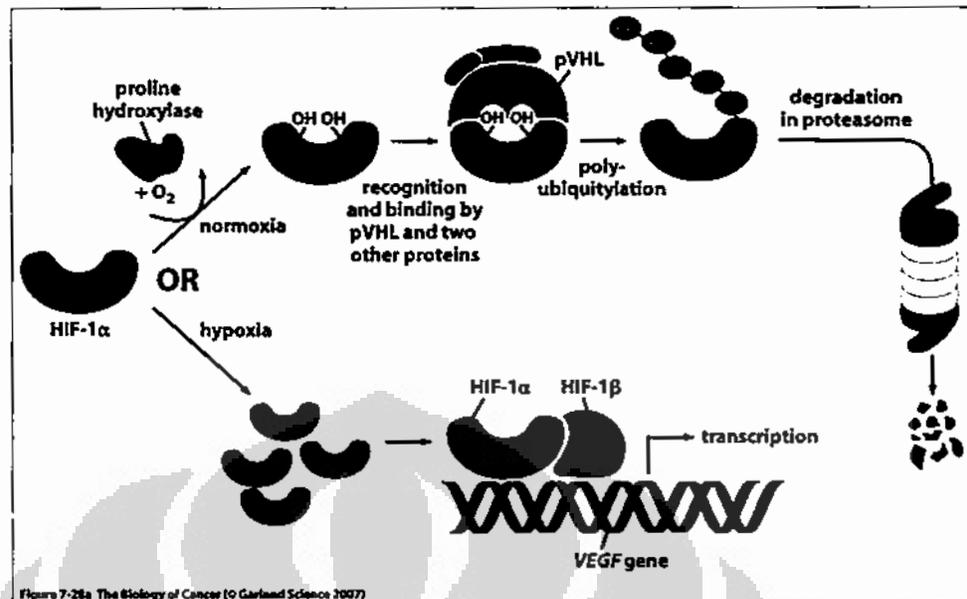


Figure 7-28a The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Gambar 2. 6. HIF-1 terdiri dari dua subunit, keduanya diperlukan untuk berfungsi mengaktifkan transkripsi gen VEGF. Pada keadaan normoksia, HIF-1 α dibentuk dengan cepat dan sesegera mungkin didegradasi di dalam proteosom karena aktivitas pVHL. Pada keadaan hipoksia, enzim prolin hidroksilase gagal mengoksidasi kedua prolin dari HIF-1 α . pVHL gagal berikatan dengan HIF-1 α dan HIF-1 α melarikan diri dari ubikilasi sehingga kadarnya meningkat dengan cepat. Akibatnya dapat membentuk heterodimer dengan HIF-1 β dan menghasilkan faktor transkripsi heterodimerik yang dapat memulai mengaktifasi ekspresi gen-gen penting secara fisiologis, seperti VEGF. (Diambil dari The Biology of Cancer, 2007)

Pada stroma tumor, sering dapat dijumpai jenis sel inflamasi yang penting, disebut *Tumor-Associated Macrophag (TAM)*, yang pada keadaan kerusakan jaringan, makrofag akan memakan patogen atau sel-sel apoptotik sebagaimana juga akan terlibat pada proses perbaikan jaringan. Makrofag dapat membantu *remodelling* matriks jaringan, pertumbuhan sel dan angiogenesis. Mirip dengan fungsinya pada penyembuhan jaringan, TAM juga mempunyai peran penting pada progresi tumor dengan menggunakan fungsi gandanya pada proliferasi sel tumor, invasi sel tumor dan angiogenesis sel tumor. Pada tumor yang cukup besar dan mengalami banyak daerah yang hipoksia, akan dihasilkan berbagai faktor akibat hipoksianya, antara lain TAM, yang pada akhirnya akan merespon hipoksia dengan cara up-regulasi faktor-faktor transkripsi seperti HIF-1, yang selanjutnya akan mengaktifasi sejumlah gen-gen yang mempromosi invasi sel tumor dan angiogenesis sel tumor.⁽⁴¹⁾

Ekspresi VEGF tidak hanya dihubungkan dengan hipoksia atau mutasi dari gen tumor supresor *Von Hippel-Lindau* (VHL) tetapi juga keterlibatan dari sejumlah onkogen dan gen tumor supresor lain. Bukti-bukti menunjukkan bahwa inaktivasi gen-gen tumor supresor seperti p53 dan PTEN, dan aktivasi onkogen seperti Ras, c-Src, EGFR, HER-2, dan Bcl-2 terkait dengan up-regulasi dari VEGF.⁽³⁹⁾ Selain itu, gangguan p53 pada kanker kolorektal akan menyebabkan kemanjuran kemoterapi berkurang dan penurunan survival pasien.⁽¹⁴⁾

2.3.3. Ekspresi VEGF pada kanker Kolorektal

Pada kanker kolorektal, beberapa penelitian memperlihatkan angiogenesis sebagai suatu peristiwa yang penting sekali yang dapat mengarah pada progresi kanker kolon. Faktanya, kanker kolorektal merupakan salah satu model terbaik untuk penelitian tentang angiogenesis tumor. Beberapa regulator angiogenik, termasuk VEGF, akan menunjukkan peningkatan ekspresi pada sel-sel kanker dan jaringan, pada kanker kolon yang lanjut.⁽¹⁴⁾ Peran VEGF pada kanker kolorektal terutama difokuskan pada VEGF-A, dimana kadarnya berhubungan dengan stadium pada kanker kolorektal, dengan peningkatan kadarnya pada stadium lanjut. Suatu hasil penelitian menunjukkan, isoform VEGF-189 berhubungan secara bermakna dengan metastasisk ke organ hati, keterlibatan pembuluh vena, dan prognosis yang buruk pada kanker kolorektal, dan telah diduga pula isoform VEGF-189 terutama dihubungkan dengan progresi kanker kolon. Sedangkan peningkatan isoform VEGF-121 dan VEGF-165 dihubungkan dengan progresi kanker dan penyebaran limfatik. Peningkatan VEGF-A kemungkinan merupakan hal terpenting dalam menentukan perluasan metastasis.⁽⁹⁾

Angiogenesis, limfangiogenesis, VEGF dan VEGFR akan meningkat pada kanker kolorektal dibandingkan dengan mukosa normal dan adenoma, dan lebih lanjut merupakan gambaran keganasan yang lebih tinggi dari kanker kolorektal termasuk survival yang buruk.⁽¹³⁾ Penelitian yang menghubungkan ekspresi VEGF dengan agresivitas tumor,

kemampuan metastasis dan kemungkinan kekambuhan menunjukkan bahwa tingginya kadar ekspresi VEGF berhubungan dengan prognosis yang buruk.⁽¹⁵⁾

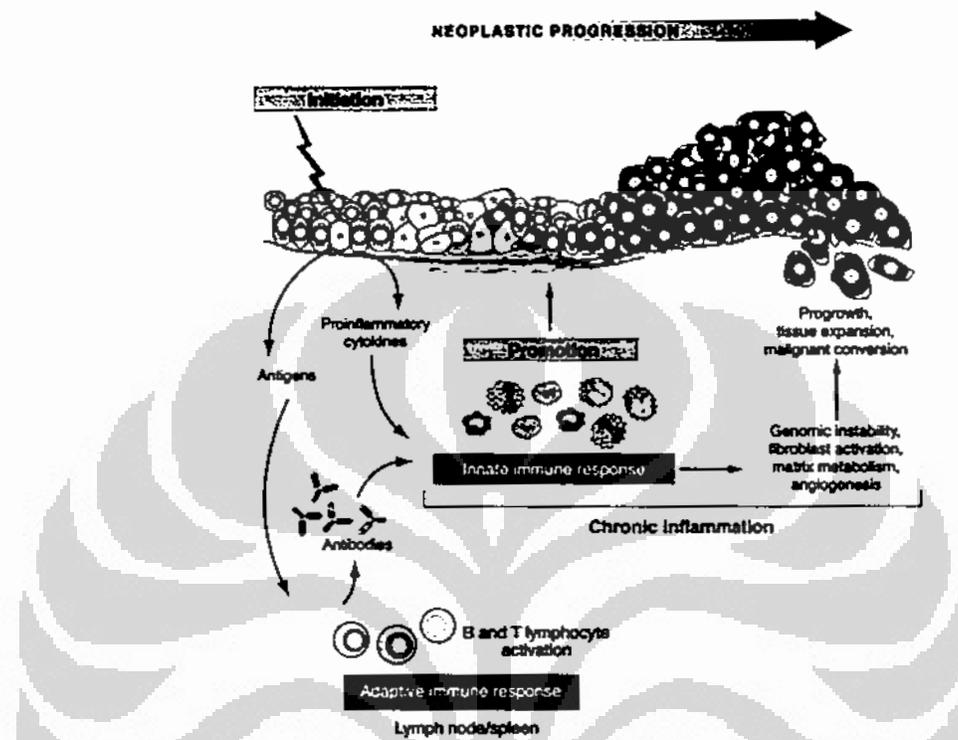
Pada tahun 2004, *US-FDA (United States- Food and Drug Administration)* menyetujui Bevacizumab (Avastin) sebagai obat anti angiogenesis pertama. Bevacizumab merupakan suatu monoklonal antibodi yang *humanized (93% human, 7% mouse)*. Bevacizumab akan mengikat VEGF dengan afinitas yang kuat dan menetralkan semua isoform VEGF-A, kemudian menghambat pengikatannya dengan reseptor VEGF.⁽¹⁴⁾

2.4. Stroma kanker – Reaksi Desmoplasia

Unsur-unsur stromal baik di dalam ataupun disekitar tumor, termasuk pembuluh-pembuluh darah dan limfe, sel-sel stromal, dan berbagai jenis protein, belum mendapat perhatian yang cukup walaupun mereka mempunyai pengaruh yang besar terhadap perkembangan dan progresi tumor. Angiogenesis tumor dan limfangiogenesis adalah proses membentuk pembuluh darah atau pembuluh limfe baru didalam dan disekitar tumor. Sel-sel stromal terdiri dari berbagai jenis sel, seperti sel-sel imun yang menginfiltrasi, fibroblas dan sel-sel endotelial. Matriks ekstrasel (ECM) adalah suatu struktur yang kompleks yang merupakan suatu kesatuan disekitar sel-sel tumor, dan sering disebut sebagai jaringan konektif atau substansi dasar.⁽¹³⁾

Kanker seringkali disebut sebagai penyakit kronis, dan keterkaitan antara inflamasi dan kanker telah lama diketahui. Sel-sel *innate immunity*, termasuk granulosit, sel-sel dendritik, makrofag, sel *natural killer* dan sel mast, merupakan komponen utama jaringan premaligna dan maligna, dan secara fungsional turut berkontribusi pada perkembangan kanker secara luas disebabkan karena mereka melepaskan sejumlah mediator terlarut yang poten yang mengatur proliferasi sel, migrasi, angiogenesis, perbaikan jaringan (*tissue remodelling*), metabolisme dan integritas genom.

Seseorang yang menderita penyakit inflamasi kronis memiliki risiko yang lebih besar untuk terjadinya perkembangan kanker.⁽⁴²⁾

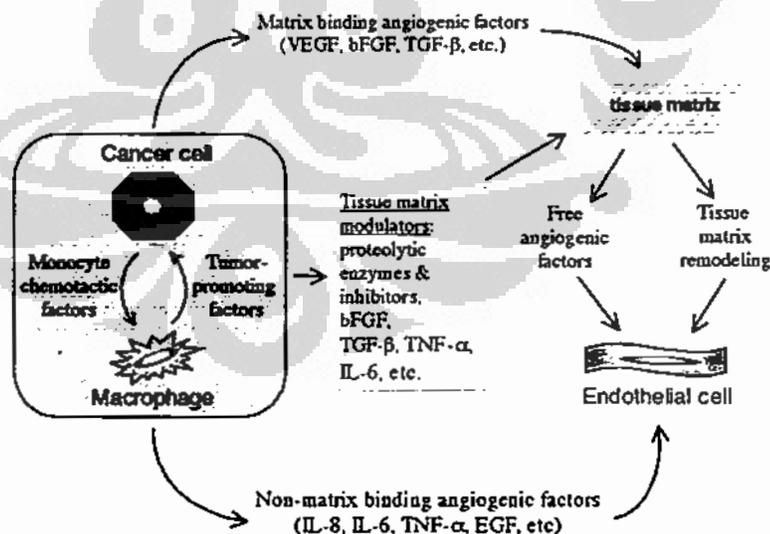


Gambar 2. 7. Peran sel-sel imun *innate* dan *adaptive* selama perkembangan kanker yang dikaitkan dengan proses inflamasi. (diambil dari Annu.Rev.Pathol.Mech.Dis. 2006)

Fibroblas adalah sel-sel yang bertanggung jawab untuk sintesis, deposisi dan *remodelling* matriks ekstra sel, sebagaimana juga untuk memproduksi berbagai faktor pertumbuhan parakrin yang terlarut yang mengatur proliferasi sel, morfologi, survival dan kematian sel. Data terakhir menunjukkan bahwa fibroblas berperan secara aktif bersama sel-sel inflamasi, dapat mempromosi program neoplastik jaringan. Penelitian ultrastruktur, imunohistokimia dan analisis biokimia telah banyak menghasilkan informasi akan pentingnya stroma, dimana selama proses neoplastik, stroma akan mengalami banyak perubahan, antara lain diekspresikannya protein-protein seperti α -smooth muscle actin, vimentin, smooth muscle myosin, calponin, tenascin dan desmin. Protein-protein ini seringkali diekspresikan juga sebagai respons terhadap penyembuhan luka atau inflamasi. Selama perkembangan kanker, protein-protein tersebut

bersama molekul-molekul matriks ekstrasel lainnya melekat pada jaringan neoplasma dan memudahkan terjadinya proliferasi sel, inflamasi, angiogenesis dan migrasi sel kedalam kompartemen jaringan.^(42, 43)

Lebih lanjut, dalam rangka merespons berbagai sinyal fisiologis, baik itu sesuatu yang normal maupun patologis, fibroblas stromal merubah fenotip dan fungsinya. Para patolog adalah yang pertama kali menemukan bahwa fibroblas pada tumor adalah sangat unik dan mengalami perubahan-perubahan yang dinamis yang berhubungan dengan progresi tumor. Pada tumor, fibroblas disebut sebagai myofibroblas, peritumoral fibroblas, *reactive stromal cells*, dan *carcinoma-associated fibroblast* (CAF). Secara khas mereka memperlihatkan indeks proliferaatif yang lebih tinggi dibandingkan dengan fibroblas pada jaringan normal, sering mengekspresikan α -smooth muscle actin, dan umumnya dikelilingi oleh kolagen fibrilar – dimana gambaran ini umum pada beberapa jenis kanker pada manusia, seperti kanker payudara, prostat, pankreas, kolon dan kanker paru – dan disebut sebagai desmoplasia dan dikaitkan dengan pengerahan sel-sel inflamasi dan aktivasi program angiogenik.⁽⁴²⁾



Gambar 2. 8. Berbagai factor yang terlibat dalam TAM yang dihubungkan dengan angiogenesis tumor. (diambil dari J.Cancer Mol., 2006)

