

Hubungan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor-A* (VEGF A) dengan Derajat Histopatologi dan Potensi Metastasis Karsinoma Ovarium

Yuliana Sri Widhihastuti, Cahyono Kaelan, Syarifuddin Wahid

*Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin
 Makassar*

ABSTRAK

Latar Belakang

Kanker ovarium dikenal sebagai "the silent killer", sehingga sangat penting untuk mendeteksi dini untuk memprediksi potensi metastasis kanker ovarium. Keganasan ovarium terbanyak adalah tipe epitelial atau karsinoma. Salah satu kandidat yang potensial untuk tujuan tersebut di atas adalah VEGF-A yang dikenal berperan dalam proliferasi dan migrasi sel endotel.

Penelitian ini bertujuan menilai hubungan imunoekspresi VEGF-A dengan derajat histopatologi dan potensi metastasis karsinoma ovarium,

Bahan dan Cara

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional retrospective* yang dilakukan di bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Sampel didapatkan dari arsip kasus karsinoma ovarium selama periode Januari 2008-Mei 2010. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal VEGF-A pada 51 jaringan karsinoma ovarium dengan metode *labelled streptavidin biotin peroxidase*.

Hasil

Ekspresi VEGF-A (positif) ditemukan pada 49 dari 51 sampel tumor dan sebanyak 18 tumor diantaranya disertai metastasis. Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF-A dengan derajat histopatologi tumor. Ekspresi VEGF-A yang kuat terbanyak pada tumor dengan derajat histopatologi yang tinggi (diferensiasi buruk), dan ekspresi VEGF-A yang lemah hingga negatif pada tumor dengan derajat histopatologi rendah (diferensiasi baik). Ekspresi VEGF-A yang kuat ditemukan baik pada jaringan tumor yang bermetastasis maupun yang tidak bermetastasis.

Kesimpulan

Terdapat hubungan antara ekspresi VEGF-A dengan derajat histopatologi tumor ganas epitelial ovarium, ($p \leq 0,05$), tetapi tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF-A dengan potensi metastasis tumor, ($p \geq 0,05$).

Kata kunci : VEGF-A, derajat histopatologi, metastasis, karsinoma ovarium.

ABSTRACT

Correlations Between The Immunoexpression of Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF A) and The Histopathological Grade and metastatic potency of ovarian cancer.

Background

Ovarian Cancer is the "Silent Killer", especially the epithelial type, so it is very helpful to find this tumor in early stage, and can be used to predict the metastatic potentiality.

Objective

This study was to assess The correlation of VEGF A and The Histopathologic Grade of Epithelial Ovarian Cancer, as well as the potentiality for metastases.

Methodology

This study was a retrospective cross sectional study conducted at the Pathology Medical Faculty of Hasanuddin University. Samples obtained from ovarian tissue during the period January 2008-May 2010. Immunohistochemical staining was performed using monoclonal antibody VEGF A in 51 epithelial ovarian cancer tissue using biotin peroxidase method streptavidin labelled.

Results

The expression of VEGF A (positive) is found in 49 out of 51 tumor samples, a total of 18 tumors accompanied with metastases. There is significant correlation between VEGF A expression with histopathologic grade of tumors, where strong expression of VEGF A found in majority of tumors with high histopathologic grade (poor differentiation), and weak to negative expression of VEGF A was found in tumors with low histopathologic grade (well differentiation). VEGF A expression was found both in tumor with metastases or no metastasis.

Conclusion

This study was to get the correlation between VEGF A expression and the histopathologic grade of epithelial ovarian cancer, $p=0.00 (\leq 0.05)$, but there was no significant correlation between the VEGF A expression with the potential of tumor metastases, $p=387 (\geq 0.05)$

Keywords : VEGF A, histopathological grade.

PENDAHULUAN

Tumor ovarium merupakan 30% dari seluruh neoplasma pada organ reproduksi wanita dan menempati urutan ketiga kanker yang terbanyak diderita wanita setelah kanker serviks dan kanker endometrium.¹

Angka kejadian di Indonesia belum diketahui dengan pasti. Sebagai gambaran, pada RS. Kanker Dharmas Jakarta yang merupakan pusat rujukan kanker Indonesia, ditemukan 5 orang penderita kanker ovarium setiap minggunya,² sedangkan pada Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dari Januari 2008 hingga Mei 2010, terdapat 196 jaringan yang didiagnosis sebagai tumor ganas ovarium.

