

Hubungan Ekspresi CXC Reseptor 4 dan Vascular Endothelial Growth Factor A dengan Invasi Pembuluh Darah dan Metastasis pada Karsinoma Payudara

Analysa, Luh Putu Iin Indrayani Maker*Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana**RSUP Sanglah**Denpasar***ABSTRAK****Latar belakang**

Penelusuran 10 tahun pemeriksaan HE pada penderita karsinoma payudara dengan T1N0M0 ditemukan angka rekurensi 33%, karena adanya metastasis yang tidak terdeteksi. Karena itu dipandang perlu dilakukan pemeriksaan dini yang dapat memprediksi potensi metastasis tumor dengan menggunakan faktor prediktif biologik seperti CXCR4 dan VEGF A yang belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara CXCR4 dan VEGF A pada karsinoma payudara dengan invasi pembuluh darah dan metastasis jauh secara klinis.

Metode

Penelitian potong lintang dilaksanakan di Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar mulai 20 September 2011 sampai 30 Januari 2012. Karsinoma payudara sebanyak 75 sediaan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dipulih dengan pewarnaan imunohistokimia VEGF A dan CXCR4 lalu dikorelasikan dengan invasi ke pembuluh darah dan metastasis jauh. Penilaian ekspresi CXCR4 dan VEGF A dibuat berdasarkan analisis persentase sel tumor yang positif dan intensitas pewarnaan (*Imuno score*).

Hasil

Berdasarkan analisis dengan analisis statistik non parametrik *Spearman's rho dengan SPSS 19.0 for window* terlihat hubungan yang bermakna dari beberapa variabel yang dikorelasikan. Penelitian ini menunjukkan ada hubungan yang bermakna antara tingkat ekspresi CXCR4 dengan VEGF A ($r=0,572$; $p=0,000$). Ditemukan pula adanya hubungan yang bermakna antara CXCR4 dengan invasi ke pembuluh darah ($r=0,538$; $p=0,000$) dan CXCR4 dengan metastasis jauh ($r=0,526$; $p=0,000$) serta antara VEGF A dengan invasi ke pembuluh darah ($r=0,568$; $p=0,000$) dan VEGF A dengan metastasis jauh berdasarkan klinis ($r=0,518$; $p=0,000$).

Kesimpulan

CXCR4 dan VEGF A dapat dipertimbangkan sebagai petanda biologi untuk memprediksi metastasis pada karsinoma payudara.

Kata kunci : karsinoma payudara, CXCR4, VEGF A, Invasi pembuluh darah, metastasis jauh.

ABSTRACT**Background**

Ten years follow up of T1N0M0 breast carcinoma patients with H.E staining discovered 33% recurrency rate caused by undetectable metastasis before. To be able to predict the metastatic potensiality the biologic predictive factors such as CXCR4 and VEGF A could be performed. The purpose of this study is to investigate the relationship between CXCR4 and VEGF A expression with vascular invasion and distant metastasis.

Methods

This study is a cross sectional study, conducted in Anatomical Pathology Department, Faculty of Medicine, University of Udayana, Sanglah general hospital since September 20th 2011 until January 30th 2012. 75 breast carcinoma specimen was stained by CXCR4 and VEGF A and correlated with evidence of vascular invasion and distant metastasis. The expression of CXCR4 and VEGF was scoring using immuno score system (analysis of percentage of positive stained tumor cells and intensity of the staining).

Results

Statistical analysis was done using non parametric Spearman's rho with SPSS 19.0 for windows program, found correlation between degree of CXCR4 and VEGF A expression ($r=0.572$; $p=0.000$). There was also correlation between degree of CXCR4 expression with vascular invasion ($r=0.538$; $p=0.000$) and with distant metastasis ($r=0.526$; $p=0.000$). There was correlation between VEGF A expression with vascular invasion ($r=0.568$; $p=0.000$) and VEGF A with distant metastasis ($r=0.518$; $p=0.000$).

Conclusion

CXCR4 and VEGF A could be considered as a predictive factor for metastasis in breast carcinoma.

Key words : breast carcinoma, CXCR4, VEGF A, vascular invasion, distant metastasis.