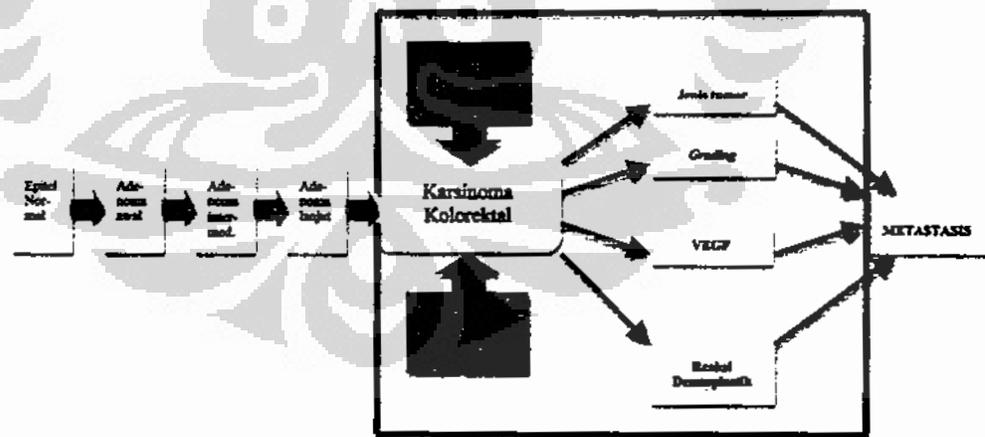
Pada awalnya dari beberapa penelitian diperkirakan reaksi desmoplastik dikaitkan dengan prognosis yang kurang baik pada kanker payudara dan kanker kolorektal, dimana beberapa signifikansi tidak dijumpai pada kanker rektal. Salah satu alasan dari kontroversi ini kemungkinan adalah reaksi desmoplastik di evaluasi dengan cara menghitung jumlah relatif dari jaringan fibrosa. Namun kemudian telah didapatkan bukti-bukti baru yang mendukung bahwa myofibroblas memegang peranan penting dalam pembentukan *cancer-associated stroma*. Myofibroblas muncul selama proses penyembuhan luka dan selama progresi tumor dan menghilang sejalan dengan rekonstruksi jaringan dan regresi tumor. Dijumpai pula bahwa ekspresi α -smooth muscle actin merupakan indikator universal akan prognosis yang buruk pada keseluruhan rantai tahapan kanker kolorektal, sebagaimana juga pada kanker kolorektal stadium II saja, dan hal itu mengidentifikasi bahwa pasien berisiko mengalami kekambuhan dalam katagori adenokarsinoma yang berdiferensiasi baik atau sedang. Dari penemuan ini diduga myofibroblas stromal memiliki gambaran-gambaran tertentu yang memfasilitasi progresi kanker terlepas dari penyebaran kanker ke kelenjar getah bening ataupun diferensiasi tumor.⁽¹⁷⁾

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep

Angiogenesis merupakan langkah yang esensial baik pada pertumbuhan tumor primer maupun metastasis. Kemampuan angiogenesis yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada kanker kolorektal, berkorelasi dengan keganasan yang lebih tinggi dan survival yang buruk. ^(15, 33)

Pada penelitian ini, ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia kurang dari 40 tahun yang seringkali prognosnya lebih buruk, dibandingkan dengan ekspresi VEGF-A pasien kanker kolorektal usia lebih 60 tahun. Sekaligus juga membandingkan reaksi desmoplastik yang terjadi pada kedua kelompok usia tersebut diatas. Dimana reaksi desmoplastik pada beberapa penelitian mempunyai peran sebagai pendukung atau memfasilitasi tumorigenesis dan progresi beberapa karsinoma, sehingga merupakan suatu petanda penting yang potensial untuk diagnosis dan prognosis kanker. ⁽¹⁷⁾



Keterangan :

----- = Ruang lingkup penelitian

Gambar III. 1. Kerangka konsep penelitian

3.2. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi retrospektif mengenai ekspresi VEGF-A dan reaksi Desmoplastik pada sampel PA pasien kanker kolorektal usia muda (≤ 40 tahun) dan pada pasien kanker kolorektal usia tua (≥ 60 tahun). Ekspresi VEGF-A diperiksa dengan menggunakan metode Imunohistokimia. Reaksi Desmoplastik diperiksa dengan memberikan pulasan rutin Hematoxylin Eosin dan sediaan dibaca dengan menggunakan mikroskop cahaya.

3.3. Lokasi Penelitian

Penelitian di lakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian ini telah disetujui oleh komite etik FKUI No. 377/PT02.FK/ETIK/2008.

3.4. Populasi dan Sampel Penelitian

- Populasi penelitian adalah jaringan yang berasal dari hasil biopsi dan reseksi jaringan massa tumor adenokarsinoma kolorektal yang diperoleh dari pasien-pasien usia muda (≤ 40 tahun) dan usia tua (≥ 60 tahun).
- Sampel penelitian adalah blok parafin jaringan massa tumor adenokarsinoma kolorektal yang digunakan untuk pemeriksaan VEGF-A dengan metode imunohistokimia, dan juga digunakan untuk pemeriksaan Reaksi Desmoplasia dengan membuat pulasan histopatologi rutin Hematoksilin Eosin dari massa tumor.

3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.5.1. Kriteria Inklusi

1. Pasien kanker kolorektal usia ≤ 40 tahun dan ≥ 60 tahun.
2. Telah menjalani operasi/biopsi.
3. Spesimen jaringan mengandung sel tumor yang cukup.
4. Spesimen jaringan diperiksa di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Indonesia.

3.5.2. Kriteria Eksklusi

1. Pasien bukan kanker kolorektal usia ≤ 40 tahun dan ≥ 60 tahun.
2. Spesimen jaringan tidak mengandung sel tumor yang cukup/jaringan habis.
3. Pulasan Imunohistokimia tidak spesifik.

3.6. Besar Sampel

Perhitungan besar sampel minimal berdasarkan rumus untuk uji hipotesis terhadap 2 proporsi :

$$n1 = n2 = \frac{(Z_{1-\alpha/2} \sqrt{2PQ} + Z_{1-\beta} \sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2})^2}{(\Delta P)^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel per kelompok

α : tingkat kemaknaan sebesar 5% = 0,05

Z_α : Z skor untuk α sebesar 0,05 adalah 1,96

β : 5% - 20%, biasanya 20% = 0,2 ; $1-\beta = 0,8$

$Z_{1-\beta}$: Z skor untuk β sebesar 0,8 adalah 0,842

P_1 : ekspresi VEGF pada usia muda = 60%

P_2 : ekspresi VEGF pada usia tua = 40%

ΔP : perbedaan minimal yang secara klinis bermakna (ditentukan oleh peneliti) = 30%

P : rata² dari P_1 dan $P_2 = 45\%$

Q : $1 - P = 55\%$

Jadi jumlah sampel minimal adalah 42 orang pasien kanker kolorektal per kelompok (kelompok usia muda dan kelompok usia tua).

3.7. Cara kerja

3.7.1. Bahan

Bahan penelitian adalah spesimen blok parafin pasien tumor kolorektal yang menjalani pemeriksaan dan pengobatan di RS Ciptomangunkusumo pada tahun 2001 hingga 2008. Masing-masing spesimen dibuat irisan setebal 4 μm dan direkatkan pada gelas obyek sebanyak 3 buah, untuk pemeriksaan histopatologi dan melihat reaksi desmoplasia serta ekspresi protein VEGF-A. Kontrol positif digunakan jaringan kanker payudara.

3.7.2. Metode pemeriksaan

Meningkatnya proses angiogenesis dideteksi dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap antigen VEGF-A, dengan menggunakan antibodi monoklonal VEGF-A dari Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA, USA, dengan memakai antibodi sekunder dari Trekkie Universal Link, Biocare Medical, USA.

3.7.2.1. Cara kerja

1. Spesimen dipilih secara konsekutif dan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu pasien-pasien yang berumur kurang dari 40 tahun dan lebih dari 60 tahun.
2. Dari spesimen yang memenuhi persyaratan, dibuat pentahapan (*grading*) penyakit menurut klasifikasi WHO.⁽⁴⁴⁾ Selain itu juga dicatat data pasien yang meliputi usia saat diagnosis dan nomor pemeriksaan Patologi Anatomi.
3. Dilakukan pemeriksaan histopatologi ulang pada seluruh sampel spesimen usia kurang 40 tahun, dan sebagian sampel spesimen usia lebih 60 tahun, disebabkan karena banyaknya sampel yang tidak dijumpai lagi slaid histopatologinya. Slaid histopatologi ini diperlukan juga untuk menilai reaksi desmoplasia.

4. Dilakukan deparafinisasi terhadap jaringan tumor dan pemeriksaan imunohistokimia untuk mendapatkan ekspresi protein VEGF-A.

3.7.2.2. Prosedur Laboratorium

Pulasan Imunohistokimia

Pulasan imunohistokimia tidak dilakukan dengan prosedur yang standar yaitu tanpa menggunakan *Antigen Retrieval* dan tidak dilakukan *overnight*. Hal ini dilaksanakan setelah sebelumnya dilakukan *trial* dengan menggunakan *antigen retrieval* dan antibodi primer dengan pengenceran 1/150, 1/200, 1/400, dan tanpa *antigen retrieval* dengan pengenceran antibodi 1/100, 1/150 dan 1/200. Akhirnya diputuskan yang terbaik adalah tanpa menggunakan *antigen retrieval* dengan pengenceran antibodi 1/150.

Tahap-tahap pulasan imunohistokimia :

- a) Dilakukan deparafinisasi dengan menggunakan xylol I – III masing-masing 5 menit.
- b) Rehidrasi spesimen dilakukan dengan memakai Alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 80%, alkohol 70%, masing-masing 4 menit.
- c) Lalu dicuci di air mengalir selama 5 menit.
- d) Selanjutnya dilakukan blocking endogen peroksida (methanol+H₂O₂) selama 30 menit.
- e) Cuci kembali di air mengalir selama 5 menit.
- f) Dimasukkan kedalam PBS pH 7.4.
- g) Dilakukan blocking dengan NHS 3% (Normal Human Serum) selama 30 menit. Lalu dibuang, dan direndam kembali ke dalam PBS.
- h) Diberi antibodi monoklonal primer selama 1 jam dengan konsentrasi 1/150 (1μL antibodi VEGF-A + aquades 149μL).
- i) Dicuci kembali dengan PBS.
- j) Diberi antibodi sekunder selama 30 menit.
- k) Dicuci kembali dengan PBS.

- l) Lalu dilabel dengan Streptavidin selama 30 menit.
- m) Cuci kembali dengan PBS.
- n) Lalu diberi zat kromogen DAB selama 1-2 menit.
- o) Setelah itu dicuci di air mengalir selama 5 menit.
- p) Counterstain dengan hematoksilin selama 1 menit.
- q) Cuci kembali dengan air mengalir.
- r) Dicelupkan kedalam Lithium Carbonat jenuh (5% dalam aquades) selama 3 – 4 celup.
- s) Birukan dalam air mengalir.
- t) Lalu dilakukan dehidrasi dengan alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol absolut, masing-masing 5 menit.
- u) Clearing dengan Xylol I – II – III.
- v) Mounting dan ditetesi dengan entellan lalu ditutup dengan cover glass.

Pulasan Hematoksilin Eosin

- a) Dilakukan deparafinisasi pada slide dengan memakai Xylol I – II – III, masing-masing 5 menit.
- b) Rehidrasi dengan memakai Alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 70%, masing-masing selama 5 menit.
- c) Dicuci di air mengalir selama 5 menit.
- d) Dimasukkan ke dalam Hematoksilin (larutan Meyer) selama 7 menit.
- e) Dibilas di air mengalir selama 10 menit.
- f) Dicelupkan ke dalam Lithium Carbonat jenuh sebanyak 2-3 celup atau 1-2 menit direndam.
- g) Bilas di air mengalir selama 5 menit, dilihat apakah warna birunya sudah cukup, jika belum dimasukkan kembali ke larutan Meyer (hematoksilin) selama 2 menit saja, lalu dibilas di air mengalir.
- h) Direndam dalam Eosin selama 1-2 menit.

- i) Dilakukan dehidrasi dengan Alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol absolut, masing-masing selama 3 menit.
- j) Lalu clearing dengan memakai Xylol I – II – III.
- k) Ditetes dengan entellan dan ditutup dengan cover glass.

3.8. Cara mengukur ekspresi VEGF

Dinilai prosentase sel tumor yang immunoreaktif terhadap VEGF-A, dengan menggabungkan prosentase positivitas VEGF-A dan intensitas pulasan. Pertama dihitung prosentase rata-rata positivitas VEGF-A pada sel tumor dalam lima lapang pandang besar.

Nilai skoring positivitas :

- Positif < 30% : skor 1
- Positif 30% – 60% : skor 2
- Positif > 60% : skor 3

Nilai skoring intensitas :

- Mayoritas sel tumor dengan intensitas positif lemah : skor 1
- Mayoritas sel tumor dengan intensitas positif sedang : skor 2
- Mayoritas sel tumor dengan intensitas positif kuat : skor 3

Nilai gabungan :

- Positif ringan : skor 1 – 3
- Positif kuat : skor 4 – 6

3.9. Cara menilai reaksi Desmoplasia

Dinilai dengan menggunakan spesimen histologik tumor yang telah diwarnai dengan pewarnaan HE. Dilihat dalam 5 lapang pandang besar dan ditentukan :

- a. Ada reaksi desmoplastik
- b. Tidak ada reaksi desmoplastik

Penilaian :

- Reaksi Desmoplastik Sedikit jika $< 50\%$
- Reaksi Desmoplastik Keras jika $> 50\%$

3.10. Pentahapan (grading)

Dilaksanakan berdasarkan pentahapan WHO⁽⁴⁴⁾ yaitu :

- Diferensiasi baik (*grade 1*) : lesi memiliki $> 95\%$ kelenjar.
- Diferensiasi sedang (*grade 2*) : lesi memiliki $50 - 95\%$ kelenjar.
- Diferensiasi buruk (*grade 3*) : lesi memiliki $5 - 50\%$ kelenjar.
- Undiferensiasi (*grade 4*) : lesi memiliki $< 5\%$ kelenjar.

Jenis *Signet cell* dimasukkan dalam *grade 3* (diferensiasi buruk).

Jenis *Medullary* dimasukkan dalam *grade 4* (undiferensiasi).

Jenis *Mucinous adenocarcinoma* dimasukkan dalam *grade 3*.

Menurut pentahapan WHO yang terakhir :

- *High grade* adalah yang berdiferensiasi buruk dan undiferensiasi
- *Low grade* adalah yang berdiferensiasi baik dan sedang.

3.11. Rencana analisa data dan Cara analisa data

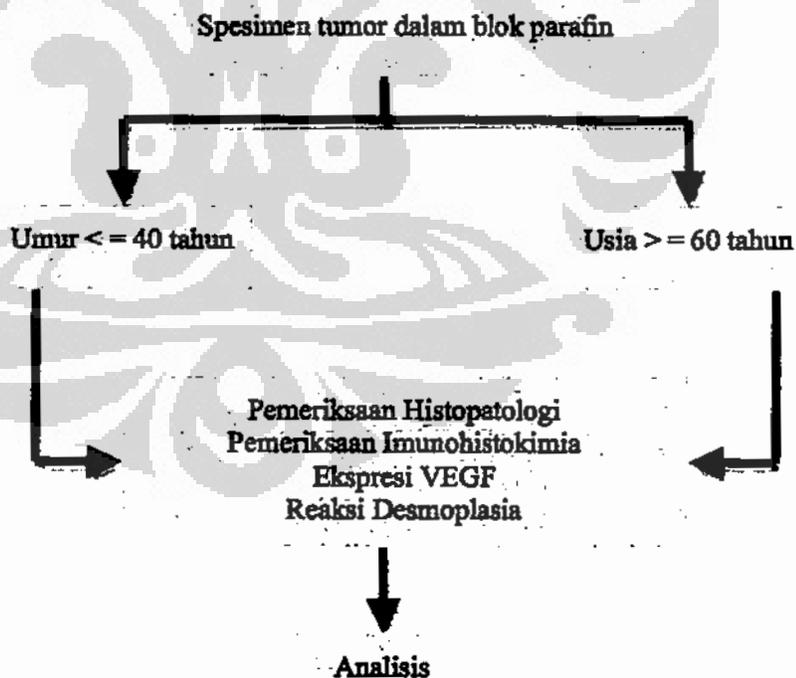
Data dikumpulkan dalam satu tabel induk kemudian diolah dengan menggunakan program statistik SPSS versi 1.6. Dilakukan pemeriksaan ekspresi VEGF-A, bila pada pemeriksaan ternyata tidak didapatkan sampel dengan ekspresi VEGF-A negatif, akan dilakukan analisis berdasarkan prosentase sel yang positif dan intensitas pulasan. Untuk melihat perbandingan ekspresi VEGF-A pada usia ≤ 40 tahun dengan usia ≥ 60 tahun, digunakan uji Chi Square. Uji statistik dinyatakan bermakna bila nilai $p < 0.05$.

3.12. Definisi Operasional

- a. Usia : adalah umur pada saat diagnosis yang dihitung dari tanggal lahir pasien.

