

HUBUNGAN EKSPRESI *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR (HIF)-1 α* TERHADAP VASKULARISASI PADA KANKER KOLOREKTAL

Indrayanti¹ Raditya Priambodo²

1. Bagian Patologi Anatomi, 2. Mahasiswa Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

INTISARI

Kanker kolorektal merupakan salah satu kanker terbanyak di dunia, Menempati tempat ketiga di dunia. Pertumbuhan sel kanker dipengaruhi oleh kemampuan tumor untuk adaptasi metabolik, angiogenesis, resistensi apoptosis, dan invasi sampai metastasis. Salah satu faktor yang berperan dalam transkripsi secara langsung dan mengaktifasi gen untuk pertumbuhan dan metabolik sel kanker adalah *Hypoxia Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α). Angiogenesis berperan dalam hal suplai nutrisi dan oksigen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi *Hypoxia Inducible Factor-1 α* terhadap gambaran vaskularisasi pada kanker kolorektal. Metode penelitian bersifat analitik observatif dengan pendekatan *cross sectional*. Pengumpulan sampel lalu dilakukan pemeriksaan Hematoksin Eosin (HE) untuk melihat vaskularisasi lalu pengecatan imunohistokimia untuk melihat HIF-1 α . Data yang diperoleh lalu di proses menggunakan *Chi-square Test*. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat hubungan antara ekspresi *Hypoxia Inducible Factor (HIF)-1 α* dengan gambaran histopatologis vaskularisasi pada kanker kolorektal. Hasil uji menggunakan Chi-Square menghasilkan nilai signifikansi sebesar $p=0,091$ ($p>0,05$), maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat hubungan signifikansi antara ekspresi HIF-1 α dengan gambaran vaskularisasi kanker kolorektal. Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara *Hypoxia Inducible Factor (HIF)-1 α* dengan gambaran histopatologi vaskularisasi kanker kolorektal.

ABSTRACT

Colorectal cancer is one of the most common cancers nowadays, ranked three in worldwide. The growth of cancer cell depends on tumor's ability to adapt in metabolic area, angiogenesis, apoptosis, and the ability to metastasis. One of the most common factors that contribute directly to cell transcription then activated growth genes for tumor cell growth is *Hypoxia inducible Factor 1- α* (HIF 1- α). Angiogenesis contributes in oxygen and nutrition supply directly tumor cell. This study aims to determine the relationship between *Hypoxia Inducible Factor 1- α* with vascularization imaging of colorectal cancer. The method of this study is analytic observational with *cross sectional* approach. The samples are collected then using Haematoksin Eosin (HE) staining to see the vascularization imaging and then examining HIF 1- α using immunohistochemistry stain. Collected data then processed using Chi Square Test. The result of this study using Chi Square Test giving significant value $p=0,091$ ($p>0,05$), we conclude that there is no significant relation between Hypoxia Inducible Factor 1- α with vascularization image in colorectal cancer.

Kata kunci: Kanker kolorektal, *Hypoxia Inducible Factor (HIF)-1 α* , vaskularisasi.

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal merupakan salah satu kanker yang mempunyai insidensi tinggi di dunia. Insidensinya yang semakin meningkat di seluruh dunia menjadikan kanker kolorektal sebagai salah satu masalah kesehatan global yang mendapat perhatian serius, sebanyak 3.261.000 jiwa menderita kanker kolorektal dengan angka mortalitas sebesar 609.000 jiwa (International Agency for Research and Cancer (IARC), 2008).

Salah satu faktor molekuler yang telah diidentifikasi dan berperan besar dalam proses keberlangsungan hidup kanker adalah Hypoxia Inducible Factor 1- α (HIF 1- α), HIF 1- α sendiri merupakan faktor transkripsi yang secara langsung akan mengaktivasi gen untuk pertumbuhan dan metabolisme sel kanker (Kresno, 2011). HIF-1 α juga mempunyai

beberapa gen target yang berfungsi sebagai agen keberlangsungan hidup sel kanker dan menginduksi gen-gen yang berperan dalam regulasi metabolic, resistensi apoptosis, angiogenesis, dan invasi sampai metastatis (Semenza, 2003).

Kondisi hipoksia pada tumor meningkatkan stabilitas dan aktivitas dari HIF-1 α . Analisis imunohistokimia menunjukkan bahwa level protein HIF-1 α dapat dideteksi di tumor jinak, peningkatan level pada tumor primer ganas, dan pada metastasis tumor, dan tidak ditemukan pada jaringan normal (Harris, 2002). Hilangnya fungsi dari gen p-53 yang ditemukan pada sebagian besar kanker, dapat meningkatkan level HIF-1 α dan memacu transkripsi yang tergantung oleh HIF pada kanker meningkat (Costa, 2006).