PENDAHULUAN

Karsinoma payudara merupakan keganasan pada wanita yang menempati urutan kedua setelah kanker leher rahim dengan angka rekuensi lokal dan metastasis jauh paska operasi yang masih tinggi. Rekurensi lokal dan metastasis jauh merupakan faktor prognostik mayor yang mempunyai hubungan kuat dengan kematian akibat kanker payudara sebanyak 90% berkaitan dengan metastasis. Pada penelitian deskriptif kanker payudara di RSUP Sanglah ditemukan 687 kasus kanker payudara (2003-2010). Rata-rata ditemukan 90 sampai 100 kasus baru pertahun, 26% diantaranya dengan kasus metastasis jauh. Ternyata pasca kemo-terapi kurang dari 50% menunjukkan respon terapi baik.¹ Penelitian lain selama 10 tahun pada 340 penderita karsinoma payudara ditemukan angka rekurensi 33%. Data lain menunjukkan masa hidup sepuluh tahun pada pasien paska bedah yang dinyatakan tanpa metastasis ke kelenjar getah bening (KGB) hanya sebesar 77%,² karena dengan pemeriksaan histopatologi konvensional tumor masih terbatas dan klinis metastasis tidak dapat dideteksi.

Sejak tahun 1889 berkembang teori "seed and soil" dalam metastasis yang menyatakan bahwa sel kanker molekul-molekul spesifik terlibat pada lingkungan sekitar tumor.³ Pada dasarnya ada beberapa komponen yang terlibat dalam metastasis yaitu sel tumor, *microenvironment*, pembuluh darah/limfatik, organ target metastasis, dan sumsum tulang. Setelah sel tumor mengalami beberapa mutasi akhirnya akan menghasilkan *variant heterogeneity* di mana muncul varian yang mampu bermetastasis. Mutasi pada gen yang mengkode *Catenin* maupun penurunan regulasi *E-cadherin* menyebabkan ikatan antar sel tumor lepas.⁴ Akan tetapi, pergerakan dan migrasi sel tumor target organ masih menjadi pertanyaan. Penelitian terakhir, menjelaskan keterlibatan reseptor kemokin dalam *homing* sel kanker pada organ spesifik. Kemokin merupakan keluarga dari *cytokine like-protein* yang merangsang perubahan pada sitoskeleton dan adesi ke endotel.⁵ Salah satu kemokin yang terlibat pada proses ini adalah *CXC Receptor 4* (CXCR4). Degradasi jaringan stroma di sekitar tumor ternyata melibatkan beberapa molekul yang dikeluarkan oleh sel tumor maupun komponen stroma. Dalam hal ini, *CXCR4/Stromal Derifat Factor-1* (SDF-1) juga berperan dalam meng-

induksi sel tumor untuk mengeluarkan *Matriks metalloproteinase 2/9* (MMP2/9) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF A) pada angiogenesis.^{6,7,8} Angiogenesis merupakan hal yang sangat berperan dalam pertumbuhan tumor dan metastasis, terutama metastasis jauh. Dibandingkan dengan faktor angiogenik lain VEGF A lebih berperan dalam metastasis karena merupakan faktor angiogenik yang meningkat karena kondisi hipoksia. VEGF A juga dapat merusak barier endotel sehingga memfasilitasi tumor untuk ekstravasasi, selanjutnya metastasis.⁹ Peran lain VEGF A juga dapat meningkatkan permeabilitas endotel.^{10,11} Beberapa penelitian menunjukkan hubungan yang erat antara CXCR4 dan VEGF A. Kondisi hipoksia melalui *hypoxia inducible factor-1* (Hif-1) akan meningkatkan CXCR4 dan VEGF A. Terjadinya overeksprepsi pada kedua marker ini menunjukkan hubungan yang kuat dengan potensi mikro invasi maupun metastasis.¹² Jika SDF-1 berikatan dengan reseptor CXCR4 yang berada pada sel tumor akan menstimulasi sekresi *cytokine* termasuk VEGF A dan MMP-9. VEGF A yang dihasilkan akan berikatan dengan reseptor VEGF A (VEGFR1) pada endotel. Ikatan ini akan meregulasi sekresi SDF-1 (CXCL12) dan selanjutnya berikatan dengan CXCR4 pada membrane sel kanker selanjutnya kembali lagi menstimuli sekresi VEGF A. Sehingga terjadi *feedback loop* antar regulasi CXCR4 dengan VEGF A. Dengan demikian CXCR4 diperkirakan meningkatkan regulasi VEGF A untuk merangsang terjadinya angiogenesis dan metastasis.¹³⁻¹⁷ Beberapa penelitian menunjukkan hubungan yang signifikan antara peningkatan eksprepsi CXCR4 dan VEGF A dengan metatase ke KGB dan metastasis jauh.¹⁸⁻²² Penyebaran kanker payu-dara melalui dua jalur utama yaitu pem-buluh darah dan pembuluh limfatik. Melalui pembuluh limfatik akan menyebar ke KGB regional terdekat lalu ke aksila menuju duktus torasikus dan bermuara ke pembuluh darah besar. Sementara pembuluh darah sudah terbentuk saat tumor masih berukuran 1-2 cm dengan demikian penyebaran melalui pembuluh darah yang berakhir menjadi metastasis jauh sudah mungkin terjadi saat itu.^{4,23} Dengan demikian CXCR4 dan VEGF A dapat menjadi faktor prediktif untuk metastasis dan dapat menjadi target terapi untuk menghambat metastasis. Antagonis VEGF A sudah banyak digunakan, walaupun terjadi