Untuk dapat tumbuh dan berkembang, tumor memerlukan pasokan oksigen dan nutrisi. Beragam faktor pertumbuhan (*growth factor*) dapat merangsang angiogenesis, baik pada keadaan fisiologis maupun dalam keadaan patologis, seperti pada perkembangan neoplasma. Salah satu faktor adalah *Vascular Endothelial Growth Factor-A* (VEGF-A), yang banyak berperan dalam proliferasi dan migrasi dari sel endotel.^{3,4}

Meskipun angiogenesis dirangsang, namun pembuluh darah tumor yang dihasilkan tidak sempurna, mudah bocor dan melebar, serta polanya tidak beraturan, tidak seperti pembuluh darah normal. Tanpa angiogenesis, tumor hanya dapat tumbuh 2-3 mm, dan tidak dapat berekspansi. Angiogenesis sangat diperlukan bukan hanya untuk kelangsungan pertumbuhan tumor, tetapi juga sebagai jalur tumor untuk bermetastasis.⁵

Selama lebih dari 25 tahun, penelitian mengenai angiogenesis telah menemukan lebih dari 20 faktor angiogenesis, diantara seluruh faktor angiogenesis tersebut, VEGF-A merupakan promotor angiogenik yang paling signifikan dalam angiogenesis fisiologis maupun patologis. Overekspresi VEGF-A menjadi pe-tanda (*marker*) peningkatan keganasan dan merupakan indikator prognosis yang buruk.⁵⁻⁷

Dengan demikian pengetahuan mengenai factor angiogenesis, dalam hal ini VEGF-A pada tumor ovarium khususnya karsinoma ovarium, dapat memberi landasan bagi penanganan tumor ovarium yang lebih baik dan dapat memprediksi progresifitas tumor, dengan mempertimbangkan potensi keganasan maupun metastasis tumor.^{8,9}

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan suatu penelitian potong lintang (*cross sectional*) untuk menilai hubungan ekspresi VEGF-A dengan derajat histopatologik dan potensi metastasis tumor ganas epitelial (karsinoma) ovarium, Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar pada Maret 2010. Populasi penelitian ini adalah blok parafin penderita tumor ovarium yang jaringannya dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin selama periode Januari 2008-Mei 2010, dan didiagnosis sebagai karsinoma ovarium, baik disertai metastasis maupun tidak. Sampel adalah seluruh populasi yang memenuhi kriteria penelitian. Cara pemilihan sampel pada penelitian ini adalah *consecutive sampling*.

Kriteria Inklusi sampel adalah: 1). Sediaan jaringan ovarium dengan pewarnaan HE (*Hematoksilin Eosin*), yang telah didiagnosis histopatologis sebagai karsinoma ovarium. Jaringan disertai keterangan identitas dan umur pasien serta keterangan klinis ada tidaknya metastasis. 2). Tersedia blok parafin yang representatif dari jaringan tersebut untuk pemeriksaan imunohistokimia anti VEGF-A. 3). Metastasis adalah apabila berdasarkan data hasil diagnosis patologi anatomik terdapat fokus sel tumor pada organ lain dengan deskripsi yang sama dengan deskripsi tumor primer dalam hal ini ovarium.

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dicatat, kemudian dianalisis statistik dengan menggunakan metode analisis univariat dan bivariat. Analisis univariat dilakukan untuk mendeskripsikan data dasar. Analisis bivariat dilakukan dengan menggunakan uji 2x2 dan *Spearman's rank correlation*. Penilaian hasil uji hipotesis disebut bermakna bila $p \leq 0,05$

Imunohistokimia

Pemeriksaan imunohistokimia dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal VEGF-A pada 51 jaringan karsinoma ovarium dengan metode *labelled streptavidin biotin peroxidase*. Ekspresi VEGF-A disebut positif bila terdapat warna coklat pada sitoplasma sel tumor. Penilaian ekspresi VEGF-A dilakukan secara semikuantitatif sebagai berikut: negatif (0), lemah (+1), sedang (+2), kuat (+3). Penilaian dilakukan secara buta oleh 2 orang spesialis patologi.¹⁰

HASIL

Pada penelitian ini didapatkan sebanyak 51 sampel yang representatif dan memenuhi kriteria inklusi, terdiri atas berbagai jenis karsinoma ovarium, seperti kistadenokarsinoma musinosum, kistadenokarinoma serosum, adenokarsinoma endometrioid, dll. Karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel1. Karakteristik sampel penelitian.