Salah satu dari target gen HIF-1 α adalah untuk proses pemenuhan

nutrisi maupun kecukupan oksigen sel kanker adalah VEGF, gen tersebut akan melakukan tugasnya sebagai inisiator pembentukan pembuluh darah baru atau yang lebih dikenal sebagai angiogenesis atau neovaskularisasi. Angiogenesis adalah hasil tidak seimbanginya regulasi positif dan negatif faktor angiogenik (Kuwai *et al.*, 2003). Kebutuhan vaskular ini diakibatkan karena proliferasi sel kanker yang terus menerus sehingga kebutuhan suplai nutri dan oksigen dari jaringan baru tersebut (Farhat, 2009).

METODE DAN BAHAN

Penelitian ini merupakan penelitian non-eksperimental yang dilakukan dengan mendapatkan sampel data primer dan data sekunder dari Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Center dan Cito Yogyakarta. Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*.

Sampel

Sampel populasi pada penelitian ini adalah populasi pasien yang memeriksakan atau mengirimkan hasil biopsi ke Laboratorium Patologi Anatomi Cito Yogyakarta dan Asri Medical Center Yogyakarta pada Januari 2011 sampai Mei 2012, dan telah terdiagnosa terkena kanker kolorektal.

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Oktober 2012. Tempat penelitian yang digunakan adalah Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Center Yogyakarta, Laboratorium Patologi Anatomi Cito Yogyakarta dan Laboratorium Patologi Anatomi RS Sardjito Yogyakarta.

Persiapan Sediaan Mikroskopik

Slide atau preparat diambil dari arsip Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Center dan Cito

Yogyakarta. Preparat histopatologi dibaca di Laboratorium PA Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Blok parafin yang telah dikumpulkan, disimpan dalam freezer sampai cukup dingin, selanjutnya dipotong tipis dengan menggunakan mikrotom dengan tebal 4 μm . Setiap blok parafin, dipotong ulang 2 kali untuk pulasan imunohistokimia *Hypoxia-Inducible Factor 1 α* . Sampel blok parafin yang sudah dipotong tipis (4 μm) dengan mikrotom ditempelkan pada kaca objek. Pada pulasan imunohistokimia *Hypoxia-Inducible Factor 1 α* digunakan kaca objek yang telah dicoating dengan poly-L-lysine atau Silanized slide agar jaringan dapat menempel pada kaca objek selama proses pulasan imunohistokimia. Pulasan imunohistokimia menggunakan metode The En Vision + Dual Link System kit, teknik pulasan imunohistokimia 2 langkah. Antibodi primer yang

digunakan adalah Rabbit Polyclonal Hu-antibody *Hypoxia-Inducible Factor 1 α* dengan pengenceran 1 : 100. Setelah preparat slide siap dilakukan pemeriksaan mikroskopis langsung baik dalam penilaian ekspresi HIF 1- α . Gambaran vaskularisasi dinilai dengan pengamatan mikroskopis langsung dengan pengecatan standar Hematoksin Eosin.

Analisa Statistik

Data setelah dikoleksi lalu diolah menggunakan SPSS versi 15 dengan uji Chi-Square. Didapatkan hasil signifikan apabila hasil uji $< 0,05$.

HASIL

Pada penelitian ini karakteristik subjek yang dipakai adalah 30 preparat dengan pewarnaan HIF - 1 α dan terdiri dari 14 perempuan dan 16 laki-laki yang memiliki karakteristik berbeda-beda. Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*, yaitu jenis penelitian yang pengukuran

variabel - variabelnya hanya dilakukan pada satu saat. Metode penelitian ini termasuk dalam kriteria penelitian analitik kategorik tidak berpasangan,

karena penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi HIF-1 α terhadap gambaran vaskularisasi pada pasien kanker kolorektal.

Karakteristik	HIF-1 α (+)		HIF-1 α (-)		Total	P	
	Jumlah	Presentase	Jumlah	Presentase		2-sided	1-sided
Jenis Kelamin							
Male	3	10,0%	13	43,3%	16 (53,3%)	0,417	0,283
Female	9	30,0%	9	30,0%	14 (46,7%)		
Umur							
<60	6	20,0%	16	53,3%	22 (73,3%)	1	0,645
>60	2	6,70%	6	20,0%	8 (26,7%)		

Tabel 1. Hasil uji karakteristik subjek terhadap ekspresi HIF-1 α

Setelah dilakukan pengamatan histopatologi mikroskopis langsung, Presentase terdapatnya vaskularisasi di 30 preparat, didapatkan gambaran

vaskularisasi yang positif sebanyak 11 sampel dengan presentase 37% dan kematian yang negatif sebanyak 19 buah dengan presentase 63%.

		HIF-1 α		HIF-1 α		P
		Positif		Negatif		
		n	%	n	%	
Vaskularisasi	Positif	5	17%	6	20%	0,091
	Negatif	3	10%	16	53%	
	Total	8	27%	22	73%	

Tabel 2. Hasil uji hubungan ekspresi HIF-1 α terhadap vaskularisasi kanker kolorektal

Berdasarkan tabel uji analisis antara ekspresi HIF 1- α dengan gambaran vaskularisasi kanker kolorektal menggunakan Chi-Square Test didapatkan nilai signifikansi

sebesar 0,091 ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan tidak terdapat hubungan signifikansi antara kedua variabel tersebut.