penurunan angka metastasis hasilnya belum sempurna. Inhibisi terhadap CXCR4 yang sedang dalam penelitian diharapkan dapat menyempurnakannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara CXCR4 dan VEGF A pada karsinoma payudara dengan invasi pembuluh darah dan metastasis jauh secara klinis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian potong lintang yang dilakukan di Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar mulai 20 September 2011 sampai 30 Januari 2012. Populasi target penelitian ini adalah semua sediaan blok parafin bahan biopsi dan operasi bedah penderita karsinoma payudara. Populasi terjangkau adalah sedian blok parafin dengan diagnosis karsinoma payudara yang telah dilakukan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar. 75 spesimen karsinoma payudara memenuhi kriteria inklusi, yaitu blok parafin karsinoma invasif payudara yang dapat dicat secara IHK dan mempunyai data lengkap. CXCR4 menggunakan antibodi monoklonal tikus CXCR4 (ab81576) dari abcam, sementara VEGF A monoklonal tikus dari abcam. Hasil pengecatan IHK VEGF A dan CXCR4 lalu dikorelasikan dengan invasi pembuluh darah dan metastasis jauh. Pada pulasan HE konvensional, pada invasi pembuluh darah ditemukan emboli sel-sel ganas di dalam pembuluh darah berupa ruang yang dilapisi endotel dan terdapat lapisan tunika intima. Pada kasus-kasus yang meragukan dilakukan pengecatan VEGFR3 yang sensitif untuk pembuluh limfatis. Metastase jauh ditemukan metastasis secara klinis melalui data TNM klinis dari status pasien. Invasi pembuluh darah, hasil pulasan imunohistokimia CXCR4 dan VEGF A dibaca oleh 3 orang ahli patologi. Sel yang terpulas positif atau mengekspresikan CXCR4 dan VEGF A akan tampak berwarna coklat pada sitoplasma. Penilaian ekspresi CXCR4 dan VEGF A dibuat berdasarkan analisis persentase sel tumor yang positif dan intensitas pewarnaan. Ekspresi CXCR4 diberi skor 0 jika tak ada yang terwarnai, 1+ jika coklat lemah, 2+ jika coklat sedang, dan 3+ coklat kuat. Persentase tumor yang dicat diskor sebagai berikut. 0 jika tidak ada yang tercat, 1

jika yang tercat 1-25% tumor, 2 untuk 25-50% tumor, 3 jika 50-75% tumor, 4 untuk lebih dari 75% tumor. Hasil perkalian antara intensitas dan persentase tumor yang terwarnai akan menentukan hasil dari *staining* indeks. *Staining index* dibagi menjadi 2 golongan yaitu ekspresi kuat jika ≥ 6 dan ekspresi lemah jika < 6 .²⁴ Hubungan CXCR4 dengan VEGF A dianalisis dengan *Spearman's rho*. Hubungan CXCR4 dan VEGF A terhadap invasi pembuluh darah dan metastasis jauh dianalisis dengan *Spearman's rho*. Kemaknaan ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Analisis menggunakan program SPSS 19.0 for windows.

HASIL

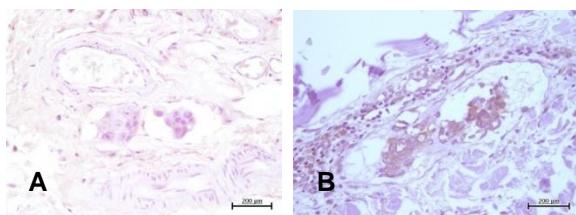
Dari penelitian yang dilakukan diperoleh beberapa hasil sebagai berikut.