- b. Pentahapan (*grading*) tumor menggunakan sistem *World Health Organization (WHO) : Pathology and Genetics of Tumour of the Digestive System*. dibedakan menjadi *High grade* untuk yang berdiferensiasi buruk dan undiferensiasi dan *Low grade* untuk yang berdiferensiasi baik dan sedang.
- c. Reaksi *Desmoplasia* adalah reaksi yang disebabkan karena perubahan-perubahan yang dinamis pada *cancer-associated stroma* yang menyerupai reaksi penyembuhan luka. Reaksi ini didukung oleh aktivasi fibroblast *host* yang disebut sebagai "myofibroblast". Reaksi *Desmoplastik* keras jika dijumpai > 50%.
- d. Ekspresi *VEGF-A* positif kuat jika nilai gabungan antara nilai skoring prosentase positività dan nilai skoring intensitas mendapatkan skor 4-6.

3.13. Alur Penelitian



Gambar III. 2. Alur penelitian

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1. Kriteria Subyek Penelitian

Pengumpulan subyek penelitian dimulai dari penelusuran data pasien kanker kolorektal di Bagian Patologi Anatomi FKUI/RS Cipto Mangunkusumo. Dari arsip tahun 2001 sampai 2008 diperoleh 78 kasus yang dapat dianalisis untuk penelitian ini.

Telah didapatkan 42 pasien kanker kolorektal usia kurang dari 40 tahun dan 36 pasien kanker kolorektal usia lebih dari 60 tahun. Terdiri dari pasien laki-laki sebanyak 37 orang dan pasien perempuan sebanyak 41 orang. Karakteristik lainnya terdapat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4. 1. Karakteristik Demografi

Karakteristik	Jumlah	Persentase
Kelompok umur		
- < 40 tahun	42	53,8
- > 60 tahun	36	46,2
Total	78	100,0
Jenis kelamin		
- Laki-laki	37	47,4
- Perempuan	41	52,6
Total	78	100,0

4.2. Histopatologi dan Pentahapan (*Grading*)

Data histopatologi yang diperoleh baik pada usia kurang dari 40 tahun maupun pada usia lebih dari 60 tahun. masing-masing menunjukkan bahwa jenis Adenokarsinoma merupakan jenis terbanyak dengan jumlah yang hampir sama pada kedua kelompok umur. Selain itu, pada usia kurang dari 40 tahun maupun pada usia lebih dari 60 tahun diperoleh data jenis musinosum sama banyak yaitu 4 orang. Namun jenis Karsinoma Sel

Cincin hanya ditemukan pada usia kurang dari 40 tahun sebanyak 4 orang.

Tabel 4. 2.

Tabel 4. 2. Karakteristik jenis Histopatologi dan Grading pada kelompok usia < 40 tahun dan usia > 60 tahun

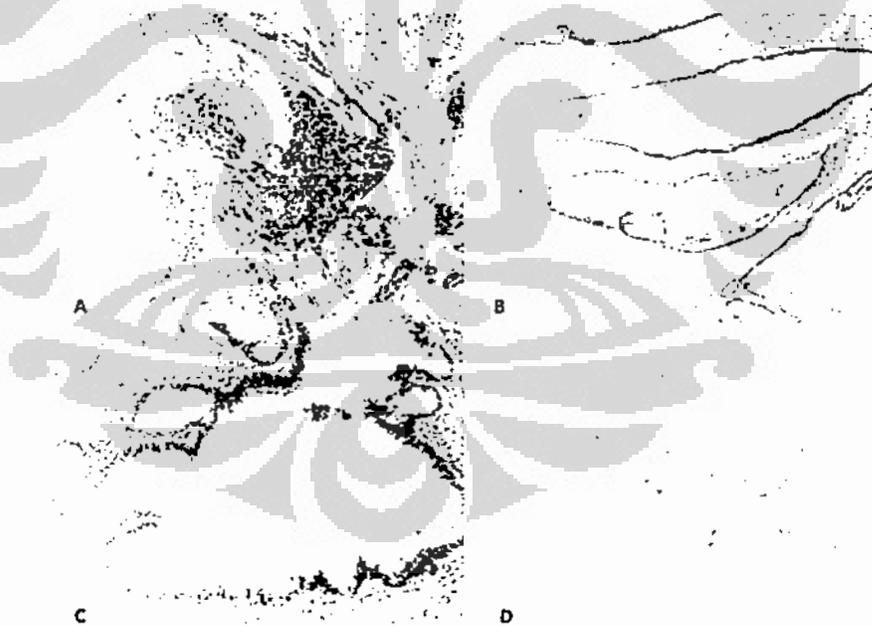
	< 40 tahun	> 60 tahun	Jumlah
	N	N	
Jenis histopatologi :			
Adenokarsinoma	34	32	66
Adenokarsinoma musinosum	4	4	8
Karsinoma sel cincin	4	0	4
Total	42	36	78
Grading :			
High grade	10	9	19
Low grade	32	27	59
Total	42	36	78

4.3. Hasil Pulasan Imunohistokimia VEGF-A

Dari hasil pulasan imunohistokimia spesimen baik pada kelompok umur kurang dari 40 tahun ataupun pada kelompok umur lebih dari 60 tahun diperoleh hasil jenis adenokarsinoma pada kedua kelompok umur menunjukkan positivitas yang hampir sama kuat. Hasil pulasan imunohistokimia VEGF-A dapat dilihat pada **Tabel 4. 3** dan **Gambar 4. 1**.

Tabel 4. 3. Hubungan VEGF-A pada kelompok umur < 40 tahun dan > 60 tahun dengan Jenis tumor, Grading dan Reaksi Desmoplastik

	Ekspresi VEGF-A			
	< 40 tahun (n=42)		> 60 tahun (n=36)	
	(+) Kuat	(+) Ringan	(+) Kuat	(+) Ringan
Tipe tumor :				
- Adenokarsinoma	33 (78,6%)	1 (2,4%)	32 (88,9%)	0
- Mucinosum	4 (9,5%)	0	4 (11,1%)	0
- Signet ring cell	3 (7,1%)	1 (2,4%)	0	0
Grade :				
- High	8 (19%)	1 (2,4%)	9 (25%)	0
- Low	32 (76,2%)	1 (2,4%)	27 (75%)	0
Reaksi Desmoplasia :				
- Keras > 50%	24 (57,1%)	0	14 (38,9%)	0
- Sedikit < 50%	16 (38,1%)	2 (4,8%)	22 (61,1%)	0



Gambar 4. 1. Hasil pulasan Imunohistokimia

(A) kontrol positif (B) kontrol negatif (C) pulasan imunohistokimia VEGF positif kuat (D) pulasan imunohistokimia positif ringan. (200X)

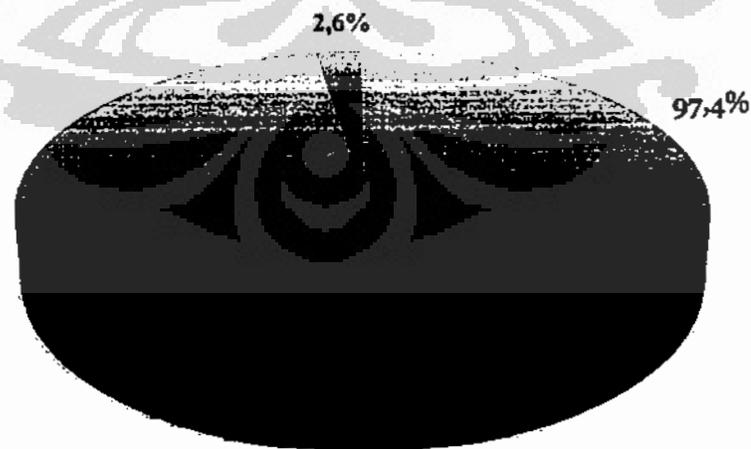
Hasil pulasan imunohistokimia VEGF-A baik pada kelompok usia kurang dari 40 tahun maupun pada kelompok usia lebih dari 60 tahun menunjukkan tidak adanya perbedaan pada positivitas kuat. Dapat dilihat pada Tabel 4. 4.

Tabel 4. 4. Hubungan VEGF-A dengan kelompok usia < 40 tahun dan kelompok usia > 60 tahun

	Ekspresi VEGF-A		Jumlah
	(+) Kuat	(+) Ringan	
Usia :			
- < 40 tahun	40 (95,2%)	2 (4,8%)	42
- > 60 tahun	36 (100%)	0	36

Pada hasil ini tidak dapat dilakukan perhitungan nilai p secara statistik dengan menggunakan rumus Chi Square karena tidak memenuhi persyaratan yaitu disebabkan adanya nilai 0 (nol).

Pada keseluruhan sampel (n=78) diperoleh hasil 97,4% mengekspresikan VEGF-A (+) kuat, dan 2,6% mengekspresikan VEGF-A (+) ringan.



Gambar 4. 2. Diagram *pie* yang memperlihatkan jumlah sampel yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat dan ringan.

Hasil pulasan yang menunjukkan VEGF-A (+) kuat dihubungkan dengan jenis tumor, *grading* dan reaksi desmoplasia, terlihat pada Tabel 4.5. dibawah ini.

Tabel 4. 5. Hubungan VEGF-A (+) Kuat pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun dengan Jenis tumor, Grade dan Reaksi Desmoplastik

	VEGF-A (+) Kuat	
	≤ 40 tahun	≥ 60 tahun
Jenis tumor		
- Adenokarsinoma	33 (78,6%)	32 (88,9%)
- Non Adenokarsinoma	7 (16,7%)	4 (11,1%)
Grade		
- High grade	8 (19%)	9 (25%)
- Low grade	32 (76,2%)	27 (75%)
Reaksi Desmoplastik		
- Keras (> 50%)	24 (57,1%)	14 (38,9%)
- Sedikit (< 50%)	16 (38%)	22 (61,1%)

4.4. Hasil Pulasan HE pada Reaksi Desmoplastik

Penilaian reaksi desmoplastik dilakukan hanya dengan menggunakan spesimen yang diwarnai dengan pewarnaan rutin HE. Hasil pulasan HE pada spesimen dapat memperlihatkan reaksi desmoplastik keras atau ringan baik pada kelompok usia kurang dari 40 tahun maupun pada kelompok usia lebih dari 60 tahun. Dapat dilihat pada Tabel 4. 6.



Gambar 4. 3. (A) Pulasan HE – menunjukkan gambaran reaksi desmoplastik keras (B) Pulasan HE – menunjukkan gambaran reaksi desmoplastik sedikit. (200X)

Tabel 4. 6. Hubungan VEGF-A dengan Reaksi Desmoplastik pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun

		VEGF - A	
		(+) Kuat	(+) Ringan
Usia < 40 tahun			
- Reaksi Desmoplastik	Kcras	24 (57,1%)	0
	Sedikit	16 (38%)	2 (4,8%)
Usia ≥ 60 tahun			
- Reaksi Desmoplastik	Kcras	14 (38,9%)	0
	Sedikit	22 (61,1%)	0

Tabel 4. 7. Perhitungan statistik Reaksi Desmoplastik pada kedua kelompok usia menggunakan rumus Chi-square

	Reaksi Desmoplasia		Jumlah
	Keras	Sedikit	
Usia \leq 40 tahun	24	18	42
Usia $>$ 60 tahun	14	22	36
Jumlah	38	40	78

Dari perhitungan diperoleh nilai :

$$X^2 = 6,49$$

$$p = 0,011$$

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna antara derajat reaksi desmoplastik pada stromal kanker kolorektal usia kurang dari 40 tahun dengan usia lebih dari 60 tahun.

Nilai **Odd Ratio** = 2,1

Artinya : Terdapat kecenderungan sebesar 2,1 kali pada usia muda untuk memiliki reaksi desmoplastik keras dibandingkan pada usia tua.

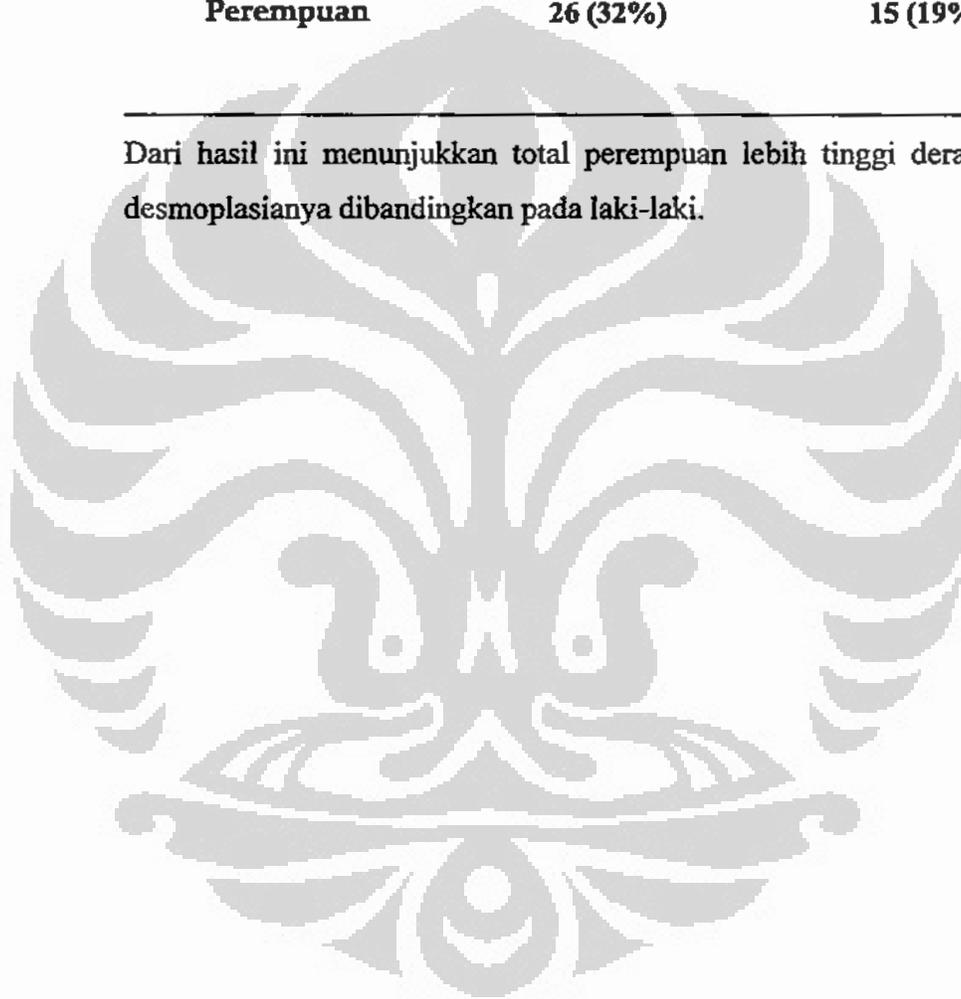
Tabel 4. 8. Hubungan Reaksi Desmoplastik dengan *Grade* tumor pada kelompok usia $<$ 40 tahun dan kelompok usia $>$ 60 tahun

	Reaksi Desmoplastik	
	Keras	Sedikit
Usia \leq 40 tahun :		
Grade tumor		
- <i>High grade</i>	5 (11,9 %)	4 (9,5%)
- <i>Low grade</i>	19 (45,2%)	14 (33,3%)
Usia \geq 60 tahun :		
Grade tumor		
- <i>High grade</i>	4 (11,1%)	5 (13,9%)
- <i>Low grade</i>	10 (27,7%)	17 (47,2)

Tabel 4. 9. Hubungan reaksi desmoplastik dengan jenis kelamin pada total sampel

	Reaksi desmoplasia	
	Keras	Ringan
(n = 78)		
Laki-laki	12 (15%)	25 (32%)
Perempuan	26 (32%)	15 (19%)

Dari hasil ini menunjukkan total perempuan lebih tinggi derajat reaksi desmoplasianya dibandingkan pada laki-laki.