PEMBAHASAN

Salah satu faktor molekuler yang telah diidentifikasi dan berperan besar dalam proses kehidupan kanker adalah Hypoxia Inducible Factor - 1α (HIF- 1α), HIF- 1α sendiri merupakan faktor transkripsi yang secara langsung akan mengaktivasi gen untuk pertumbuhan dan metabolisme sel kanker (Kresno, 2011). HIF- 1α juga mempunyai beberapa gen target yang berfungsi sebagai agen keberlangsungan hidup sel kanker dan menginduksi gen-gen yang berperan dalam regulasi metabolic, resistensi apoptosis, angiogenesis, dan invasi sampai metastatis (Semenza, 2003).

Salah satu dari target gen HIF- 1α adalah untuk proses pemenuhan nutrisi maupun kecukupan oksigen sel kanker adalah VEGF, gen tersebut akan melakukan tugasnya sebagai inisiator pembentukan pembuluh darah baru atau yang lebih dikenal sebagai angiogenesis atau neovaskularisasi.

Angiogenesis adalah hasil tidak seimbanginya regulasi positif dan negatif faktor angiogenik (Kuwai *et al.*, 2003). Kebutuhan vaskular ini diakibatkan karena proliferasi sel kanker yang terus menerus sehingga kebutuhan suplai nutri dan oksigen dari jaringan baru tersebut (Farhat, 2009).

Berdasarkan hasil analisis didapatkan $p=0,091$, hasil tersebut menunjukkan tidak ada hubungan signifikan antara ekspresi HIF- 1α dengan gambaran vaskularisasi kanker kolorektal. Tidak didapatkannya hubungan yang signifikan ini dapat disebabkan karena beberapa hal, antara lain:

1. Cara dan pemilihan bagian sampel.

Pada saat pemilihan bagian blok parafin yang akan digunakan sebagai sampel, pemeriksa tidak memperhatikan topografi daerah jaringan.

2. Cara pemeriksaan mi-
3. krokopis langsung.

Tidak dilakukannya pembedaan antara neo vaskularisasi atau pembuluh darah baru dengan vaskularisasi normal pada preparat yang diteliti.

4. Cara pewarnaan.

Teknik pewarnaan juga tidak menggunakan pewarnaan khusus untuk melihat pembuluh darah sehingga bisa terdapat perbedaan persepsi, seperti pada penelitian Saad et al (2004) membuktikan bahwa Endoglin (CD105) dan pewarnaan VEGF sangat berguna untuk menjadi marker vaskularisasi pada kanker kolorektal sehingga bisa dijadikan target terapi atau sebagai keefektifan terapi pasien kanker kolorektal.

5. Kemampuan interpretasi pemeriksa.

Hasil ini berbanding terbalik dengan beberapa penelitian tentang hal serupa. Seperti pada penelitian oleh Kuwai *et al.*, (2003), Ekspresi HIF-1 α berhubungan secara signifikan dengan ekspresi VEGF dan densitas mikrovesel dengan nilai $p < 0,01$, penemuan ini membuktikan bahwa HIF-1 α mempunyai peran signifikan dalam proses angiogenesis dan progresi tumor melalui regulasi VEGF pada kanker kolorektal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Farhat. (2009). *Vascular endothelial growth factor pada karsinoma nasofaring*. Departemen Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
2. International Agency for Research on Cancer. 2008. *Colorectal Cancer Incidence and Mortality Worldwide in 2008*. Diakses 14 Februari 2012 dari <http://globocan.iarc.fr/factsheets/cancers/colorectal.asp>
3. Ke, Q., & Costa, M. (2006). Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1). *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics Mol Pharmacol*, 70:1469-1480.
4. Kresno, S.B. 2011. *Ilmu Dasar Onkologi*. FK UI: Jakarta.
5. Kuwai, T., Kitadai, Y., Tanaka, S., Onogawa, S., Matsutani, N., Kaio, E., Ito, M., and Chayama, K. 2003. Expression Of Hypoxia-Inducible Factor-1 α Is Associated With Tumor Vascularization In Human Colorectal Carcinoma. *Int. J. Cancer*: 105, 176–181.
6. Laughner, F., Taghavi, P., Chiles, K., Mahon, PC., and Semenza, GL. 2001. HER2 (neu) Signaling Increases the Rate of Hypoxia-Inducible Factor 1 α (HIF-1 α) Synthesis: Novel Mechanism for HIF-1-Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Expression. *Molecular and Cellular Biology*. 21(12): 3995-4004. Diakses pada tanggal 24 Februari dari <http://mcb.asm.org/content/21/12/3995.full.pdf>
7. Sun, W. (2012). Angiogenesis in metastatic colorectal cancer and the benefit of targeted therapy. *Sun Journal of Hematology & Oncology*, 5:63.