Tabel 1. Karakteristik Pasien Karsinoma Duktal Invasif Payudara

Karakteristik	n	%
Umur		
< 30	4	5,3
31-40	18	24,0
41-50	26	34,7
51-60	21	28,0
>60	6	8,0
Grade		
1	5	6,7
2	39	52,0
3	31	41,3
T		
1	5	6,7
2	19	25,3
3	8	10,7
4	43	57,3
N		
0	30	40,0
1	30	40,0
2	8	10,7
3	7	9,3
Metastasis		
0	43	57,3
1	32	42,7
Invasi		
0	43	57,3
1	32	42,7

Tabel 1 menunjukkan umur rata-rata pasien 46,23 tahun, umur termuda 21 tahun dan umur tertua 76 tahun. Distribusi umur terbanyak pada dekade keempat (34,7%). Status kelenjar getah bening N1 dan N0 masing masing 30 sampel (40,0%). Data metastasis M0 sebanyak 43 sampel (57,3%). Data invasi sebanyak 32 sampel (42,7%).

Pada beberapa kasus yang masih meragukan dilakukan pulasan VEGF R3 untuk memastikan pembuluh darah atau pembuluh limfatis. VEGF R3 merupakan pulasan yang cukup spesifik untuk pembuluh limfe sehingga jika tercat negatif menunjukkan adanya pembuluh darah.



Gambar 1. A. Sampel no 7 (1045/PP/10) dengan VEGF R3 negatif pada pembuluh tidak ditemukan adanya metastasis ke KGB tapi ditemukan metastasis jauh secara klinis (100X). B. Sampel no 15 (2022/PP/10) merupakan kasus meragukan, setelah terpulas dengan VEGF R3 ternyata positif berarti pembuluh limfatis. Ditemukan pasien ini dengan metastasis ke KGB (N3) dan ditemukan metastasis jauh positif secara klinis (100X).

Pemeriksaan imunohistokimia (IHK) terhadap CXC Reseptor 4 (CXCR4) terhadap 75 sampel blok parafin didapatkan sebanyak 58 (77,33%) sampel dengan tingkat CXCR4 lemah dan sebanyak 17 (22,67%) sampel dengan tingkat ekspresi CXCR4 kuat. Pemeriksaan IHK terhadap *Vascular Endothelial growth factor A* (VEGFA) yang dikerjakan pada sampel blok parafin didapatkan 33 sampel (44%) dengan ekspresi kuat dan 42 (56%) sampel dengan ekspresi VEGFA lemah.

Dari 58 sampel dengan ekspresi CXCR4 lemah terdapat 41 (54,66%) sampel

dengan ekspresi VEGFA lemah dan 17 (22,67%) sampel dengan ekspresi VEGF A kuat. Dari 17 sampel dengan ekspresi CXCR4 kuat terdapat 16 (21,33%) sampel dengan ekspresi VEGF A kuat dan 1 (1,33%) sampel dengan ekspresi VEGF A lemah. Didapat hubungan yang bermakna antara tingkat ekspresi CXCR4 dengan VEGF A ($r=0,572$; $p=0,000$) sebagaimana Tabel 2 berikut.

Tabel 2 Hubungan Ekspresi CXCR4 dengan Ekspresi VEGFA

Ekspresi CXCR4	Ekspresi VEGFA		n
	Lemah	Kuat	
Lemah	41 (54,67%)	17(22,67%)	58(77,33%)
Kuat	1 (1,33%)	16(21,33%)	17(22,67%)
n	42(56,00%)	33(44,00%)	75(100%)

$$\alpha=0,572 \quad p=0,000$$

Dari 17 sampel CXCR4 dengan ekspresi kuat didapatkan 16 (94,11%) disertai invasi pembuluh darah dan 1 (5,88%) tanpa invasi. Sementara dari 58 sampel dengan tingkat ekspresi CXCR4 lemah, ditemukan 17 (16,67%) dengan invasi ke pembuluh darah dan 41(83,33%) tanpa invasi ke pembuluh darah. Didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi CXCR4 dengan invasi ke pembuluh darah ($r=0,538$; $p=0,000$). Dari 33 sampel VEGF A dengan ekspresi kuat didapatkan 24 (72,73%) disertai invasi pembuluh darah dan 9 (27,27%) tanpa invasi ke pembuluh darah. Sementara dari 42 sampel dengan tingkat ekspresi VEGFA lemah, ditemukan 7 sampel (16,67%) dengan invasi pembuluh darah dan 35 (83,33%) tanpa invasi pembuluh darah. Didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF A dengan invasi ke pembuluh darah ($r=0,568$; $p=0,000$). Seperti terlihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3 Tingkat Ekspresi CXCR4 dan VEGFA pada Invasi