BAB V PEMBAHASAN

5.1. Karakteristik Demografik

Sampel pada penelitian ini adalah pasien kanker kolorektal pada kelompok usia dibawah 40 tahun dan kelompok usia diatas 60 tahun tanpa memperhatikan stadium penyakit. Hal ini mengacu pada data dari RS Cipto Mangunkusumo bahwa umumnya kanker kolorektal datang pertamakali sudah dalam keadaan stadium penyakit yang lanjut. Pada penelitian ini jumlah kasus kanker kolorektal yang memenuhi kriteria inklusi adalah 78 kasus dengan sebaran kelompok usia dibawah 40 tahun sebanyak 42 orang (53,8%) dan kelompok usia diatas 60 tahun sebanyak 36 orang (46,2%). Penentuan usia kurang dari 40 tahun dan lebih dari 60 tahun ditentukan secara arbitrary dan berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu yang pernah dilakukan pada kanker kolorektal. Secara kebetulan jenis kelamin sampel perempuan dan laki-laki pada penelitian ini didapatkan dalam jumlah yang hampir tidak berbeda.

Sampel penelitian yang digunakan tidak hanya berasal dari jaringan operasi tetapi juga dari jaringan hasil biopsi, sehingga kadang-kadang diperoleh jaringan yang kecil dengan jumlah tumor yang sedikit, namun masih termasuk dalam kriteria inklusi.

5.2. Karakteristik Histopatologi dan Pentahapan (*Grading*)

Karakteristik histopatologi yang diperoleh dari penelitian ini baik pada usia kurang dari 40 tahun maupun pada usia lebih dari 60 tahun menunjukkan jenis histopatologi yang terbanyak adalah adenokarsinoma. Hal ini sesuai dengan data dari penelitian-penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya. Sedangkan jenis adenokarsinoma musin dijumpai sama banyaknya pada kedua kelompok usia. Hal ini berbeda dengan beberapa hasil penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya. Chen, *et.al*⁽¹⁾ mendapatkan karakteristik histopatologi dari penelitian yang dilakukannya bahwa jenis adenokarsinoma musin pada pasien kanker

kolorektal usia muda jauh lebih banyak dibandingkan pada usia yang lebih tua. Dari penelitian ini juga didapatkan pada kelompok usia kurang dari 40 tahun terdapat 4 pasien dengan jenis karsinoma sel cincin, dimana pada kelompok usia lebih dari 60 tahun tidak ditemukan jenis tersebut.

Gambaran *Grading* tumor yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang berarti antara kedua kelompok usia, baik untuk sebaran *high grade* maupun *low grade*. Namun demikian sebaran *low grade* lebih banyak dibandingkan sebaran *high grade*, pada kedua kelompok usia.

5.3. Pulasan Imunohistokimia

Pada beberapa penelitian terdahulu mengenai ekspresi VEGF-A dengan menggunakan metode imunohistokimia, pewarnaan mencapai 10-20% dianggap sebagai ekspresi positif.^(9, 36) Hal ini sesuai dengan penelitian ini dimana ditentukan nilai positività <30% memiliki skor 1, dan seterusnya 30-60% skor 2, >60% skor 3.

Dari pulasan imunohistokimia pada penelitian ini diperoleh hasil seluruhnya VEGF-A (+). Tidak terdapat hasil VEGF-A negatif. Baik pada kelompok usia kurang dari 40 tahun maupun pada kelompok usia lebih dari 60 tahun, jenis adenokarsinoma lebih banyak mengekspresikan VEGF-A (+) kuat (78,6% dan 88,9%) dibandingkan dengan jenis histopatologi lainnya.

Pada penelitian ini ingin membuktikan bahwa terdapat perbedaan ekspresi VEGF-A pada usia muda dan usia tua. Namun ternyata hasil penelitian ini tidak memperlihatkan adanya perbedaan ekspresi VEGF-A (+) secara berarti antara kelompok usia muda dan usia tua. Menurut peneliti, hal ini kemungkinan bisa disebabkan karena pemakaian sampel yang berasal dari jaringan biopsi (terlalu kecil) sehingga kurang dapat menggambarkan ekspresi VEGF-A dengan baik. Selain itu dalam penelitian ini tidak memperhatikan stadium penyakit, sedangkan dari hasil penelitian oleh Takahashi *et al*⁽⁴⁵⁾ dengan pewarnaan imunohistokimia nampak bahwa ekspresi protein VEGF dan reseptornya lebih tinggi pada

kanker kolorektal yang telah metastasis dibandingkan dengan yang non-metastasis. Karena itu untuk penelitian lebih lanjut perlu diperhatikan faktor stadium penyakit.

Pada penelitian yang dilakukan oleh George LM, *et al*⁽⁹⁾ diperoleh bukti bahwa meningkatnya VEGF-A terjadi pada tahap akhir dari adenoma-carcinoma sequence didukung oleh penelitian dengan imunohistokimia. George dkk juga membandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan antibodi poliklonal VEGF-A untuk *immunostaining* dan menghasilkan ekspresi sebesar 30% hingga 50% pada kanker kolorektal. Dimana penelitian yang dilakukan oleh George dkk menggunakan antibodi monoklonal VEGF-A untuk imunohistokimia, yang menunjukkan hasil positività sebesar 20% pada kanker kolorektal. Hal ini menunjukkan dengan meningkatnya spesifisitas dari antibodi monoklonal akan menjelaskan prosentasi positività tumor yang lebih rendah pada penelitian oleh George dkk, dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

Pada gambar 4. 3. diagram *pie* memperlihatkan dari total keseluruhan sampel ternyata 96,4% mengekspresikan VEGF (+) kuat dan hanya 2,6% yang mengekspresikan VEGF (+) ringan. Hasil penelitian ini juga tidak dapat diolah secara statistik dengan rumus Chi Square karena terdapat nilai nol pada salah satu sel nya.

Melihat hasil tidak adanya perbedaan ekspresi VEGF pada usia muda dan usia tua, perlu dipertimbangkan disini faktor stroma tumor, dimana telah diketahui dengan baik bahwa stroma juga menghasilkan faktor pertumbuhan VEGF. Suatu kanker tidak hanya terdiri dari sel-sel tumor tetapi juga mengandung infrastruktur stromal, termasuk pembuluh darah tumor yang disiapkan oleh *host*. Faktor-faktor stromal mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel tumor, dimana keduanya merupakan faktor penentu perilaku tumor yang penting.⁽⁴⁶⁾ Sun XF dan Zhang H⁽¹³⁾ menjelaskan pada kanker kolorektal terdapat berbagai variabel pada stromal yang harus diperhatikan karena mempunyai nilai yang berarti terutama berkaitan dengan pengobatan. Pada stromal tumor, sering dapat

dijumpai jenis sel inflamasi yang penting, disebut *Tumor-Associated Macrophag* (TAM), dimana TAM ini mempunyai efek menghambat tumor dan efek mempromosi tumor. TAM memproduksi faktor-faktor pertumbuhan dan angiogenik seperti fibroblast growth factor, VEGF, epidermal growth factor, IL-8, dan juga enzim protease yang akan mendegradasi matriks ekstra sel tumor.

Selama masa progresi tumor, sel-sel tumor harus menata ulang matriks baik dengan cara mengekspresikan protein-protein atau mendegradasi matriks ekstra sel untuk memfasilitasi komunikasi dengan *microenvironment*. Penataan ulang *microenvironment* disekeliling sel-sel tumor ini akan mengakibatkan pelepasan faktor-faktor pertumbuhan yang berhubungan dengan matriks ekstra sel, yang dapat berfungsi untuk menekan atau menginduksi pertumbuhan tumor. Matrix Metalloproteinase (MMP) adalah keluarga proteinase yang mendegradasi matriks ekstraselular, dan MMP ini disekresi baik oleh sel-sel tumor maupun sel-sel stromal. Masing-masing MMP ini spesifik dan memiliki karakteristik yang berbeda, dan mempunyai peran yang menonjol dalam homeostasis jaringan. Lebih jauh lagi, beberapa jenis MMP merangsang angiogenesis untuk mempromosi pertumbuhan tumor dan invasi.⁽¹³⁾

Beberapa faktor pertumbuhan polipeptida yang pro-angiogenik, terutama VEGF, bFGF dan TNF, di ekspresikan sangat tinggi pada perkembangan tumor seperti juga pada proses fisiologis penyembuhan luka. MMP mengatur pelepasan faktor-faktor ini, membuat mereka siap untuk berinteraksi dengan reseptornya pada sel pembuluh darah dan kemudian mengaktifasi perkembangan pembuluh-pembuluh darah yang berhubungan dengan tumor.⁽⁴²⁾

Pada tabel 4. 5. Memperlihatkan *grading* tumor yang lebih rendah (*low grade*) nampak lebih banyak mengekspresikan VEGF-A (+) kuat pada kedua kelompok usia tanpa perbedaan yang berarti. Hal ini berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Kecec, *et.al* ⁽³⁶⁾ dimana tumor dengan *lower grade* cenderung tidak mengekspresikan VEGF-A (negatif). Keterkaitan antara *grading* tumor dengan VEGF-A

memang belum jelas, namun beberapa penelitian terdahulu menunjukkan kecenderungan ekspresi VEGF-A yang makin tinggi pada *grading* tumor yang lebih tinggi, walaupun secara statistik hasil ini tidak bermakna. Masih terdapat banyak kemungkinan untuk meneliti lebih lanjut keterkaitan antara *grading* tumor dengan ekspresi VEGF-A, dengan menggunakan sampel yang lebih besar dan berasal dari jaringan reseksi tumor. Informasi mengenai hal ini tentu sangat berarti sebagai salah satu indikator prognostik.

Secara keseluruhan, Sun XF, *et al* menyimpulkan dalam penelitiannya, bahwa ekspresi VEGF yang tinggi dihubungkan dengan besarnya ukuran tumor, jenis karsinoma non-musin, stadium lanjut, invasi pembuluh darah, penyebaran ke organ hati, banyaknya metastasis dan kekambuhan.⁽¹³⁾

5.4. Pulasan Hematoksilin Eosin

Reaksi Desmoplastik pada penelitian ini dianggap sebagai penelitian awal (*preliminary*), karena peneliti hanya menilai reaksi desmoplastik dengan pulasan rutin HE, bukan pulasan imunohistokimia, dan untuk menjawab hipotesa apakah terdapat perbedaan derajat reaksi desmoplastik pada kelompok usia muda dan usia tua, dan apakah reaksi desmoplastik yang terjadi pada stromal tumor ada hubungannya dengan ekspresi VEGF.

Hasil penelitian (tabel 4. 6) memperlihatkan adanya reaksi desmoplastik keras (57,1%) pada kelompok usia kurang dari 40 tahun yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat. Hal ini nampak sangat berbeda bila dibandingkan dengan kelompok usia 60 tahun lebih yang menunjukkan reaksi desmoplastik keras hanya sebesar 38,9% yang juga mengekspresikan VEGF-A (+) Kuat. Pada kelompok usia ini, yang nampak lebih dominan adalah reaksi desmoplastik yang sedikit (61,1%) namun mengekspresikan VEGF-A (+) kuat.

Dari hasil perhitungan statistik (tabel 4. 7) diperoleh hasil adanya perbedaan yang bermakna pada derajat reaksi desmoplastik usia muda dan

usia tua ($p = 0,01$). Dan ternyata setelah dihitung pula odd ratio nya diperoleh hasil $OR = 2,1$, yang menunjukkan bahwa usia muda memiliki kecenderungan sebesar 2,1 kali untuk memiliki reaksi desmoplastik keras dibandingkan pada usia tua. Hal ini sangat berarti mengingat reaksi desmoplastik merupakan reaksi yang terjadi pada stroma yang dapat menunjang proses tumorigenesis dan merupakan indikator untuk kekambuhan dan progresivitas penyakit.

Adanya reaksi desmoplastik keras yang terkait dengan ekspresi VEGF-A (+) kuat, menunjukkan hal ini sejalan dengan teori yang menjelaskan bahwa reaksi desmoplastik diperkirakan merupakan suatu respon dari sel-sel *host* terhadap adanya rangsangan oleh sel-sel tumor, dimana melibatkan myofibroblast, suatu komponen stroma tumor yang turut berperan dalam *remodeling* jaringan dengan menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan antara lain VEGF untuk mengaktifkan program angiogenik.^(42, 43) Dari gambaran ini menunjukkan bahwa ada hubungannya antara derajat reaksi desmoplastik yang terjadi pada stromal tumor dengan ekspresi VEGF-A.

Namun reaksi desmoplastik sedikit yang terlihat dominan pada kelompok usia lebih dari 60 tahun, yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat, nampaknya tidak sejalan dengan teori. Hal ini masih mungkin disebabkan oleh faktor-faktor lain yang turut berperan dalam menentukan derajat reaksi desmoplasia dan masih memerlukan penelitian lebih lanjut dan lebih spesifik mengenai VEGF pada stromal tumor.

Hal lain yang dapat dilihat dari penelitian ini yaitu keterkaitan antara *grading* tumor dengan reaksi desmoplastik yang terlihat pada tabel 4. 8. Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok usia kurang dari 40 tahun yang mempunyai *grade* tumor yang *low grade* (45,2%) memperlihatkan derajat reaksi desmoplastik nya keras. Sedangkan pada kelompok usia lebih dari 60 tahun yang mempunyai *grade* tumor yang *low grade* (47,2%) memperlihatkan derajat reaksi desmoplastik nya sedikit. Dalam penelitian ini memang tidak bertujuan mencari korelasi antara *grading* tumor dengan reaksi desmoplastik, namun keberadaan data ini

sebagai data sampingan dari penelitian ini kemungkinan memiliki nilai yang cukup berarti apabila diteliti lebih lanjut.

Pada tabel 4. 9 diperlihatkan keterkaitan antara jenis kelamin dengan reaksi desmoplastik. Ternyata hasil penelitian ini memperlihatkan dari keseluruhan sampel, jenis kelamin perempuan lebih banyak mengekspresikan reaksi desmoplastik keras dibandingkan dengan laki-laki. Hal ini menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap faktor-faktor yang turut menentukan mengapa pada perempuan memperlihatkan reaksi desmoplastik keras lebih banyak. Apakah faktor-faktor itu adalah diet, hormonal, sistim imun tubuh dan lain-lain.

Rangkuman :

VEGF-A dianggap sebagai indikator prognostik buruk yang independen untuk *disease free survival* dan *overall survivor*. Selain itu VEGF-A juga merupakan mediator kunci untuk proses angiogenesis, oleh karena itu menghambat proses ini merupakan strategi yang penting dan efektif untuk mengobati kanker. Status VEGF-A penting untuk diketahui karena :

- Untuk mengetahui prognosis tumor
- Untuk kepentingan pengobatan, terutama tumor-tumor yang mengekspresikan faktor ini.

Stromal tumor yang diketahui sangat kompleks, memiliki faktor-faktor stromal yang bervariasi. Melalui stimulasi faktor-faktor stromal, jumlah dan konstruksi pembuluh darah dan kelenjar getah bening pada stromal tumor dapat diubah. Faktor-faktor stromal tersebut antara lain VEGF, VEGFR, TII (Tumor Inflammatory Infiltration), MMP dan lain-lain. Interaksi antara faktor-faktor stromal pertumbuhan dan anti pertumbuhan pada stroma tumor akan mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan progresi kanker kolorektal.

Hasil penelitian yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara ekspresi VEGF-A(+) kuat pada kelompok usia muda dan

usia tua, dapat dipertimbangkan pula pentingnya melihat faktor stadium tumor dalam penelitian ini, selain juga faktor stromal tumor, dimana stromal juga menghasilkan VEGF.

Reaksi desmoplastik merupakan suatu gambaran perubahan yang dinamis pada *cancer-associated stroma*, yang mirip dengan proses penyembuhan luka. Perubahan yang dinamis ini disebabkan karena pada *cancer-associated stroma* terjadi berbagai interaksi antara sel tumor dan sel jaringan *host*. Sel tumor berproliferasi dan menginvasi stroma dimana sel-sel imun *host* berkumpul disekitar jaringan tumor dan kemudian dirangsang pembentukan angiogenesis tumor. Reaksi desmoplastik ini terutama didukung oleh aktivasi fibroblast yang disebut sebagai myofibroblas. Myofibroblas menghasilkan matriks ekstraselular yang mengandung kolagen, yang diperkirakan bertanggung jawab untuk membentuk konsistensi keras pada beberapa karsinoma. Selain itu myofibroblas juga mensekresi faktor-faktor pertumbuhan yang merangsang proliferasi sel tumor, faktor-faktor angiogenik yang dapat mengarah kepada pembentukan pembuluh darah baru pada tumor, dan faktor-faktor inflamasi yang menarik sel-sel imun yang dapat mempromosi tumor. Penelitian lebih lanjut mengenai reaksi desmoplastik ini dengan menggunakan antibody spesifik akan sangat berarti karena reaksi desmoplastik/myofibroblas tumor juga diperkirakan sebagai indikator prognostik.

