

RELATION BETWEEN EXPRESSION OF *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR (HIF)-1 α* WITH *DEGREE OF TUMOUR DIFFERENTIATION IN COLORECTAL CANCER.*

HUBUNGAN EKSPRESI *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR (HIF)-1 α* TERHADAP DERAJAT DIFERENSIASI TUMOR KANKER KOLOREKTAL

Indrayanti¹, Dwi Yuliannisa Amri²

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

ABSTRACT

Hypoxia Inducible Factor 1 alpha (HIF-1 α) are known to be important to activate the transcription of genes that are involved in crucial aspects of cancer biology. Intratumoral hypoxia and genetic alterations can lead to HIF-1 α overexpression, which has been associated with increased patient mortality in several cancer type. Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in the world. The degree of tumour differentiation as a prognostic factor in advanced Colorectal cancer. The purpose of this study was to evaluate association the expression of HIF-1 α with the degree of tumour differentiation in CRC tissues. The research is non-experimental, analytic comparative studies with cross sectional design. Paraffin-embedded tissue samples were collected from 30 CRC patients, who received surgical resection between January 2011 until May 2012. We examined the microscopic of degree of tumour differentiation that stained by hematoxylin eosin and the patterns of expression of HIF-1 α by immunohistochemistry method. The result of reseacrh is 19 slides's grade I, 7 slides's grade II, and 4 slide's grade III. Positive Expression of HIF-1 α is 8 slides and negative expression is 22 slides. Statistic result expression of HIF-1 α and degree of tumor differentiation is positively in grade I is 2 slides (10,5%), grade II is 3 slides (42,5%), grade III is 3 slides (75%). The results of the analysis of association expression of HIF-1 α with the degree of tumor differentiation is $p=0.081$ ($p>0.05$). Conclusion of research is there is no significant relation between expression Hypoxia Inducible Factor 1 alpha (HIF-1 α) with degree of tumour differentiation in CRC tissues

Keyword: Immunohistochemistry, Cancer Biology, Hypoxia

Abstrak

Hypoxia Inducible Factor 1 alpha (HIF-1 α) diketahui penting untuk mengaktifasi transkripsi gen yang terlibat dalam aspek penting dari biologi kanker. Hipoksia intratumoral dan perubahan genetik dapat menyebabkan ekspresi HIF-1 α berlebih, yang dihubungkan dengan peningkatan mortalitas pasien pada beberapa jenis kanker. Kanker kolorektal merupakan kanker ketiga yang paling banyak di dunia. Derajat diferensiasi tumor dapat digunakan sebagai faktor prognosis pada kanker kolorektal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat diferensiasi tumor pada jaringan kanker kolorektal. Penelitian ini merupakan penelitian non-eksperimental, berbentuk analitik komparatif dengan desain rancangan penelitian cross sectional.

Sampel jaringan pada blok parafin dikumpulkan dari 30 pasien kanker kolorektal, yang melakukan operasi, antara Januari 2011 sampai Mei 2012. Kami melakukan pemeriksaan mikroskopik derajat diferensiasi tumor yang dipulas *hematoxylin eosin* dan pola ekspresi HIF – 1 α yang telah dipulas imunohistokimia. Hasil penelitian ini didapatkan 19 preparat grade I, 7 preparat grade II, dan 4 preparat grade III. Ekspresi HIF-1 α positif pada 8 preparat dan 22 preparat negatif. Didapatkan perhitungan ekspresi HIF-1 α dan derajat diferensiasi tumor positif pada 2 preparat (10,5%) grade I, 3 preparat (42,5%) grade II, 3 preparat (75%) grade III. Hasil analisis hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat diferensiasi tumor didapatkan nilai $p = 0,081$ ($p > 0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah tidak ada hubungan yang signifikan antara ekspresi faktor *Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha* (HIF-1 α) dengan derajat diferensiasi tumor pada jaringan kanker kolorektal.

Kata Kunci : Imunohistokimia, Biologi Kanker, Hipoksia

Pendahuluan

Insufisiensi oksigen dalam sel yang dikenal sebagai kondisi hipoksia, ditemukan pada daerah patologis karena terjadinya proliferasi cepat dari sel-sel tumor. Hipoksia sering terjadi pada lingkungan mikro di entitas tumor dengan kelainan struktural dan fungsional dari vaskuler dan meningkatkannya kebutuhan oksigen yang disebabkan oleh proliferasi cepat sel-sel tumor. *Hypoxia Inducible Factor-1* (HIF-1), merupakan faktor transkripsi yang umumnya terdapat di mamalia dan sel manusia, telah diidentifikasi sebagai salah satu protein penting dalam keadaan hipoksia. Tumor tidak dapat tumbuh lebih besar dari 2 mm³ tanpa adanya angiogenesis, inadekuatnya oksigen di pusat tumor menyebabkan apoptosis sel dan nekrosis.