Invasi	Tingkat ekspresi CXCR4				n	Tingkat ekspresi VEGFA				n		
	Lemah		Kuat			Lemah		Kuat				
	jml	%	jml	%		jml	%	jml	%			
+	17	16,67	16	94,1	33	7	16,67	24	72,73	31		
-	41	83,33	1	5,88	42	35	83,33	9	27,73	44		
n	58	100	17	100	75	42	100	33	100	75		

$$\alpha = 0,538 \quad p = 0,000$$

$$\alpha = 0,568 \quad p = 0,000$$

Dari 17 sampel CXCR4 dengan ekspresi kuat didapatkan 15 (88,23%) disertai metastasis jauh secara klinis dan 2 (11,76%) tanpa metastasis jauh secara klinis. Sementara dari 58 sampel dengan tingkat ekspresi CXCR4 lemah, ditemukan 17 (29,31%) dengan meta-

stasis dan 41 (70,69%) tanpa metastasis jauh. Didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi CXCR4 dengan metastasis jauh ($r=0,526$; $p=0,000$). Dari 33 sampel dengan ekspresi VEGF A Kuat didapatkan 21 (63,63%) disertai metastasis jauh dan 12 (36,36%) tanpa

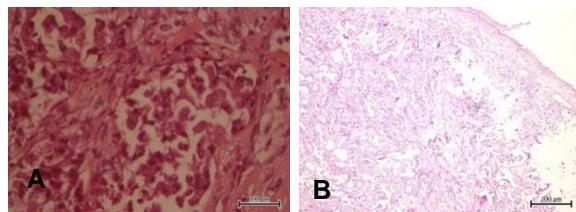
metastasis jauh. Sementara dari 42 sampel dengan tingkat ekspresi VEGF A lemah, ditemukan 6 (14,28%) dengan metastasis dan 36 (85,71%) tanpa metastasis jauh. Didapatkan

hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF A dengan metastasis jauh ($r=0,518$; $p=0,000$) seperti terlihat di Tabel 4 berikut.

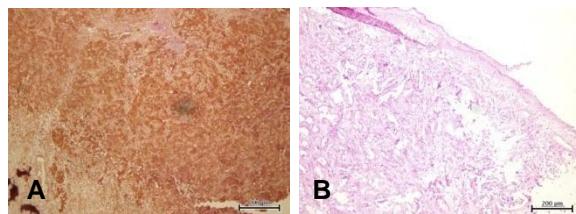
Tabel 4 Tingkat Ekspresi CXCR4 dan VEGFA pada Metastasis

	metastasis	Tingkat ekspresi CXCR4				n	Tingkat ekspresi VEGFA				n		
		Lemah		Kuat			Lemah		Kuat				
		jml	%	+	-		+	-	+	-			
+	+	17	29,31	15	88,23	32	6	14,28	21	63,63	27		
	-	41	70,69	2	11,76	43	36	85,71	12	36,36	48		
n		58	100	17	100	75	42	100	33	100	75		
		$\alpha = 0,526$ $p=0,000$					$\alpha = 0,518$ $p=0,000$						

Gambaran mikroskopis HE, berbagai tingkat ekspresi CXCR4 dan VEGF adalah sebagai berikut :



Gambar 2. A. Sampel no 16 (1882/PP/10). Tampak eks-presi CXCR4 terekspresi kuat pada sitoplasma, imuno-score 12 (400X). B. Gambar 4. Sampel no 15 (2022/PP/10). Ekspresi lemah (imunoscore 2)(100X).



Gambar 3. A. Sampel no 7 (1045/PP/10) Ekspresi VEGF A kuat (imunoscore 12) (100X). B. Gambar 6. Sampel no 15 (2022/PP/10). Ekspresi VEGF A lemah (imunoscore 0) (100X).

DISKUSI

Pada penelitian ini didapatkan umur rata-rata penderita karsinoma duktal invasif payudara/*Invasive Ductal Carcinoma* (IDC) yang sampelnya dipakai dalam penelitian ini adalah 46,23 tahun, dengan umur termuda 21 tahun dan umur tertua adalah 76 tahun. Distribusi umur terbanyak pada dekade ke empat (34,7%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa usia penderita karsinoma duktal invasif payudara relative lebih muda, bila dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa dibandingkan dengan negara-negara maju yang