Hasil penelitian memperlihatkan adanya perbedaan derajat reaksi desmoplastik pada usia muda dan usia tua. Selain itu juga diperlihatkan adanya hubungan antara ekspresi VEGF-A dengan reaksi desmoplastik, dimana reaksi desmoplastik keras memperlihatkan ekspresi VEGF-A (+) kuat pada kelompok usia muda. Pada kelompok usia tua, dimana reaksi desmoplastiknya ringan memperlihatkan ekspresi VEGF-A(+) kuat. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut apakah ada faktor-faktor lain yang turut menentukan hubungan antara reaksi demoplastik dengan ekspresi VEGF-A.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pada keseluruhan sampel (n=78) diperoleh hasil sebanyak 97,4% mengekspresikan VEGF-A (+) kuat, sisanya 2,6% mengekspresikan VEGF-A (+) ringan. Tidak ada perbedaan yang berarti pada kedua kelompok usia.
2. Terdapat perbedaan bermakna derajat reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal usia muda dan usia tua, dimana diperoleh hasil pada usia kurang dari 40 tahun yang menunjukkan reaksi desmoplastik keras sebanyak 57,1% dan pada usia lebih 60 tahun reaksi desmoplastik keras sebesar 38,9%. Sedangkan reaksi desmoplastik sedikit pada usia kurang dari 40 tahun sebesar 42,9% dan pada usia lebih dari 60 tahun sebesar 61,1%.
3. Pada kelompok usia kurang dari 40 tahun dengan reaksi desmoplastik keras dan menunjukkan ekspresi VEGF-A (+) kuat sebesar 57,1%. Ini berarti terdapat hubungan antara ekspresi VEGF-A dengan derajat reaksi desmoplastik pada jaringan stroma kanker kolorektal usia muda. Sedang pada usia lebih dari 60 tahun ternyata diperoleh hasil reaksi desmoplastik sedikit yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat sebesar 61,1%. Hal ini tidak menunjukkan adanya hubungan langsung diantara keduanya. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut, kemungkinan terdapat faktor-faktor lain yang mempengaruhi hal ini.

6.2. Saran

1. Untuk mengetahui lebih jauh mengenai ekspresi VEGF-A, dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melibatkan stadium tumor, selain juga melihat VEGF pada stroma. Kemungkinan hal

ini akan dapat memberikan informasi yang lebih banyak tentang VEGF sebagai salah satu faktor prognostik.

2. Penilaian derajat reaksi desmoplastik pada penelitian ini hanya menggunakan pulasan rutin HE dimana belum dapat memberikan gambaran secara spesifik faktor-faktor apa yang sebenarnya terlibat dalam reaksi ini. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menilai derajat reaksi desmoplastik dengan menggunakan antibodi spesifik α -smooth muscle actin.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai keterkaitan faktor-faktor imun dengan reaksi desmoplastik, untuk mengetahui mengapa pada usia lebih 60 tahun secara dominan dijumpai reaksi desmoplastiknya sedikit namun mengekspresikan VEGF-A (+) kuat.
4. Pada era teknologi "Nano" ini telah terdapat banyak metode pemeriksaan yang menggunakan sampel dalam jumlah yang sangat kecil. Sehingga tergantung pula pada metode pemeriksaannya, sampel kecil masih dapat dipergunakan.
5. Sebagaimana hasil yang diperoleh pada penelitian ini, bahwa kedua kelompok usia mengekspresikan VEGF-A (+) kuat (97,4% dari populasi yang diteliti), maka dapat diusulkan penggunaan terapi anti angiogenik sebagai pengobatan pada kedua kelompok usia tanpa memeriksa terlebih dahulu kadar ekspresi VEGF-A nya.
6. Data lain yang cukup menarik dari penelitian ini adalah usia muda memiliki kecenderungan 2 kali lipat untuk mempunyai reaksi desmoplastik keras disbanding laki-laki. Hal ini juga patut diteliti lebih jauh faktor apa yang menyebabkan hal ini. Selain juga data yang menunjukkan perempuan lebih banyak mempunyai reaksi desmoplastik keras dibandingkan pada laki-laki, kiranya sangat menarik bila diteliti faktor-faktor yang menyebabkan hal ini seperti faktor diet, hormonal, sistim imun dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen LK, Hwang SJ, Li AFY, Lin JK, Wu TC. Colorectal Cancer in Patients 20 Years Old or Less in Taiwan. *South Med J*, 2001;94(12):1202-05.
2. Parry BR, Tan BK, Parry S, Goh HS. Colorectal Cancer in the Young Adult. *Singapore Med J*, 1995;36:306-8
3. Lin JT, Wang WS, Yen CC, Liu JH, Yang MH, Chao TC, Chen PM, Chiou TJ. Outcome of Colorectal Carcinoma in Patients Under 40 Years of Age. *J Gastroenterol. Hepatol.*, 2005;20(6):900-5.
4. Alici S, Aykan NF, Sakar B, Bulutlar G, Kaytan E, et al. Colorectal Cancer in Young Patients: Characteristics and Outcome. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2003;199:85-93.
5. Sudoyo AW. Kanker Kolorektal Usia Muda etnik Jawa, Sunda, Makassar dan Minang di Indonesia: kajian Klinikopatologi dan Imunohistokimia Instabilitas Mikrosatelit. Disertasi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran, Jakarta 2005:p120.
6. Hawk ET, Levin B. Colorectal Cancer Prevention. *J. of Clin. Oncol.*, 2005;23(2):378-91.
7. Hardcastle JD. Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin*, 1997;47:66-8.
8. Pasche B. Novel Pathways Involved in Colorectal Cancer Development and Progression. In: Ramaswamy G, editor. *Forty-third Annual Meeting ASCO 2007, June 1-5, Chicago, IL. American Society of Clin. Oncol.*, 2007;p.208-14.
9. George ML, Tutton MG, Janssen F, Arnaout A, Abulafi AM, et al. VEGF-A, VEGF-C, and VEGF-D in Colorectal Cancer Progression. *Neoplasia*, 2001;3(5):420-27.
10. McLaughlin J, Gallinger S. Cancer Epidemiology. In: Tannock IF, Hill RP. Editors. *The Basic Science of Oncology 4th ed.* New York: McGraw-Hill, 2005:4-27.
11. Weinberg RA. *The Biology of Cancer.* New York: T&F informa, 2007;p.209-54.

12. Hanahan, D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. Cell Press, January 2000;100:57-70.
13. Sun XF, Zhang H. Clinicopathological significance of stromal variables: angiogenesis, lymphangiogenesis, inflammatory infiltration, MMP and PINCH in colorectal carcinomas. Mol. Cancer, BMC, 2006;5(43):1-20.
14. Tassi E, Wellstein A. Tumor Angiogenesis: Initiation and Targeting- Therapeutic Targeting of an FGF-Binding Protein, an Angiogenic Switch Molecule, and Indicator of Early Stages of Gastrointestinal Adenocarcinomas. Cancer Res Treat, 2006;38(4):189-97.
15. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. J. of Cell Science;114(5):853-65.
16. Holmes DIR, Zachary I. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. BMC 2005;6(2):209.1-10.
17. Tsujino T, Seshimo I, Yamamoto H, Ngan CY, Ezumi K, et.al. Stromal Myofibroblasts Predict Disease Recurrence for Colorectal Cancer. Clin. Cancer Res., 2007;13:1-14.
18. Boyle P, Langman JS. ABC of colorectal cancer: Epidemiology. BMJ, 2000;321:805-8.
19. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. Cancer: Principles & Practice of oncology 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008;2:1218-303.
20. Gill S, Blackstock AW, Goldberg RM. Colorectal Cancer-Symposium on Solid Tumors. Mayo Clin. Proceed., January 2007;82(1):114-29.
21. Bendardaf R. Colorectal cancer: from epidemiology to current treatment. www.ljm.org.ly - Libyan J Med, AOP:060714, July 2006:1-10.
22. Potter JD. Colorectal cancer: Molecules and Populations. J. of the Nat. Cancer Inst., 1999;91(11):916-31.
23. Fernebro E, Halvarsson B, Baldetorp B, Nilbert M. Predominance of CIN versus MSI in the development of rectal cancer at young age. BMC Cancer, 2002;2(25):1-8.

24. Departemen Kesehatan RI. Laporan Tahunan Kanker : Direktorat Jenderal Pelayanan Medik & Perhimpunan Patologi Anatomi Indonesia. Jakarta; 1995.
25. Janne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of Colorectal Cancer. *NEJM*, June 2000;342(26):1960-7.
26. Brown JR, DuBois RN. Cox-2: A Molecular Target for Colorectal Cancer Prevention. *J Clin Oncol*, April 2005;23(12):2840-55.
27. Sangha S, Yao M, Wolfe MM. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and colorectal cancer prevention. *PMJ-BMJ*, 2005;81:223-7.
28. Rigas B, Kashfi K. Cancer Prevention: A New Era beyond Cyclooxygenase-2. *J of Pharmacol. and Experiment. Therapeutics*, 2005;314(1):1-8.
29. Preiser CMF, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Isaacson PG. *Gastrointestinal Pathology – an Atlas and text*, 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 964-68.
30. Tassi E, Wellstein A. The Angiogenic Switch Molecule, Secreted FGF-Binding Protein, an Indicator of Early Stages of Pancreatic and Colorectal Adenocarcinoma. *Nat. Inst. of Health*, December, 2006;33(6 Suppl 11):1-15.
31. Pang RWC, Poon RTP. *Clinical Implications of angiogenesis in cancer. Vascular Health and Risk Management*. Dove Medical Press Limited, 2006;2(2):97-108.
32. Ferrara N. Vascular Endothelial Growth Factor: Basic Science and Clinical Progress. *Endocrine Rev.*, 2004;25(4):581-611.
33. Fischer C, Carmeliet P. Inhibiting Vascular Endothelial Growth Factor – Therapeutic Implications, Perspectives and Limitations. *European Gastroenterol. Rev.*, 2005;p.1-8.
34. Ellis LM. Tumor Angiogenesis-Horizons in Cancer Therapeutics: from Bench to Bedside. *Meniscus Educational Inst.*, 2002;3(1):4-18.
35. Parikh AA, Fan F, Liu WB, Ahmad SA, Stoeltzing O, et.al. Neuropilin-1 in Human Colon Cancer: Expression, Regulation, and Role in Induction of Angiogenesis. *American J of Pathol.*, June 2004;164(6):2139-51.

36. Kekec Y, Paydas S, Zorludemir S, Parsak CK, Sakman G, et al. Prognostic Significance of Vascular Endothelial Growth Factor-A Expression in Colorectal Cancer. *J. Cancer Mol.*, 2006;2(4):161-7.
37. Rahimi N. Vascular Endothelial Growth Factor Receptors: Molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. *Nat. Inst. of Health*, November 2006;83(5):1005-16.
38. Boedefeld II WM, Bland KI, Heslin MJ. Recent Insight Into Angiogenesis, Apoptosis, Invasion, and Metastasis in Colorectal Carcinoma. *Ann. of Surg. Oncol.*, 2003;10(8):839-51.
39. Dome B, Hendrix MJC, Paku S, Tovari J, Timar J. Biological Perspectives: Alternative Vascularization Mechanism in Cancer, Pathology and Therapeutic Implications. *The American J. of Pathol.*, January 2007;170:1-15.
40. Bicknell R, Harris L. Novel Angiogenic Signaling Pathways and Vascular Targets. *Annual Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2004;44:219-38.
41. Lee CC, Liu KJ, Huang TS. Tumor-Associated Macrophag: Its Role in Tumor Angiogenesis. *J Cancer Mol*, 2006;2(4):135-40.
42. Tlsty TD, Coussens LM. Tumor Stroma and Regulation of Cancer Development. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis*, 2006;1:119-50.
43. Desmouliere A, Guyot C, Gabbiani G. The Stroma Reaction Myofibroblast: a Key Player in the Control of Tumor Cell Behavior. *Int. J. Dev. Biol.*, 2004; 48:509-17.
44. Hamilton SR, Aaltonen LA. Pathology and Genetics: Tumours of the Digestive System – WHO Classification of Tumours. IARC Press, Lyon, 2000;p110-11.
45. Kuramochi H, Hayashi K, Uchida K, Miyakura S, Shimizu D, Vallböhmer D, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Messenger RNA Expression Level Is Preserved in Liver Metastases Compared with Corresponding Primary Colorectal Cancer. *Clin. Cancer Res.*, January 2006;12(1):29-33.
46. Bosman FT, De Bruine A, Flohil C, Van der Wurff A, et al. Epithelial-stromal interaction in colon cancer. *Int. J. Dev. Biol.*, 1993;37:203-11.

Tabel 1. Data Pasien Kanker Kolorektal Usia < 40 tahun

NO.	NO.PA/BLOK	L/P	UMUR	JENIS KANKER	DIFF	GRADE	RX DSMPPLASIA	INTENSITAS	(%)POSITIF	1 to 3	4 to 6
1	103938	L	23	AdenoCa	sedang	low	sedikit	kuat	70%		+
2	103891	L	28	signet cell	buruk	high	sedikit	kuat	45%		+
3	103566	L	39	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	95%		+
4	0104792 - V	L	24	mucinous	balk	high	keras	kuat	80%		+
5	104137	P	34	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	90%		+
6	105492	P	37	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	40%		+
7	106024	L	36	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	72%		+
8	106650 - V	P	40	AdenoCa	sedang	low	sedikit	sedang	90%		+
9	502401 - IC	P	35	AdenoCa	balk	low	sedikit	sedang	80%		+
10	0502570 - IV	L	33	AdenoCa	balk	low	sedikit	sedang	85%		+
11	0503395 - IC	P	38	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	55%		+
12	0606560-III	P	25	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	80%		+
13	0603920-III	P	30	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	85%		+
14	0606107-V	P	25	AdenoCa	balk	low	sedikit	sedang	65%		+
15	0607216-IV	L	27	signet	buruk	high	keras	kuat	68%		+
16	0600574-IV	L	37	AdenoCa	buruk	high	keras	kuat	80%		+
17	0703921-III	P	37	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	90%		+
18	0703704-V	P	40	Mucinous	balk	high	sedikit	kuat	85%		+
19	0704834-V	P	26	signet cell	buruk	high	sedikit	lemah	40%	+	
20	0706035-IV	P	30	mucinous	buruk	high	keras	sedang	60%		+
21	0800338-IV	P	34	AdenoCa	balk	low	keras	sedang	76%		+
22	0800065-IE	P	26	AdenoCa	balk	low	keras	sedang	72%		+
23	400673	L	30	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	30%		+
24	407123	L	36	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	70%		+
25	0406289-V	L	33	AdenoCa	balk	low	sedikit	sedang	40%		+
26	405690	P	37	AdenoCa	balk	low	keras	sedang	50%		+
27	0401622-III	L	35	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	95%		+
28	405374	P	36	Signet cell	buruk	high	keras	kuat	50%		+
29	0407109-III	P	40	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	85%		+
30	0401761-IC	P	35	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	80%		+
31	401144	L	35	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	85%		+
32	405216	P	29	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	55%		+
33	502956	P	25	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	90%		+
34	505160	L	26	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	45%		+
35	507295	P	24	AdenoCa	balk	low	sedikit	lemah	35%	+	
36	505427	P	31	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	25%		+
37	503542	P	26	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	45%		+
38	507747	L	40	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	70%		+
39	500512	L	40	mucinous	balk	high	sedikit	sedang	40%		+
40	502806	L	27	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	75%		+
41	506913	L	40	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	65%		+
42	405692	L	34	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	80%		+