Karakteristik	N	%
Umur :		
15 - 35 th	18	35,3
36 - 56 th	25	49,0
57 - 77 th	8	15,7
Derajat Histopatologi		
Baik	20	39,2
Sedang	13	25,4
Buruk	18	35,3
Metastase		
Positif	18	35,3
Negatif	33	64,7
Ekspresi VEGF A		
Negatif (0)	22	43,1
Lemah (+1)	12	23,5
Sedang (+2)	11	21,6
Kuat (+3)	6	11,8

Pada penelitian ini, ditemukan rentang usia sampel adalah 15 tahun hingga usia 77 tahun. Terbanyak adalah kelompok usia produktif (36-56 tahun), yaitu 9%. Berdasarkan derajat histopatologik tumor ditemukan sampel dengan derajat tinggi yang cukup banyak (32,1%), hanya sedikit selisihnya dari sampel dengan derajat rendah (35,7%).

Hasil pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan ekspresi VEGF A negatif ditemukan pada 22 sampel (39,3%), ekspresi yang lemah sebanyak 12 sampel (21,3%), ekspresi yang sedang sebanyak 11 sampel (19,6%), dan ekspresi yang kuat sebanyak 6 sampel (10,7%).

Tabel 2. Perbedaan dan hubungan grade ekspresi VEGF A dengan derajat differensiasi

		Differensiasi			Total
		Baik	Sedang	Buruk	
VEGF A	Negatif	15(68%)	4(18%)	3(13%)	22
	Lemah	3(13,6%)	7(58,3%)	2(16%)	12
	Sedang	2(18%)	2(18%)	7(64%)	11
	Kuat	0	0	6(100%)	6
	Total	20	13	18	5
Uji X2	df:6				p=0,000(p<0,05)
Uji Spearman Rank's correlation	r=0,614				p= 0,000

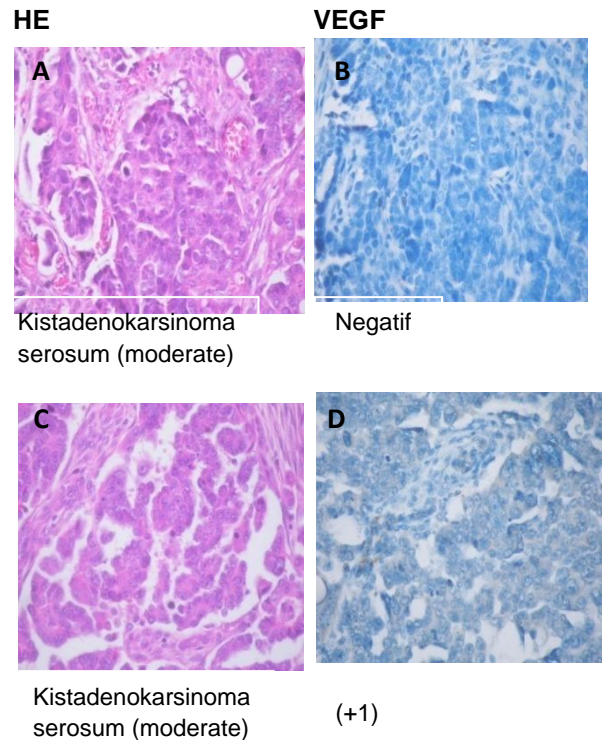
Penelitian ini menemukan bahwa ekspresi VEGF A yang kuat terdapat pada semua tumor derajat tinggi atau diferensiasi buruk (100%). Ekspresi VEGF A yang kuat tidak terdapat pada tumor dengan derajat sedang (diferensiasi sedang), dan derajat rendah (diferensiasi buruk). Hasil uji X2 menunjukkan perbedaan bermakna (p<0,05) antara ekspresi VEGF A dengan derajat histopatologik (tabel II). Ekspresi VEGF A negatif terdapat pada tumor dengan diferensiasi baik (68%).

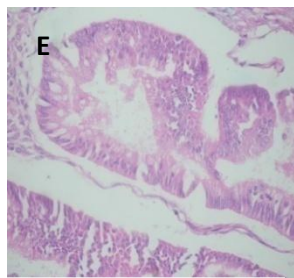
Tabel 3. Perbedaan grade ekspresi VEGF A pada tumor yang bermetastase dan yang tidak bermetastasis.

VEGF A	Metastasis		Total
	Positif	Negatif	
Negatif	7(31,8%)	15(68,1%)	22
Lemah	4(33%)	8(67%)	12
Sedang	3(27,2%)	8(72,7%)	11
Kuat	4(66,6%)	2(33,3%)	6
Total	18(35,3%)	33(64,7%)	51

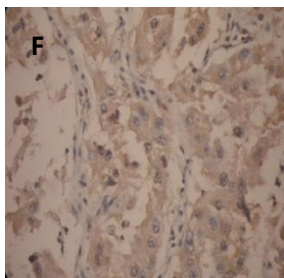
Uji X2 p= 0,378 (p>0,05)
 Uji Spearman Rank's correlation p= 0,404 (p>0,05)

Dari hasil uji statistik, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara ekspresi VEGF-A dengan metastasis tumor.