80-90% penderitanya berada di atas 60 tahun.²⁵

Terdapat perbedaan antara tingkat ekspresi CXCR4 dan VEGFA pada sampel penelitian ini. Dari 75 spesimen ditemukan ekspresi kuat dengan CXCR4 17 sampel, dan 33 sampel dengan VEGFA. Diduga perbedaan ini disebabkan karena sekresi VEGFA dapat terjadi melalui ikatan SDF1 dan CXCR4, dan onkogen yang teraktifasi, misalnya *RAS family*. Dengan demikian mutasi pada RAS akan menimbulkan sinyal terus menerus ke inti untuk replikasi, termasuk mensekresi beberapa sitokin termasuk VEGFA.^{26,27} Hasil beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekspresi VEGF A dapat diregulasi oleh hormon, baik secara langsung (autokrin) maupun tidak langsung (parakrin). Estrogen memodulasi ekspresi VEGFA pada tingkat transkripsi gen pada sel kanker payudara. Hal ini menunjukkan hubungan yang kompleks antara estrogen dan ekspresi VEGFA.²⁸ Penelitian lain memperlihatkan bahwa ekspresi VEGFA dikontrol oleh interaksi langsung yang melibatkan protein BRCA-1 dan reseptor estrogen (ER). Dengan menggunakan jaringan payudara normal dan breast tumor cell lines, peneliti menemukan bahwa protein BRCA-1 normal menekan promoter VEGFA (suatu segmen proksimal DNA yang terlibat dalam memulai proses transkripsi suatu gen) melalui subunit ER- α , dan juga meregulasi sekresi VEGFA dari sel. Sebaliknya, BRCA-1 yang mengalami mutasi tidak mampu menekan ekspresi VEGFA sehingga disimpulkan bahwa mutasi BRCA-1 dapat menginduksi tumorigenesis secara langsung melalui deregulasi fungsi VEGFA.²⁹ Aktivasi (human epidermal receptor-2) HER-2/neu proto-onkogen pada 20% sampai 25% kanker payudara juga berhubungan dengan peningkatan regulasi VEGF.

Penelitian terdahulu menemukan bahwa tumor-tumor dengan peningkatan ekspresi HER2/neu secara signifikan mengekspresikan lebih banyak VEGF dibandingkan dengan tumor-tumor yang tidak mengekspresikan HER2/neu. Pada penelitian ini keluaran terburuk terlihat pada pasien dengan ekspresi HER-2/neu berlebih dan mengekspresikan VEGF, yang signifikan secara statistik. Asosiasi positif antara ekspresi HER-2/neu dan ontribusi pada fenotip yang lebih agresif pada tumor yang mengekspresikan HER-2/neu.³⁰ Ovreekspresi bcl-2 juga diduga dapat menstimulasi angiogenic switch pada sel-sel kanker sebagai respon terhadap kondisi rendah oksigen. Bcl-2 juga dapat meningkatkan ekspresi VEGF A melalui aktivasi nuclear factor kB (NF- κ B), seperti diketahui bahwa hambatan pada signaling NF- κ B dapat menghambat ekspresi VEGF A, baik invitro maupun invitivo. Bcl-2 juga berperan dalam aktivitas transkripsi HIF-1 α dan stabilisasi mRNA VEGF A.³¹

Hal lain yang bisa menyebabkan perbedaan adalah negatif palsu. Hasil pulasan imunohistokimia dapat memberikan interpretasi negatif palsu dikarenakan teknik denaturasi antibodi yang salah, konsentrasi larutan yang salah, antigen yang mengalami autolisis atau *leak out* karena proses fiksasi, atau densitas antigen yang dibawah standar deteksi.³²

CXCR4 dan VEGFA pada metastasis dan invasi ke pembuluh darah.

Pada penelitian ini ditemukan 31 kasus yang menunjukkan invasi ke pembuluh darah. Invasi ke pembuluh darah menunjukkan ekspresi kuat pada VEGFA sebanyak 24 kasus sedangkan pada CXCR4 sebanyak 15 kasus. Sedangkan ekspresi lemah tampak pada CXCR4 sebanyak 17 kasus, dan pada VEGFA sebanyak 7 kasus. Ternyata, penggunaan 2 biomarker akan meningkatkan sensitivitas untuk mendeteksi ada tidaknya invasi ke pembuluh darah. Adanya kasus invasi pada tingkat ekspresi CXCR4 lemah dan tingkat ekspresi VEGFA lemah menunjukkan ada faktor-faktor lain yang berperan dalam metastasis. Pada proses karsinogenesis tidak ada faktor tunggal yang bekerja sendiri, tetapi terjadi sinergi dengan banyak komponen begitu pula pada proses metastasis. Angiogenesis merupakan suatu proses yang kompleks yang melibatkan *Extra cellular matriks* (ECM) dan *endotel Cells* (EC) yang diregulasi oleh faktor-faktor angio-

genik, baik yang bersifat memacu (faktor pro-angiogenik) maupun bersifat menghambat (faktor anti-angiogenik).²⁶ Di samping faktor yang bersinergi juga ada faktor-faktor lain yang bersifat antagonis. Keseimbangan antara faktor yang bersinergi dan yang antagonis inilah yang sebenarnya menentukan terjadinya angiogenesis maupun metastasis.