Tabel 2. Data Pasien Kanker Kolorektal Usia > 60 tahun

NO.	NO. PA/Blok	L/P	UMUR	JENIS KANKER	DIFF	GRADE	RX DSMPLSIA	INTENSITAS	(%)POSITIF	1 to 3	4 to 6
1	0503194-II	P	66	AdenoCa	balk	low	keras	lemah	60%		+
2	0503546-III	P	60	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	80%		+
3	0502617-III	L	69	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	70%		+
4	0502479-III	L	65	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	70%		+
5	607114-VI	L	70	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	80%		+
6	607864-IC	L	63	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	80%		+
7	0607057-IV	P	60	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	95%		+
8	0604059-III	L	65	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	80%		+
9	0700184-III	P	60	AdenoCa	balk	low	keras	sedang	90%		+
10	0700248-IV	L	65	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	78%		+
11	0702994-ID	P	73	AdenoCa	sedang	low	keras	kuat	88%		+
12	0705445-III	P	64	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	75%		+
13	0706178-I	L	68	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	95%		+
14	0701274-IV	P	64	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	80%		+
15	0701571-ID	P	60	AdenoCa	buruk	high	sedikit	kuat	96%		+
16	0703362-IV	P	69	AdenoCa	sedang	low	keras	lemah	75%		+
17	0700620-IB	P	70	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	96%		+
18	0705083-III	L	61	AdenoCa	buruk	high	sedikit	lengah	95%		+
19	0604118-IC	L	60	AdenoCa	buruk	high	keras	sedang	98%		+
20	801320	P	68	mucinous	buruk	high	keras	kuat	80%		+
21	0803247-D	L	70	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	99%		+
22	0803485-IV	L	71	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	76%		+
23	0804720-IC	P	63	AdenoCa	buruk	high	sedikit	kuat	95%		+
24	0802629-IFC	L	64	mucinous	balk	high	keras	kuat	85%		+
25	0802774-IV	L	66	AdenoCa	balk	low	sedikit	sedang	92%		+
26	0802352-IID	L	66	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	75%		+
27	801579	L	63	mucinous	sedang	high	sedikit	sedang	75%		+
28	801246	L	99	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	70%		+
29	801214	P	60	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	60%		+
30	8001196-IIC	P	68	AdenoCa	balk	low	sedikit	sedang	90%		+
31	0804940-IC	L	67	Mucinous	buruk	high	sedikit	sedang	80%		+
32	0804997-IIIF	L	72	AdenoCa	balk	low	sedikit	kuat	88%		+
33	804666	P	60	AdenoCa	balk	low	sedikit	lemah	65%		+
34	804566	P	63	AdenoCa	sedang	low	sedikit	sedang	75%		+
35	803600	P	68	AdenoCa	buruk	high	keras	lemah	60%		+
36	0804034-IF	P	68	AdenoCa	balk	low	keras	kuat	95%		+



UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236 Fax. : 31930372, 3157288 e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : 377 /PT02.FK/ETIK/2008

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL — CLEARANCE

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

The Committee of The Medical research Ethics 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 proposal entitled:

"EKSPRESI VEGF DAN REAKSI DESMOPLASIA SEBAGAI FAKTOR POTENSIAL PROGRESIVITAS PADA PASIEN KANKER KOLOREKTAL USIA MUDA".

Peneliti Utama : dr. ADITYAWATI GANGGAISWARI
Name of the principal investigator

Nama Institusi : YAYASAN KANKER INDONESIA

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Jakarta, 5 Nopember 2008
Chairman
Ketua

Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
DEPARTEMEN PATOLOGI ANATOMIK

Jl. Salemba Raya No. 6, Tromolpos 3225 Jakarta 10002
Telp. : 021-3190 5888 Fax. : 021-3193 4465 E-mail : pakanoko@cbn.net.id

SURAT IZIN PELAKSANAAN PENELITIAN
(SIP)

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : **Dr. Adityawati Ganggaiswari**
Tempat & Tanggal Lahir : **Plaju, 28 Juni 1962**
NIP/NPM/NRP : **-**
Bagian/Instansi asal : **Yayasan Kanker Indonesia**
Judul Penelitian : **Ekspresi VEGF dan reaksi desmoplasia sebagai factor potensial progresivitas pada pasien kanker kolorektal usia muda**

Telah memenuhi segala prasyarat administrative kerjasama/bantuan penelitian dengan Departemen Patologi Anatomi FKUI/Perjan RS. Dr. Cipto Mangunkusumo.
Untuk itu kepada peneliti tersebut di atas diberi izin untuk memulai pelaksanaan kegiatan penelitian di Departemen Patologi Anatomi FKUI/Perjan RS. Dr. Cipto Mangunkusumo dengan jenis pekerjaan administratif/laboratorik berupa :

- Pembuatan HE & IHK

Selama kegiatan penelitian, peneliti akan didampingi oleh/di bawah bimbingan staf Departemen Patologi Anatomi FKUI : **Dr. Ening Krisnuhoni, SpPA.**

Teknisi yang membantu : - **Sdr. Eko Prapujianto** (Pulasan Imunohistokimia)
- **Sdr. Udin Ichwanudin** (Cari Blok)
- **Sdr. Pahang Prihanto** (Pembuatan Unstain dan HE)

Jakarta, 23 Desember 2008

Koordinator Penelitian

Departemen Patologi Anatomi FKUI,



Dr. Kusmardi, MS.

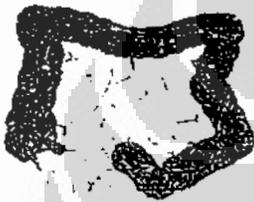
Tindakan :

1. Peneliti Pendamping/Pembimbing.
2. Teknisi Laboratorium.
3. Arsip
4. Kepala Lab.

LAMPIRAN 1

PENJELASAN TENTANG PENELITIAN FAKTOR PENYEBAB PROGRESIVITAS pada TUMOR GANAS USUS BESAR USIA MUDA

Tumor ganas usus besar di Indonesia ternyata lebih banyak dialami oleh orang usia muda tanpa ada riwayat penyakit serupa dalam keluarganya. Padahal, di negara-negara Barat, penyakit ini jarang mengenai orang muda, dan bila terkena, 85% disebabkan oleh faktor keturunan. Selain itu, sifat penyakit di Indonesia cenderung lebih ganas dan sulit diobati. Oleh karena itu timbul pertanyaan faktor apakah yang mempengaruhi perkembangan dan progresivitas penyakit tumor ganas usus besar pada orang Indonesia usia muda.



Penelitian ini bertujuan mencari salah satu faktor penyebab mengapa perjalanan penyakit tumor ganas usus besar pada pasien usia muda lebih cepat memburuk dibandingkan dengan pasien usia tua. Dengan mengetahui salah satu faktor penyebabnya, diharapkan dapat ditetapkan strategi pengobatan yang lebih baik dan tepat di masa datang.

Penelitian akan dilakukan dengan cara memeriksa kembali **contoh jaringan usus besar** yang diangkat (operasi) dan disimpan/ diawetkan dalam parafin padat di Bagian Patologi Anatomi. Contoh jaringan tersebut akan diiris sedikit dan ditelaah di laboratorium dengan teknik pulasan tertentu untuk memunculkan faktor potensial progresivitas yang diduga menyebabkan perjalanan penyakit tumor ganas usus besar tadi menjadi lebih cepat memburuk pada pasien usia muda. Oleh karena itu, tidak ada tindakan yang akan dialami oleh pasien karena penelitian ini hanya memakai bahan jaringan sisa operasi.



Untuk keperluan pemeriksaan contoh jaringan akan diambil dari data sampel dan jaringan yang disimpan dalam parafin padat di Laboratorium Patologi Anatomi. Semua data yang berkaitan dengan sampel akan dijaga kerahasiaannya dan hanya akan digunakan untuk kepentingan penelitian ini.

dr. Adityawati Ganggaiswari
Yayasan Kanker Indonesia
Jl. Dr. GSSY Ratulangie 35
Jakarta 10350
Tel : 021-315 2603
Fax : 021-39 20568

FORMULIR PERSETUJUAN

Semua penjelasan di atas telah disampaikan kepada saya dan semua pertanyaan saya telah dijawab oleh dokter peneliti. Saya paham bahwa jika masih ada hal-hal yang tidak jelas, saya akan mendapat jawaban dari Dr. Adityawati Ganggaiswari.

Dengan menandatangani formulir ini, saya setuju untuk ikut dalam penelitian ini.

Ditandatangani di: _____

Tanggal: _____ - 2008

Pasien,

Saksi,

Nama jelas

Nama jelas

Draft Artikel Majalah Kedokteran Indonesia

Ekspresi VEGF dan Reaksi Desmoplasia sebagai faktor potensial progresivitas pada pasien kanker kolorektal usia muda

Adityawati Ganggaiswari, Siti Boedina Kresno, Ening Krisnuhoni*

Abstrak : Beberapa data dari luar negeri menunjukkan kanker kolorektal predominan terjadi pada populasi usia yang lebih tua (lebih dari 60 tahun). Kanker kolorektal yang terjadi pada usia lebih muda (kurang dari 40 tahun) hanya berkisar antara 3-6%. Dari penelitian terdahulu dilaporkan bahwa kanker kolorektal pada pasien usia muda cenderung memiliki gambaran perilaku tumor yang agresif dengan prognosis buruk. Pada beberapa penelitian, progresivitas dan prognosis yang buruk pada kanker kolorektal, dikaitkan dengan peristiwa angiogenesis. VEGF merupakan salah satu sitokin poten yang terlibat dalam proses angiogenesis sehingga tingginya kadar ekspresi VEGF berhubungan dengan progresivitas penyakit yang lebih tinggi dan prognosis yang buruk. *Cancer-associated stroma* mengalami perubahan-perubahan dinamis yang menyerupai reaksi penyembuhan luka, disebut sebagai reaksi desmoplastik. Reaksi ini didukung terutama oleh aktivasi "myofibroblas". Beberapa penelitian menunjukkan bahwa myofibroblas mempunyai peran untuk memfasilitasi tumorigenesis dan progresi beberapa karsinoma, dan dikenal sebagai suatu petanda penting yang potensial untuk diagnosis, pengobatan dan prognosis kanker. Pada penelitian ini terlihat ekspresi VEGF-A pada usia muda dan usia tua hampir tidak berbeda, namun terdapat perbedaan yang besar pada reaksi desmoplastik usia muda dibandingkan pada usia tua. Nampak pula hubungan yang sejalan antara ekspresi VEGF-A positif kuat dengan reaksi desmoplastik yang keras pada kanker kolorektal usia muda. Hal ini menyokong hipotesa kedua dan ketiga dari penelitian ini. Progresivitas penyakit yang lebih tinggi dan prognosis yang buruk pada pasien kanker kolorektal usia muda kemungkinan disebabkan oleh faktor-faktor lain selain VEGF, yang masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Abstract : Some of the data from abroad shows that colorectal cancer predominantly occurred in the elderly population (above 60 year) whereas the younger age (less than 40 year) occurred only between 3-6%.

From previous research it was reported that colorectal cancer in younger patients apparently have an aggressive tumor behavior with poor prognosis. At several research, progressiveness and poor prognosis of colorectal cancer is connected with the angiogenesis process. VEGF is one of the most potent cytokine which is involved in the angiogenesis process so that the high grade VEGF expression correlated with the higher progressiveness of the disease and poor prognosis. Cancer-associated stroma experiences dynamic alterations which resembles the wound healing reaction, known as desmoplastic reaction. This reaction is mainly supported by "myofibroblast" activation. Some research indicated that myofibroblast has the role in facilitating tumorigenesis and progression of several carcinoma, and also known as an important marking potential for diagnosis, medication and cancer prognosis. This research showed no significant difference between the expression of VEGF-A at young age and old age, but there is a significant difference in desmoplastic reaction in young age compared to old age. It also appeared the co-relationship between strong positive VEGF-A expression and the strong desmoplastic reaction at young age colorectal cancer.

This will endorse the second and third hypothesis of this research. A higher disease progressiveness and poor prognosis at young age colorectal cancer patients may be caused by factors other than VEGF, which still need further investigation.

Pendahuluan

Laporan dari negara maju menunjukkan kanker kolorektal secara predominan ditemukan pada

populasi usia yang lebih tua (60 tahun atau lebih), dan kanker kolorektal yang terjadi pada pasien

usia 40 tahun dilaporkan dalam literatur-literatur dari Amerika dan Eropa hanya ditemukan pada sekitar 2-8 persen.⁽¹⁾ Sedang di Singapore dilaporkan pada periode april 1989 sampai dengan 1992, terdapat 5.9 persen pasien kanker kolorektal usia 40 tahun atau kurang.⁽²⁾ Dari laporan Direktorat Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI bersama Perhimpunan Patologi Anatomi Indonesia pada tahun 1995 diperoleh data dari beberapa tempat di Indonesia yang memperlihatkan usia yang lebih muda pada waktu di diagnosa. Kanker kolorektal yang terjadi pada pasien usia muda (40 tahun atau kurang) cenderung memiliki gambaran perilaku tumor yang agresif dengan prognosis yang buruk. Karakteristik yang diperoleh memperlihatkan gambaran karsinoma berdiferensiasi buruk, jenis adenokarsinoma tipe musin yang memiliki prognosis buruk, stadium lanjut dan sering dijumpai adanya invasi kelenjar limfa yang secara statistik bermakna. Berdasarkan hasil temuan tersebut seringkali disebut bahwa perilaku tumor yang agresif merupakan karakteristik kanker kolorektal pada pasien usia muda.^(3, 4)

Berdasarkan ada tidaknya mutasi germ line pada kanker kolorektal ini maka kanker kolorektal dibedakan atas dua tipe, yaitu tipe herediter dan tipe sporadik. Kanker kolorektal tipe sporadik adalah kanker yang terjadinya tidak didasari atas kelainan herediter. Menurut Sudoyo AW⁽⁵⁾, kanker kolorektal usia muda pada orang Indonesia pribumi yang diwakili oleh suku Jawa, Sunda, Minang dan Makassar tidak ada yang dapat dikelompokkan dalam kanker kolorektal herediter berdasarkan hasil wawancara yang menggunakan

perangkat kriteria Amsterdam sehingga dapat dimasukkan dalam kategori kanker kolorektal sporadik. Transformasi keganasan epitel kolorektal secara khas terjadi sebagai proses bertahap berupa *multistep*, *multipath*, *multifocal* yang pada akhirnya mengakibatkan kerusakan yang kumulatif pada beberapa gen di dalam dan lintas generasi selular.⁽⁶⁾ Sebagian besar penderita kanker usia muda di Rumah Sakit Umum (RSU) Cipto Mangunkusumo cenderung berada pada stadium yang cukup lanjut pada waktu di diagnosis* sehingga mengakibatkan survival yang mengecewakan.⁽⁷⁾ Meskipun penggunaan strategi penapisan meningkat, namun ternyata lebih dari sepertiga pasien kanker kolorektal akhirnya akan mengalami metastasis. Beberapa pilihan pengobatan baru juga telah tersedia untuk kanker kolorektal, namun kebanyakan pasien akhirnya akan meninggal karena metastasis yang tidak terkontrol dalam waktu singkat setelah di diagnosis.⁽⁸⁾ Salah satu komponen terjadinya metastasis adalah neoangiogenesis. Proses neoangiogenesis terjadi pada kehamilan, proses penyembuhan jaringan dan pada proses patogenesis penyakit, dalam hal ini keganasan. Proses ini diperantarai oleh sitokin angiogenesis menyebabkan terjadinya pembentukan sel-sel endotel yang baru yang kemudian menyebabkan terjadinya neovaskularisasi. Adanya neovaskularisasi yang cukup akan memberikan sel tumor tidak saja faktor-faktor nutrisi untuk pertumbuhan, tetapi juga meningkatkan kesempatan bagi sel tumor untuk memasuki sirkulasi dan metastasis. Sitokin yang paling poten adalah Vaskular Endothelial Growth

Factor (VEGF/VEGF-A).⁽⁹⁾ Pada perkembangan suatu tumor, terjadi gangguan keseimbangan produksi molekul angiogenik antara yang proangiogenik dan antiangiogenik, yang disebut "*Angiogenic switch*" yaitu berupa peningkatan faktor proangiogenik dan hal ini memungkinkan pertumbuhan, proliferasi dan metastasis sel-sel tumor berlangsung.^(10, 11, 12)