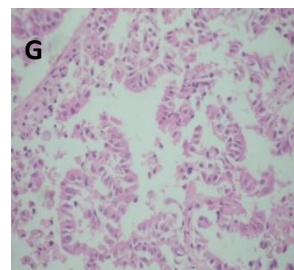




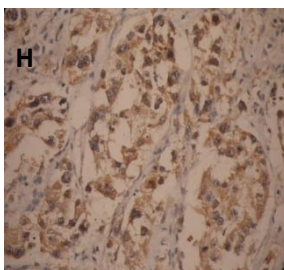
Kistadenokarsinoma
 musinosum (moderate)



(+2)



Kistadenokarsinoma
 musinosum (moderate)



(+3)

DISKUSI

Tumor ganas epitelial atau karsinoma dari ovarium masih mempunyai angka kejadian yang tinggi. Beberapa literatur yang menyatakan bahwa karsinoma merupakan jenis tumor ganas ovarium yang terbanyak, terutama karsinoma serosum dan musinosum. Tumor serosum sedikit lebih banyak daripada musinosum. Tumor ovarium sering terdeteksi setelah berada pada stadium klinis yang lanjut, oleh karena letaknya yang berada di dalam rongga panggul, dan pada fase awal biasanya tidak memberikan gejala.

Pada penelitian ini didapatkan mayoritas (44%) penderita karsinoma ovarium berusia produktif, yaitu 36-56 tahun. Hal ini sesuai dengan beberapa literatur yang menyatakan bahwa tumor ganas epitelial ovarium terbanyak diderita oleh golongan usia produktif, dan hanya sedikit pada usia tua.^{4,10-12}

VEGF A adalah faktor angiogenesis yang paling banyak berperan dalam angiogenesis tumor ganas. Angiogenesis dipicu oleh banyak faktor terutama hipoksia dan kebutuhan nutrisi sel tumor proliferaif. Selain menginduksi angiogenesis, VEGF A juga berfungsi menghambat apoptotis sel. VEGF A diekspresikan oleh berbagai jenis keganasan, termasuk karsi-

noma ovarium, meskipun juga diproduksi dan disekresi oleh sel normal.^{4,5,12}

Beberapa faktor berperan dalam peningkatan ekspresi VEGF A pada kanker ovarium, antara lain *growth factor* dan faktor hormonal. Ditemukan adanya peningkatan ekspresi VEGF A pada tumor yang mendapat pengaruh gonadotropin yang tinggi seperti pada tumor ganas ovarium.¹³ yang timbul dalam proses proliferasi pertumbuhan sel tumor ovarium yang pesat sehingga memerlukan lebih banyak pasokan nutrisi dan oksigen. Dengan demikian tingginya ekspresi VEGF A dihubungkan dengan kecepatan proliferasi dan diferensiasi tumor.^{11,14-16}

Penelitian ini mendapatkan bahwa ada hubungan yang bermakna antara derajat histopatologi tumor ovarium dengan ekspresi VEGF A. Ekspresi VEGF A tinggi terdapat pada tumor dengan derajat histopatologi yang tinggi pula. Hubungan antara ekspresi VEGF A dengan derajat histopatologik tumor ovarium sudah banyak diteliti pada penelitian sebelumnya baik dengan teknik imunohistokimia (IHC), sitologi, maupun teknik PCR.^{15,17,18} dengan hasil yang sama dengan penelitian ini, yaitu ada hubungan antara ekspresi VEGF A dengan derajat diferensiasi sel tumor ovarium derajat histopatologi. Dengan demikian VEGF A dapat dijadikan biomarker untuk memprediksi derajat histopatologik (diferensiasi) tumor.^{4,5,12}

Kemudian berdasarkan ada tidaknya metastasis, pada penelitian ini ditemukan 18 sampel (36%) yang disertai metastasis dan 33 sampel (64%) tanpa metastasis, namun hasil analisis statistik tidak menemukan perbedaan serta hubungan bermakna antara ekspresi VEGF-A dengan proses metastasis (p=0,387), padahal Shen (2007) dan Dvorak (2007) yang menemukan adanya hubungan antara ekspresi VEGF-A yang kuat pada tumor ovarium yang bermetastasis.^{15,17}