Namun, jika menggunakan semua marker sangat tidak efisien untuk menentukan faktor prediktif. Penelitian ini menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara CXCR4 dan VEGFA serta memperlihatkan adanya hubungan yang bermakna diantara ke dua marker dengan invasi ke pembuluh darah dan metastasis jauh. Terdapat hubungan yang terbalik antara CXCR4 dan VEGF A dengan meningkatnya usia. Seiring dengan meningkatnya usia ternyata terjadi penurunan stabilitas Hif-1 yang sangat berperan dalam meningkatkan sekresi VEGFA dan CXCR4. Di samping itu, terjadinya gangguan pada HIF dapat menyebabkan gangguan pada mobilisasi endothelial progenitor cells (EPCs) yang berperan dalam angiogenesis, yang mengakibatkan proses penyembuhan luka pada orang tua lebih lambat dibandingkan pada orang muda.³³

KESIMPULAN

CXCR4 dan VEGF A dapat dipertimbangkan menjadi marker biologi untuk memprediksi metastasis pada karsinoma payudara.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yarsa KY, Sudarsa IW, Manuaba TW. Respon klinik awal terhadap kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara subtype triple negatif, Her-2 & luminal di Denpasar (suatu penelitian pendahuluan). Bagian Bedah, Divisi Bedah Onkologi Rumah Sakit Umum Sanglah/Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar Bali. 2011.
2. Thompson AM, Pinder S. Prognostic Factor, In Dixon M, *ABC of Breast diseases*, Blackwell publishing, Edinburgh. 2007;p.77-9.
3. Kersten, K. Predicting breast cancer metastasis; formation of the pre-metastatic niche. Master's Thesis. Cancer Genomic & Developmental Biology Graduate School of life Sciences. Hubrecht Institute.2011.
4. Stiker T, Kumar V. Neoplasia, In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, eds. *Robbin*