Pembentukan stroma baru atau stromagenesis yang terbentuk selama perkembangan tumor biasanya longgar dan bersifat *oedematous*, hal ini memudahkan sel-sel endotel membentuk neovaskular dan memudahkan sel tumor melakukan penetrasi melalui stroma tersebut. Diketahui pula bahwa pertumbuhan stroma tumor, jumlah dan bangunan pembuluh darah serta kelenjar limfe berubah oleh berbagai rangsangan faktor-faktor stromal, salah satu faktor stromal adalah VEGF. Interaksi antara faktor pertumbuhan stromal dan anti pertumbuhan stroma tumor mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan progresi kanker kolorektal.⁽¹³⁾

Pada kanker kolorektal, beberapa penelitian menunjukkan angiogenesis merupakan suatu peristiwa yang penting sekali yang dapat mengarah pada progresi kanker kolon. Faktanya, kanker kolorektal merupakan salah satu model terbaik untuk penelitian tentang angiogenesis tumor. Beberapa regulator angiogenik, termasuk VEGF, akan menunjukkan peningkatan ekspresi pada sel-sel kanker dan jaringan, pada kanker kolon yang lanjut.⁽¹⁴⁾ Peran VEGF pada kanker kolorektal terutama difokuskan pada VEGF-A, yang konsentrasinya akan meningkat pada stadium lanjut. Ekspresi isoform

VEGF₋₁₂₁ dan VEGF₋₁₆₅ dihubungkan dengan progresi kanker dan penyebaran limfatik.⁽⁹⁾ Kemampuan angiogenesis, limfangiogenesis yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada kanker kolorektal, berkorelasi dengan keganasan yang lebih tinggi serta survival yang buruk.^(13, 15, 16)

Masih dalam kaitannya dengan pembentukan stroma pada kanker, *cancer-associated stroma* merupakan medium kompleks dimana terjadi berbagai interaksi antara tumor dan jaringan sel host. Sel tumor berproliferasi dan menginvasi stroma dimana sel-sel imun host berkumpul disekitar jaringan tumor dan mengembangkan angiogenesis tumor. Dikarenakan perubahan-perubahan dinamis pada *cancer-associated stroma* menyerupai reaksi penyembuhan luka, maka hal ini disebut sebagai reaksi desmoplastik. Reaksi desmoplastik diperkirakan didukung terutama oleh aktivasi fibroblast host yang disebut sebagai "myofibroblast". Beberapa penelitian menunjukkan bahwa myofibroblast kemungkinan mempunyai peran sebagai pendukung atau memfasilitasi tumorigenesis dan progresi beberapa karsinoma, sehingga mempunyai nilai klinis dan dikenal sebagai suatu petanda penting yang potensial untuk diagnosis, pengobatan dan prognosis kanker.⁽¹⁷⁾

Penelitian ini akan membandingkan ekspresi VEGF-A dan reaksi desmoplastik pada kanker kolorektal usia muda dengan usia tua dengan mengabaikan stadium tumor. Karena sampai saat ini belum terdapat data/gambaran khusus mengenai pola ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia muda dan usia tua di Indonesia, dan

melihat bahwa pasien kanker kolorektal usia muda memiliki perjalanan penyakit yang lebih progresif, menjadi pertanyaan apakah ekspresi VEGF-A yang merupakan salah satu faktor risiko potensial terhadap terjadinya progresivitas kanker kolorektal lebih tinggi pada usia muda dibanding usia tua. Lebih lanjut, dengan diketahui adanya interaksi antara factor stromal dan ekspresi VEGF maka ingin diketahui pula peran factor stromal didalam progresivitas tumor dengan cara melihat adakah hubungan keberadaan myofibroblas yang diwujudkan dalam reaksi desmoplastik dengan ekspresi VEGF-A. Ekspresi VEGF-A yang tinggi menunjukkan kecenderungan peningkatan vaskularisasi pada tumor yang akan memudahkan terjadinya metastasis dan memicu progresivitas penyakit yang lebih tinggi.

METODOLOGI

Angiogenesis merupakan langkah yang esensial baik pada pertumbuhan tumor primer maupun metastasis. Kemampuan angiogenesis yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada kanker kolorektal, berkorelasi dengan keganasan yang lebih tinggi dan survival yang buruk. ^(15, 18)

Pada penelitian ini, ekspresi VEGF-A pada pasien kanker kolorektal usia kurang dari 40 tahun yang seringkali prognosisnya lebih buruk, dibandingkan dengan ekspresi VEGF-A pasien kanker kolorektal usia lebih 60 tahun. Sekaligus juga membandingkan reaksi desmoplastik yang terjadi pada kedua kelompok usia tersebut diatas. Dimana reaksi desmoplastik pada beberapa penelitian mempunyai peran sebagai

pendukung atau memfasilitasi tumorigenesis dan progresi beberapa karsinoma, sehingga merupakan suatu petanda penting yang potensial untuk diagnosis dan prognosis kanker. ⁽¹⁷⁾

Penelitian ini merupakan studi retrospektif mengenai ekspresi VEGF-A dan reaksi Desmoplastik pada sampel PA pasien kanker kolorektal usia muda (≤ 40 tahun) dan pada pasien kanker kolorektal usia tua (≥ 60 tahun). Ekspresi VEGF-A diperiksa dengan menggunakan metode Imunohistokimia. Reaksi Desmoplastik diperiksa dengan memberikan pulasan rutin Hematoxylin Eosin dan sediaan dibaca dengan menggunakan mikroskop cahaya.

Populasi penelitian adalah jaringan yang berasal dari hasil biopsi dan reseksi jaringan massa tumor adenokarsinoma kolorektal yang diperoleh dari pasien-pasien usia muda (≤ 40 tahun) dan usia tua (≥ 60 tahun).

Sampel penelitian adalah blok parafin jaringan massa tumor adenokarsinoma kolorektal yang digunakan untuk pemeriksaan VEGF-A dengan metode imunohistokimia, dan juga digunakan untuk pemeriksaan Reaksi Desmoplasia dengan membuat pulasan histopatologi rutin Hematoksilin Eosin dari massa tumor. Sampel diambil dari tahun 2001 hingga 2008, dengan besar sampel untuk masing-masing kelompok usia adalah 42 sampel untuk usia kurang dari 40 tahun dan 36 sampel untuk usia lebih dari 60 tahun.

Bahan penelitian adalah spesimen blok parafin pasien tumor kolorektal yang menjalani pemeriksaan dan

pengobatan di RS Ciptomangunkusumo pada tahun 2001 hingga 2008. Masing-masing spesimen dibuat irisan setebal 4 μ m dan direkatkan pada gelas obyek sebanyak 3 buah, untuk pemeriksaan histopatologi dan melihat reaksi desmoplasia serta ekspresi protein VEGF-A. Kontrol positif digunakan jaringan kanker payudara.

Meningkatnya proses angiogenesis dideteksi dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap antigen VEGF-A, dengan menggunakan antibodi monoklonal VEGF-A dari Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA, USA, dengan memakai antibodi sekunder dari Trekkie Universal Link, Biocare Medical, USA.

Pulasan Imunohistokimia

Pulasan imunohistokimia tidak dilakukan dengan prosedur yang standar yaitu tanpa menggunakan *Antigen Retrieval* dan tidak dilakukan *over night*. Hal ini dilaksanakan setelah sebelumnya dilakukan *trial* dengan menggunakan *antigen retrieval* dan antibodi primer dengan pengenceran 1/150, 1/200, 1/400, dan tanpa *antigen retrieval* dengan pengenceran antibodi 1/100, 1/150 dan 1/200. Akhirnya diputuskan yang terbaik adalah tanpa menggunakan *antigen retrieval* dengan pengenceran antibodi 1/150.

Hasil :

Kriteria Subyek Penelitian

Pengumpulan subyek penelitian dimulai dari penelusuran data pasien kanker kolorektal di Bagian Patologi Anatomi FKUI/RS Cipto Mangunkusumo. Dari arsip tahun 2001 sampai 2008 diperoleh 78 kasus yang dapat dianalisis untuk penelitian ini.

Telah didapatkan 42 pasien kanker kolorektal usia kurang dari 40 tahun dan 36 pasien kanker kolorektal usia lebih dari 60 tahun. Terdiri dari pasien laki-laki sebanyak 37 orang dan pasien perempuan sebanyak 41 orang. Karakteristik lainnya terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Demografi

Karakteristik	Jumlah	Persentase
< 40 tahun	42	53,8
> 60 tahun	36	46,2
Total	78	100,0
Laki-laki	37	47,4
Perempuan	41	52,6
Total	78	100,0

Histopatologi dan Pentahapan (*Grading*)

Data histopatologi yang diperoleh baik pada usia kurang dari 40 tahun maupun pada usia lebih dari 60 tahun, masing-masing menunjukkan bahwa jenis Adenokarsinoma merupakan jenis terbanyak dengan jumlah yang hampir sama pada kedua kelompok umur. Selain itu, pada usia kurang dari 40 tahun maupun pada usia lebih dari 60 tahun diperoleh data jenis musinosum sama banyak yaitu 4 orang. Namun jenis Karsinoma Sel Cincin hanya ditemukan pada usia kurang dari 40 tahun sebanyak 4 orang. Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik jenis Histopatologi dan *Grading* pada kelompok usia < 40 tahun dan usia > 60 tahun

	< 40 tahun	> 60 tahun	Jumlah
	N	N	
Jenis histopatologi :			
Adenokarsinoma	34	32	66
Adenokarsinoma musinosum	4	4	8
Karsinoma sel cincin	4	0	4
Total	42	36	78
Grading :			
High grade	10	9	19
Low grade	32	27	59
Total	42	36	78

Hasil Pulasan Imunohistokimia VEGF-A

Dari hasil pulasan imunohistokimia spesimen baik pada kelompok umur kurang dari 40 tahun ataupun pada kelompok umur lebih dari 60 tahun diperoleh hasil jenis adenokarsinoma pada kedua kelompok umur menunjukkan positività yang hampir sama kuat. Hasil pulasan imunohistokimia VEGF-A dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1. **Tabel 3. Hubungan VEGF-A pada kelompok umur < 40 tahun dan > 60 tahun dengan Jenis tumor, Grading dan Reaksi Desmoplastik**

	Eksresi VEGF-A			
	< 40 tahun (n=42)		> 60 tahun (n=36)	
	(+) Kuat	(+) Ringan	(+) Kuat	(+) Ringan
Tipe tumor :				
- Adenokarsinoma	33 (78,6%)	1 (2,8%)	33 (91,9%)	0
- Mammoma	4 (9,5%)	0	4 (11,1%)	0
- Squam ring sel	3 (7,1%)	1 (2,8%)	0	0
Grade :				
- High	8 (19%)	1 (2,8%)	9 (25%)	0
- Low	22 (52,4%)	1 (2,8%)	27 (75%)	0
Reaksi Desmoplastik :				
- Kurang 30%	24 (57,1%)	0	14 (38,9%)	0
- Lebih 30%	14 (32,9%)	3 (8,6%)	22 (61,1%)	0



Gambar 1. Hasil pulasan Imunohistokimia

(A) kontrol positif (B) kontrol negatif (C) pulasan imunohistokimia VEGF positif kuat (D) pulasan imunohistokimia positif ringan. (200X)

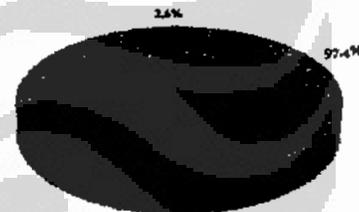
Hasil pulasan imunohistokimia VEGF-A baik pada kelompok usia kurang dari 40 tahun maupun pada kelompok usia lebih dari 60 tahun menunjukkan tidak adanya

perbedaan pada positività kuat. Dapat dilihat pada Tabel IV. 4.

Tabel 4. Hubungan VEGF-A dengan kelompok usia < 40 tahun dan kelompok usia > 60 tahun

	Eksresi VEGF-A		Jumlah
	(+) Kuat	(+) Ringan	
Usia :			
- < 40 tahun	40 (95,2%)	2 (4,8%)	42
- > 60 tahun	36 (100%)	0	36

Pada hasil ini tidak dapat dilakukan perhitungan nilai p secara statistik dengan menggunakan rumus Chi Square karena tidak memenuhi persyaratan yaitu disebabkan adanya nilai 0.



Gambar 2. Diagram pie yang memperlihatkan jumlah sampel yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat dan ringan.

Hasil pulasan yang menunjukkan VEGF-A (+) kuat dihubungkan dengan jenis tumor, *grading* dan reaksi desmoplasia, terlihat pada Tabel 5. dibawah ini.

Tabel 5. Hubungan VEGF-A (+) Kuat pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun dengan Jenis tumor, Grade dan Reaksi Desmoplastik

	VEGF-A (+) Keras	
	≤ 40 tahun	≥ 60 tahun
Jenis tumor		
- Adenokarsinoma	31 (78,0%)	32 (88,9%)
- Non Adenokarsinoma	7 (16,7%)	4 (11,1%)
Grade		
- High grade	3 (10%)	9 (25%)
- Low grade	32 (78,2%)	27 (75%)
Reaksi Desmoplastik		
- Keras (> 50%)	14 (37,1%)	14 (38,9%)
- Sedikit (< 50%)	16 (39%)	22 (61,1%)

Hasil Pulasan HE pada Reaksi Desmoplastik

Penilaian reaksi desmoplastik dilakukan hanya dengan menggunakan spesimen yang diwarnai dengan pewarnaan rutin HE. Hasil pulasan HE pada spesimen dapat memperlihatkan reaksi desmoplastik keras atau ringan baik pada kelompok usia kurang dari 40 tahun maupun pada kelompok usia lebih dari 60 tahun. Dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hubungan VEGF-A dengan Reaksi Desmoplastik pada kelompok usia < 40 tahun dan > 60 tahun

	VEGF-A	
	(+) Keras	(-) Ringan
Usia < 40 tahun		
- Keras	14 (37,1%)	0
- Sedikit Desmoplastik	16 (41,7%)	2 (5,3%)
Usia > 60 tahun		
- Keras	14 (38,9%)	0
- Sedikit Desmoplastik	22 (57,1%)	0



Gambar 3. (A) Pulasan HE - menunjukkan gambaran reaksi desmoplastik keras (B) Pulasan HE - menunjukkan gambaran reaksi desmoplastik sedikit. (200X)

Tabel 7. Perhitungan statistik Reaksi Desmoplastik pada kedua kelompok usia menggunakan rumus Chi-square

	Reaksi Desmoplastik		Jumlah
	Keras	Sedikit	
Usia ≤ 40 tahun	14	18	32
Usia > 60 tahun	14	22	36
Jumlah	28	40	78

Dari perhitungan diperoleh nilai :
 $X^2 = 6,49$
 $p = 0,011$

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna antara derajat reaksi desmoplastik pada stromal kanker kolorektal usia kurang dari 40 tahun dengan usia lebih dari 60 tahun.

Nilai Odd Ratio = 2,1
 Artinya : Terdapat kecenderungan sebesar 2,1 kali pada usia muda untuk memiliki reaksi desmoplastik keras dibandingkan pada usia tua.

Tabel 8. Hubungan Reaksi Desmoplastik dengan Grade tumor pada kelompok usia < 40 tahun dan kelompok usia > 60 tahun

	Reaksi Desmoplastik	
	Keras	Sedikit
Grade tumor		
- High grade	5 (11,9%)	4 (9,2%)
- Low grade	19 (42,2%)	14 (31,2%)
Grade tumor		
- High grade	4 (11,1%)	3 (13,9%)
- Low grade	10 (27,7%)	17 (47,2%)

Tabel 4. 9. Hubungan reaksi desmoplastik dengan jenis kelamin pada total sampel

	Reaksi desmoplasia	
	Keras	Ringan
(n = 78)		
Laki-laki	12 (15%)	25 (32%)
Perempuan	26 (33%)	15 (19%)

Dari hasil ini menunjukkan total perempuan lebih tinggi derajat reaksi desmoplasianya dibandingkan pada laki-laki.