Berbagai literatur menyatakan bahwa VEGF-A merupakan penyedia jalan bagi tumor untuk bermetastasis. Hal tersebut dipengaruhi terutama oleh peran berbagai *Matrix metalloproteinases (MMP)* yang merusak membran basalis dengan melepas *ECM-sequester growth factor*, juga menginduksi faktor angiogenik dan berperan dalam *sprouting* pembuluh darah baru.^{5,6,12} Ekspansi tumor menyebabkan terbentuknya regio hipoksia, peningkatan produksi VEGF, yang kemudian menyebabkan pertumbuhan dan peningkatan daya hidup dari sel

endotel. Namun bagaimanapun juga mekanisme biomolekuler metastasis sangat kompleks dan dipengaruhi oleh banyak faktor baik endogen maupun eksogen, antara lain dipengaruhi oleh perubahan pada regulasi siklus sel, pengulangan ekspresi protease dan inhibitorynya, serta keterlibatan sel non-tumor termasuk fibroblast, sel endotel dan sel mioepitel.¹⁷ Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa VEGF-A bukanlah satu-satunya faktor dan mungkin bukan pula faktor utama dalam proses metastasis. Seperti telah dikemukakan oleh Folkman, (2009), terdapat peran *growth factor* lain seperti bFGF dan TNF α . Pada promosi invasi dan metastasis terdapat pula peran protein lain yaitu MMP, E-cadherin dan FAK (*focal adhesion kinase*).⁵

KESIMPULAN

Penelitian ini memperlihatkan hubungan yang bermakna antara derajat ekspresi VEGF-A dengan tingkat diferensiasi atau derajat histopatologik karsinoma ovarium. Semakin tinggi derajat histopatologik tumor semakin tinggi pula ekspresi VEGF-A. Tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF-A dengan metastasis karsinoma ovarium.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lee KR, Tavassoli Fataneh A, et al: Surface Epithelial Stromal Tumor in World Health Organization; Classification of tumours pathology and genetics tumours of the breast and female genital organs. 2003;113-97.
2. Hanafy Widyarini L: Kanker Ovarium Pada RS Dharmas, Kesehatan Media Indonesia, 16 Desember 2009: 1.
3. Bergers G, Benjamin LE. Reviews tumorigenesis and the angiogenic switch. University Of California San Fransisco, June 2003;401-9.
4. Stricker TP, Kumar V. Angiogenesis in; Neoplasia. Robbin and Cotran Pathology Basic of Disease 8th Eds, Elsevier 2009;297-8.
5. Folkman J, Italiano Jr, Josep E. Angiogenesis in oncology of infancy and childhood. Saunders Elsevier 2009:27-30.
6. Greer JB, Modugno F, Allen GO. Short term oral contraceptive and the risk of epithelial ovarian carcinoma. Am J of Epid, 2005; 162:66-72.
7. Hayat MA: Handbook of immunohistochemistry and insitu hybridization of human carcinomas, molecular genetics, gastrointestinal carcinoma and ovarian carcinoma, Elsevier, 2006:4:287-91.
8. Bankhead RC, Kehoe ST, Austoker J. Symptom associated with diagnosis ovarian carcinoma, Cancer Research UK. Int J of Obs Gynecol 112, 2005.857-65
9. Landen Jr, Charles N, Birrer Michael J, Sood Anil K. Early even in pathogenesis of epithelial ovarium cancer. JOC Biology Of Neoplasma. 2008;26:995-1005
10. Elleson Lora Hedrick, Pirock Edyta C: Ovaries in the female genital organ tract. Robbin and Cotran Pathology Basic of Disease 8th Eds, Elsevier 2009;1039-52.
11. Wang J, Lao F, Zheng W, et all : VEGF expression enhanced production by gonadotropin in ovarium epithelial tumor. IJC, 2002;97:163-7
12. Moorman PG, Schildkraut JM et all. Menopausal hormones and risk of ovarian cancer, AJOG, 2005;193:76-82.
13. Dvorak Harold F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: Biology of neoplasia: A critical cytokine in tumor angiogenesis and potential for diagnosis and therapy. Am Soc Clin Oncol. 2002:4368-80.
14. Jobim FC et al. Prevalence of vascular-endothelial growth factor, matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in primary breast cancer. Brazil J of Med Biol Res. 2009;42:979-87.
15. Shen GH, Ghazizadeh O, Kawanami O et all: Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer, British J of Cancer. 2000;83:196-203
16. Kallergi et al: Hypoxia-inducible factor 1- α (HIF 1 α) and vascular endothelial growth factor expression in circulating tumor cells. 2009:1-12.
17. Hu Z, Fang C, Livasy C et al. A compact VEGF Signature Associated with Distant Metastases and Poor Outcomes. BMC Medicure. 2009:1741-9.