- and Cotran's Pathology Basic of Diseases. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2010; p.268-327.
5. Abbas A. Cellular and Molecular Immunology, 6th edition, Sounders Elsevier, Philadelphia.2007;p. 279-90.
 6. Athur SW. Molecular Biology of Human Cancer. Springer, Nederland.2007 p.202-10
 7. Kryezek I, Wei S, Keller E. et al. Stromaderived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis, In Am J Physiol Cell Physiol. 2006; 292: 987-95.
 8. Ortega JC, Walsh C, Cruz G, Hernández, Brown J H, Prado J V. R et al. Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphat-Dependent Rac Exchanger 1 (P-Rex-1), a Guanine Nucleotide Exchange Factor for Rac, Mediated Angiogenic Respon to Stromal Cell Derifat Factor-1/Chemokine Stromal Cell Derifat Factor-1 (SDF-1/CXCL-12) Linked to Rac activation, endothelial cell migration, and in Vitro angiogenesis. In Mol Pharmacol. 2010; 77: 435-42.
 9. Hiratsuka, S. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lungspecificmetastasis. Cancer. Cell. 2. 2002: 289-300.
 10. Olsson A, Dimbreg A, Kreuger J, Welsh L C. VEGF receptor signaling-in control of vascular function in Molecular cell biology. 2006; 7:359-71.
 11. Roskoski R. Vascular endothelial Growth Factor (VEGF A) signaling in Tumor progression. In Clinical Review in Oncology/ hematology. Elsevier. 2007; 62:179-213.
 12. Wang, Q, Diao X, Sun J. Regulation of VEGF A, MMP-9, and metastase by CXCR4 in Prostat cancer cell line, Cell Biology International Immediate Publication. 2011; 10.1042/CB1201000744, 1-32.
 13. Robin E, Bacheler, Melisa A, Wendt, and Arthur M, Mercurio. Vascular Endothelial Growth Factor Promotes Breast Carcinoma Invasion in an Autocrine Manner by Regulating the Chemokine Receptor CXCR4. Boston. Cancer Research. 2002; 62: 7203.
 14. Heidenmann J, Ogawa H, Rafiee P, Luger N, Maaser C, Doschke W. Mucosal Angiogenesis Regulation by CXCR4 and its ligan CXCL12 Expressed by human intestinal microvascular Endothelial Cells. Am j Physiol Gantrointest liver Physiology. 2004; 10. 1152 : 1-45
 15. Sung B, Jhurani S, Ahn K, Ahn K.S, Mastuo Y, and Yi T. Zerumbone Down-regulates Chemokine Receptor CXCR4 Expression Leading to Inhibition of CXCL12-Induced Invation of Breast and Pancreatic Tumor Cells. Cancer Res. 2008; 68: 8938-44.
 16. Qinwen W, Diao X, Sun J. Regulation of VEGF A, MMP-and metastase by CxCR4 in prostat cancer cell line, Cell biology International Immediated Publication. 2011; 10.1042/CB1201007:1-32.
 17. Peirong Lu, Longbiao Li dan Xueguang Zhang. Chemokine-Chemokine Reseptor Pathway as a Tumor Therapeutic Target: the Significance of SDF-1-CXCR4 pair. Biomed Review. 2005; 16:77-81.
 18. Ottaiano A, Franco R, Aiello A, Tamalanca A A. Overexpression of Both CXC chemokine Reseptor 4 and Vaskular Endothelial Growth Factor Protein Predict Early Distant Relapse in Stage II-III Colorectal Cancer Patients, Clin Cancer Res. 2006: 12: 2795-803.
 19. Haoa, Zhang C, Qiuc Y, Liang W, Luob Y, Jina M. Recombination of CXCR4, VEGF, and MMP-9 predicting lymph node metastase in human breast cancer. In Cancer Letters. 2007; 25: 34-42.
 20. Palmieri,D. Procollagen I COOH-terminal fragment induces VEGF A-A and CXCR4 expression in breast carcinoma cells. In Exp cell research, Elsevier. 2008; 314: 2289-98.
 21. Kim,J, Suh K, Lee D, Sul H, Lee J. Expression of CXCR4 and SDF-1 α in Primary Breast Cancer and Metastatic Lymph Nodes. In Journal Breast cancer. 2009; 12:249-56.
 22. Kaplan R, Rafii S, Lyden D. Preparing the "Soil" the premetastatic niche. Weill Collage of Medicine at Cornel University, New York. 2010; 1-18.
 23. Soetrisno, E. Payudara, Buku ajar Patologi II (Khusus). Sagung Seto. 2010; 375-400.
 24. Liu Y, Ji R, Li J, Gu Q, Zhao X, Sun T. Correlation of EGFR and CXCR4 and CCR7 chemokine receptors in predicting breast cancer metastasis and prognosis in: J of exp & clin can Research. 2010; 29: 1-9.
 25. Vogel, V.G. Epidemiologi og Breast Cancer. The breast. Comperhensive Management of Benign ang Malignant Disorders,

- Ed.3.Vol1. Saunders, Missouri. 2004; 7:341-45.
26. Piulats J, Mitjans F. Angiogenesis Switch Pathway, In: Bronchud MH, et al. (eds.). Principles of Molecular Oncology. Third edition. New Jersey: Humana Press. 2008; 239-56.
27. Schulz WAInvasion and Metastasis. In: Molecular Biology of Human Cancer. Dordrecht: Springer. 2007; P:193-217
28. Lozano HB, Ancelin M, Lardeux B, Milanini J, Applanat MP. Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor by estradiol and tamoxifen in breast cancer cells: a complex interplay between estrogen receptors α and β . *Cancer Research*. 2001; 62:4977-84
29. Kawai H, Li H, Chun P, Avraham S, Avraham HK. Direct interaction between BRCA1 and the estrogen receptor regulates vascular endothelial growth factor (VEGF) transcription and secretion in breast cancer cells. *Oncogene*. 2002; 21: 7730-9.
30. Fuckar D, Dekanic A, Stifter S. VEGF expression is associated with negative estrogen receptor status in patients with breast cancer. *International Journal of Surgical Pathology*. 2006;14:49-55
31. Bufalo DD, Trisciuoglio D, Milella M. Crosstalk between VEGF and bcl-2 in tumor progression and angiogenesis. In: Harmey JH, ed. VEGF and Cancer. New York: Kluwer Academic. 2004; 26-35.
32. Rosai J, Ackerman's, Breast. In Rosai and Ackerman's. *Surg Pathol*, 9th ed, Mosby. 2004; p. 1763-66.
33. Hoenig MR, Bianchiz C, Rosenzweig A, Frank W, Selke. Decreased Vascular Repair and Neovascularisasi with Aging: Mechanisms and clinical Relevance with an Emphasis on Hypoxia-Inducible Factor-1, In: *Current Mol Med*. 2008; 8:754-67.