Pembahasan :

Karakteristik Demografik

Sampel pada penelitian ini adalah pasien kanker kolorektal pada kelompok usia dibawah 40 tahun dan kelompok usia diatas 60 tahun tanpa memperhatikan stadium penyakit. Hal ini mengacu pada data dari RS Cipto Mangunkusumo bahwa umumnya kanker kolorektal datang pertamakali sudah dalam keadaan stadium penyakit yang lanjut. Pada penelitian ini jumlah kasus kanker kolorektal yang memenuhi kriteria inklusi adalah 78 kasus dengan sebaran kelompok usia dibawah 40 tahun sebanyak 42 orang (53,8%) dan kelompok usia diatas 60 tahun sebanyak 36 orang (46,2%). Penentuan usia kurang dari 40 tahun dan lebih dari 60 tahun ditentukan secara arbitrary dan berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu yang pernah dilakukan pada kanker kolorektal. Secara kebetulan jenis kelamin sampel perempuan dan laki-laki pada penelitian ini didapatkan dalam jumlah yang hampir tidak berbeda.

Sampel penelitian yang digunakan tidak hanya berasal dari jaringan operasi tetapi juga dari jaringan hasil biopsi, sehingga kadang-kadang diperoleh jaringan yang kecil dengan jumlah tumor yang sedikit, namun masih termasuk dalam kriteria inklusi.

Karakteristik Histopatologi dan Pentahapan (*Grading*)

Karakteristik histopatologi yang diperoleh dari penelitian ini baik pada usia kurang dari 40 tahun maupun pada usia lebih dari 60 tahun menunjukkan jenis histopatologi yang terbanyak adalah adenokarsinoma. Hal ini sesuai dengan data dari penelitian-penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya. Sedangkan jenis adenokarsinoma musin dijumpai sama banyaknya pada kedua kelompok usia. Hal ini berbeda dengan beberapa hasil penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya. Chen, *et.al*⁽¹⁾ mendapatkan karakteristik histopatologi dari penelitian yang dilakukannya bahwa jenis adenokarsinoma musin pada pasien kanker kolorektal usia muda jauh lebih banyak dibandingkan pada usia yang lebih tua. Dari penelitian ini juga didapatkan pada kelompok usia kurang dari 40 tahun terdapat 4 pasien dengan jenis karsinoma sel cincin, dimana pada kelompok usia lebih dari 60 tahun tidak ditemukan jenis tersebut.

Gambaran *Grading* tumor yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang berarti antara kedua kelompok usia, baik untuk sebaran *high grade* maupun *low grade*. Namun demikian sebaran *low grade* lebih banyak dibandingkan sebaran *high grade*, pada kedua kelompok usia.

Dari pulasan imunohistokimia pada penelitian ini diperoleh hasil seluruhnya VEGF-A (+). Tidak terdapat hasil VEGF-A negatif. Baik pada kelompok usia kurang dari 40 tahun maupun pada kelompok usia lebih dari 60 tahun, jenis

adenokarsinoma lebih banyak mengekspresikan VEGF-A (+) kuat (78,6% dan 88,9%) dibandingkan dengan jenis histopatologi lainnya. Pada penelitian ini ingin membuktikan bahwa terdapat perbedaan ekspresi VEGF-A pada usia muda dan usia tua. Namun ternyata hasil penelitian ini tidak memperlihatkan adanya perbedaan ekspresi VEGF-A (+) secara berarti antara kelompok usia muda dan usia tua. Menurut peneliti, hal ini kemungkinan bisa disebabkan karena pemakaian sampel yang berasal dari jaringan biopsi (terlalu kecil) sehingga kurang dapat menggambarkan ekspresi VEGF-A dengan baik. Selain itu dalam penelitian ini tidak memperhatikan stadium penyakit, sedangkan dari hasil penelitian oleh Takahashi *et al*⁽¹⁹⁾ dengan pewarnaan imunohistokimia nampak bahwa ekspresi protein VEGF dan reseptornya lebih tinggi pada kanker kolorektal yang telah metastasis dibandingkan dengan yang non-metastasis. Karena itu untuk penelitian lebih lanjut perlu diperhatikan faktor stadium penyakit.

Grading tumor yang lebih rendah (*low grade*) nampak lebih banyak mengekspresikan VEGF-A (+) kuat pada kedua kelompok usia tanpa perbedaan yang berarti. Hal ini berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Kekec, *et.al*⁽²⁰⁾ dimana tumor dengan *lower grade* cenderung tidak mengekspresikan VEGF-A (negatif). Keterkaitan antara *grading* tumor dengan VEGF-A memang belum jelas, namun beberapa penelitian terdahulu menunjukkan kecenderungan ekspresi VEGF-A yang makin tinggi pada *grading* tumor yang lebih tinggi, walaupun

secara statistik hasil ini tidak bermakna. Masih terdapat banyak kemungkinan untuk meneliti lebih lanjut keterkaitan antara *grading* tumor dengan ekspresi VEGF-A, dengan menggunakan sampel yang lebih besar dan berasal dari jaringan reseksi tumor. Informasi mengenai hal ini tentu sangat berarti sebagai salah satu indikator prognostik.

Secara keseluruhan, Sun XF, *et al* menyimpulkan dalam penelitiannya, bahwa ekspresi VEGF yang tinggi dihubungkan dengan besarnya ukuran tumor, jenis karsinoma non-musin, stadium lanjut, invasi pembuluh darah, penyebaran ke organ hati, banyaknya metastasis dan kekambuhan.⁽¹³⁾

Pada gambar 2. diagram *pie* memperlihatkan dari total keseluruhan sampel ternyata 96,4% mengekspresikan VEGF (+) kuat dan hanya 2,6% yang mengekspresikan VEGF (+) ringan. Hasil penelitian ini juga tidak dapat diolah secara statistik dengan rumus Chi Square karena terdapat nilai nol pada salah satu sel nya.

Melihat hasil tidak adanya perbedaan ekspresi VEGF pada usia muda dan usia tua, perlu dipertimbangkan disini faktor stroma tumor, dimana telah diketahui dengan baik bahwa stroma juga menghasilkan faktor pertumbuhan VEGF. Suatu kanker tidak hanya terdiri dari sel-sel tumor tetapi juga mengandung infrastruktur stromal, termasuk pembuluh darah tumor yang disiapkan oleh *host*. Faktor-faktor stromal mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel tumor, dimana keduanya merupakan faktor penentu perilaku tumor yang penting.⁽²¹⁾ Sun XF dan Zhang H⁽¹³⁾

menjelaskan pada kanker kolorektal terdapat berbagai variabel pada stromal yang harus diperhatikan karena mempunyai nilai yang berarti terutama berkaitan dengan pengobatan. Pada stromal tumor, sering dapat dijumpai jenis sel inflamasi yang penting, disebut *Tumor-Associated Macrophag (TAM)*, dimana TAM ini mempunyai efek menghambat tumor dan efek mempromosi tumor. TAM memproduksi faktor-faktor pertumbuhan dan angiogenik seperti fibroblast growth factor, VEGF, epidermal growth factor, IL-8, dan juga enzim protease yang akan mendegradasi matriks ekstra sel tumor.

Selama masa progresi tumor, sel-sel tumor harus menata ulang matriks baik dengan cara mengekspresikan protein-protein atau mendegradasi matriks ekstra sel untuk memfasilitasi komunikasi dengan *microenvironment*. Penataan ulang *microenvironment* disekeliling sel-sel tumor ini akan mengakibatkan pelepasan faktor-faktor pertumbuhan yang berhubungan dengan matriks ekstra sel, yang dapat berfungsi untuk menekan atau menginduksi pertumbuhan tumor. Matrix Metalloproteinase (MMP) adalah keluarga proteinase yang mendegradasi matriks ekstraselular, dan MMP ini disekresi baik oleh sel-sel tumor maupun sel-sel stromal. Masing-masing MMP ini spesifik dan memiliki karakteristik yang berbeda, dan mempunyai peran yang menonjol dalam homeostasis jaringan. Lebih jauh lagi, beberapa jenis MMP merangsang angiogenesis untuk mempromosi pertumbuhan tumor dan invasi.⁽¹³⁾

Reaksi Desmoplastik pada penelitian ini dianggap sebagai

penelitian awal (*preliminary*), karena peneliti hanya menilai reaksi desmoplastik dengan pulasan rutin HE, bukan pulasan imunohistokimia, dan untuk menjawab hipotesa apakah terdapat perbedaan derajat reaksi desmoplastik pada kelompok usia muda dan usia tua, dan apakah reaksi desmoplastik yang terjadi pada stromal tumor ada hubungannya dengan ekspresi VEGF.

Hasil penelitian memperlihatkan adanya reaksi desmoplastik keras (57,1%) pada kelompok usia kurang dari 40 tahun yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat. Hal ini nampak sangat berbeda bila dibandingkan dengan kelompok usia 60 tahun lebih yang menunjukkan reaksi desmoplastik keras hanya sebesar 38,9% yang juga mengekspresikan VEGF-A (+) Kuat. Pada kelompok usia ini, yang nampak lebih dominan adalah reaksi desmoplastik yang sedikit (61,1%) namun mengekspresikan VEGF-A (+) kuat. Dari hasil perhitungan statistik (tabel 7) diperoleh hasil adanya perbedaan yang bermakna pada derajat reaksi desmoplastik usia muda dan usia tua ($p = 0,01$). Dan ternyata setelah dihitung pula odd ratio nya diperoleh hasil OR = 2,1, yang menunjukkan bahwa usia muda memiliki kecenderungan sebesar 2,1 kali untuk memiliki reaksi desmoplastik keras dibandingkan pada usia tua. Hal ini sangat berarti mengingat reaksi desmoplastik merupakan reaksi yang terjadi pada stroma yang dapat menunjang proses tumorigenesis dan merupakan indikator untuk kekambuhan dan progresivitas penyakit.

Adanya reaksi desmoplastik keras yang terkait dengan ekspresi VEGF-A (+) kuat, menunjukkan hal ini

sejalan dengan teori yang menjelaskan bahwa reaksi desmoplastik diperkirakan merupakan suatu respon dari sel-sel *host* terhadap adanya rangsangan oleh sel-sel tumor, proses ini mirip dengan proses penyembuhan luka, dimana melibatkan myofibroblast, suatu komponen stroma tumor yang turut berperan dalam *remodeling* jaringan dengan menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan antara lain VEGF untuk mengaktifkan program angiogenik.^(22, 23) Dari gambaran ini menunjukkan bahwa ada hubungannya antara derajat reaksi desmoplastik yang terjadi pada stromal tumor dengan ekspresi VEGF-A. Namun reaksi desmoplastik sedikit yang terlihat dominan pada kelompok usia lebih dari 60 tahun, yang mengekspresikan VEGF-A (+) kuat, nampaknya tidak sejalan dengan teori. Hal ini masih mungkin disebabkan oleh faktor-faktor lain yang turut berperan dalam menentukan derajat reaksi desmoplasia dan masih memerlukan penelitian lebih lanjut dan lebih spesifik mengenai VEGF pada stromal tumor. Hal lain yang dapat dilihat dari penelitian ini yaitu keterkaitan antara *grading* tumor dengan reaksi desmoplastik yang terlihat pada tabel 8. Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok usia kurang dari 40 tahun yang mempunyai *grade* tumor yang *low grade* (45,2%) memperlihatkan derajat reaksi desmoplastik nya keras. Sedangkan pada kelompok usia lebih dari 60 tahun yang mempunyai *grade* tumor yang *low grade* (47,2%) memperlihatkan derajat reaksi desmoplastik nya sedikit. Dalam penelitian ini memang tidak bertujuan mencari korelasi antara

grading tumor dengan reaksi desmoplastik, namun keberadaan data ini sebagai data sampingan dari penelitian ini kemungkinan memiliki nilai yang cukup berarti apabila diteliti lebih lanjut.

Pada tabel 9 diperlihatkan keterkaitan antara jenis kelamin dengan reaksi desmoplastik. Ternyata hasil penelitian ini memperlihatkan dari keseluruhan sampel, jenis kelamin perempuan lebih banyak mengekspresikan reaksi desmoplastik keras dibandingkan dengan laki-laki. Hal ini menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap faktor-faktor yang turut menentukan mengapa pada perempuan memperlihatkan reaksi desmoplastik keras lebih banyak. Apakah faktor-faktor itu adalah diet, hormonal, sistim imun tubuh dan lain-lain.

Rangkuman :

VEGF-A dianggap sebagai indikator prognostik buruk yang independen untuk *disease free survival* dan *overall survivor*. Selain itu VEGF-A juga merupakan mediator kunci untuk proses angiogenesis, oleh karena itu menghambat proses ini merupakan strategi yang penting dan efektif untuk mengobati kanker. Status VEGF-A penting untuk diketahui karena :

- Untuk mengetahui prognosis tumor
- Untuk kepentingan pengobatan, terutama tumor-tumor yang mengekspresikan faktor ini.

Stromal tumor yang diketahui sangat kompleks, memiliki faktor-faktor stromal yang bervariasi. Melalui stimulasi faktor-faktor stromal, jumlah dan konstruksi pembuluh darah dan kelenjar getah

bening pada stromal tumor dapat diubah. Faktor-faktor stromal tersebut antara lain VEGF, VEGFR, TII (Tumor Inflammatory Infiltration), MMP dan lain-lain. Interaksi antara faktor-faktor stromal pertumbuhan dan anti pertumbuhan pada stroma tumor akan mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan progresi kanker kolorektal.

Hasil penelitian yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara ekspresi VEGF-A(+) kuat pada kelompok usia muda dan usia tua, dapat dipertimbangkan pula pentingnya melihat faktor stadium tumor dalam penelitian ini, selain juga faktor stromal tumor, dimana stromal juga menghasilkan VEGF.

Reaksi desmoplastik merupakan suatu gambaran perubahan yang dinamis pada *cancer-associated stroma*, yang mirip dengan proses penyembuhan luka. Perubahan yang dinamis ini disebabkan karena pada *cancer-associated stroma* terjadi berbagai interaksi antara sel tumor dan sel jaringan *host*. Sel tumor berproliferasi dan menginvasi stroma dimana sel-sel imun *host* berkumpul disekitar jaringan tumor dan kemudian dirangsang pembentukan angiogenesis tumor. Reaksi desmoplastik ini terutama didukung oleh aktivasi fibroblast yang disebut sebagai myofibroblas. Myofibroblas menghasilkan matriks ekstraselular yang mengandung kolagen, yang diperkirakan bertanggung jawab untuk membentuk konsistensi keras pada beberapa karsinoma. Selain itu myofibroblas juga mensekresi faktor-faktor pertumbuhan yang merangsang proliferasi sel tumor, faktor-faktor angiogenik yang dapat

mengarah kepada pembentukan pembuluh darah baru pada tumor, dan faktor-faktor inflamasi yang menarik sel-sel imun yang dapat mempromosi tumor. Penelitian lebih lanjut mengenai reaksi desmoplastik ini dengan menggunakan antibody spesifik akan sangat berarti karena reaksi desmoplastik/myofibroblas tumor juga diperkirakan sebagai indikator prognostik.

Hasil penelitian memperlihatkan adanya perbedaan derajat reaksi desmoplastik pada usia muda dan usia tua. Selain itu juga diperlihatkan adanya hubungan antara ekspresi VEGF-A dengan reaksi desmoplastik, dimana reaksi desmoplastik keras memperlihatkan ekspresi VEGF-A (+) kuat pada kelompok usia muda. Pada kelompok usia tua, dimana reaksi desmoplastiknya ringan memperlihatkan ekspresi VEGF-A(+) kuat. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut apakah ada faktor-faktor lain yang turut menentukan hubungan antara reaksi desmoplastik dengan ekspresi VEGF-A.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen LK, Hwang SJ, Li AFY, Lin JK, Wu TC. Colorectal Cancer in Patients 20 Years Old or Less in Taiwan. *South Med J*, 2001;94(12):1202-05.
2. Parry BR, Tan BK, Parry S, Goh HS. Colorectal Cancer in the Young Adult. *Singapore Med J*, 1995;36:306-8
3. Lin JT, Wang WS, Yen CC, Liu JH, Yang MH, Chao TC, Chen PM, Chiou TJ. Outcome of Colorectal Carcinoma in Patients Under 40 Years of Age. *J Gastroenterol Hepatol.*, 2005;20(6):900-5.