Hipoksia merupakan sinyal penting untuk induksi angiogenesis, dan salah satu regulator angiogenik di hipoksia adalah VEGF. Semua faktor ini berada di bawah kendali HIF-1 yang berikatan dengan hypoxia response element (HRE) yang mencakup unsur-unsur cis-acting DNA. HIF - 1 adalah heterodimer terdiri dari subunit HIF - 1 alpha (HIF - 1 α) dan HIF - 1beta (HIF - 1 β). HIF - 1 β , juga dikenal sebagai aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator yang berespon terhadap xenobiotik, sedangkan HIF-1 α mengaktifkan ekspresi gen VEGF dengan mengikat HRE di daerah promotor VEGF.¹

Banyak hal yang mempengaruhi prognosis kanker kolorektal, salah satunya adalah histopatologi yang didapatkan dari hasil pemeriksaan Patologi Anatomi. Selain sebagai

penentu prognosis, histopatologi juga merupakan salah satu faktor penting dalam penentuan etiologi dan penanganan KKR.²

Peningkatan ekspresi HIF-1 α ditemukan di banyak kanker pada manusia. Pada kanker payudara, peningkatan ekspresi HIF-1 α dikaitkan dengan peningkatan proliferasi dan diferensiasi buruk, yang menandakan asosiasi ekspresi HIF-1 α dengan fenotipe lebih agresif.³

Bahan Dan Cara

Penelitian ini merupakan penelitian non-eksperimental yang dilakukan dengan mendapatkan data primer dan data sekunder pada Januari 2011 sampai Mei 2012 dari Laboratorium Patologi Anatomi Cito Yogyakarta dengan desain penelitian *cross sectional*.

Sampel yang digunakan adalah 30 preparat yang didapatkan dari pasien yang mengirimkan hasil operasinya ke Laboratorium Patologi Anatomi Cito Yogyakarta pada Januari 2011 sampai Mei 2012. 16 dari 30 pasien adalah laki-laki dengan rata-rata umur pasien adalah diatas 60 tahun.

Blok parafin yang telah dikumpulkan,

disimpan dalam freezer sampai cukup dingin, selanjutnya dipotong tipis dengan menggunakan mikrotom dengan tebal 4 μ m. Setiap blok parafin, dipotong ulang 2 kali untuk pulasan imunohistokimia *Hypoxia-Inducible Factor 1 α* . Sampel blok parafin yang sudah dipotong tipis (4 μ m) 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. Cara menempelkan potongan tipis pada kaca objek *coated* adalah menggunakan ujung pisau atau pinset yang runcing. Potongan tipis dipisahkan dan diratakan dengan memasukkannya ke dalam air hangat. Setelah mengembang, pindahkan ke atas kaca objek. Selanjutnya, kaca objek diletakkan di atas alat pemanas (*hot plate*) 50-60°C. Setelah parafin melunak, kaca objek dikeringkan dan potongan jaringan siap untuk dipulas. Pulasan imunohistokimia menggunakan metode The EnVision+ Dual Link System kit, teknik pulasan imunohistokimia 2 langkah. Antibodi primer

yang digunakan adalah Rabbit Polyclonal Hu-antibody *Hypoxia-Inducible Factor 1α* dengan pengenceran 1 : 100.

Pembacaan mikroskopik ekspresi HIF-1α dilihat perbesaran kuat (400x) dimana pengecatan terlihat di nukleus dan sitoplasma. Ekspresi HIF-1α dikategorikan menjadi negatif (-) apabila sediaan tidak menunjukkan HIF-1 α sama sekali atau < 50%, dan positif (+) apabila ekspresi HIF-1α terdapat pada >50% sediaan.

Pembacaan derajat diferensiasi tumor (well, moderate, poor) menurut kriteria WHO dan ekspresi HIF-1α dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi.

Analisis statistik diuji menggunakan software SPSS-19. Untuk mengetahui hubungan ekspresi HIF-1α dengan skala variabel nominal dan derajat diferensiasi tumor dengan skala ordinal, *Chi Square Analysis* digunakan untuk kedua variabel kategorikal tersebut. Analisa statistik bermakna jika perbedaan signifikansi statistik $P \leq 0.05$.

Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan 30 preparat *Colorectal Cancer* dengan pewarnaan *Hematoksilin Eosin* dan Perwarnaan *Imunohistokimia* dari 14 wanita dan 16 pria yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dengan karakteristik yang berbeda-beda. Karakteristik yang didata dalam penelitian ini adalah umur dan jenis kelamin dan dianalisis menggunakan Uji Fisher (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil analisa hubungan karakteristik subjek terhadap ekspresi HIF-1α.

Karakteristik	HIF-1α (+)		HIF-1α (-)		Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
	n	%	n	%		
Umur						
<60	6	23,3%	16	72,7%	1,000	0,645
≥60	2	25%	6	75%		
Jenis Kelamin						
Pria	3	18,8%	13	81,3%	0,417	0,263
Wanita	5	35,7%	9	64,3%		

p = Nilai signifikansi dimana jika $p > 0,05$ berarti tidak memiliki perbedaan yang signifikan dan $p < 0,05$ berarti memiliki perbedaan yang signifikan.

Berdasarkan uji fisher, diperoleh nilai signifikan (*p*) karakteristik usia dan jenis kelamin pasien $>0,05$ sehingga H_0 dapat diterima. H_0 dapat diterima pada setiap

karakteristik memiliki arti bahwa setiap karakteristik memiliki peluang yang sama dalam pengekspresian *Hypoxia Inducible Factor -1 α* .

Protein HIF-1 α diekspresikan kuat di epitel sekitar tumor, terutama di daerah nekrosis, tetapi tidak dalam mukosa normal. Pulasan imunohistokimia HIF-1 α nampak terekspresi dalam jaringan tumor, terutama di bagian sitoplasma dan terdapat sedikit pulasan pada bagian inti sel tumor (Gambar 1).

Pengujian hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat diferensiasi tumor menggunakan uji komparatif *Kolmogorov Smirnov*, hal ini disebabkan jenis tabel yang digunakan adalah 2x3, namun setelah dianalisa didapatkan expected count <5 sebanyak 3 cell yang menjadikan penggunaan Chi square Test tidak memenuhi syarat. Jika taraf signifikansi yang

dihasilkan nilai uji *Kolmogorov Smirnov* < 0,05 maka disimpulkan bahwa data memiliki hubungan antara variabel satu dengan variabel yang lain.

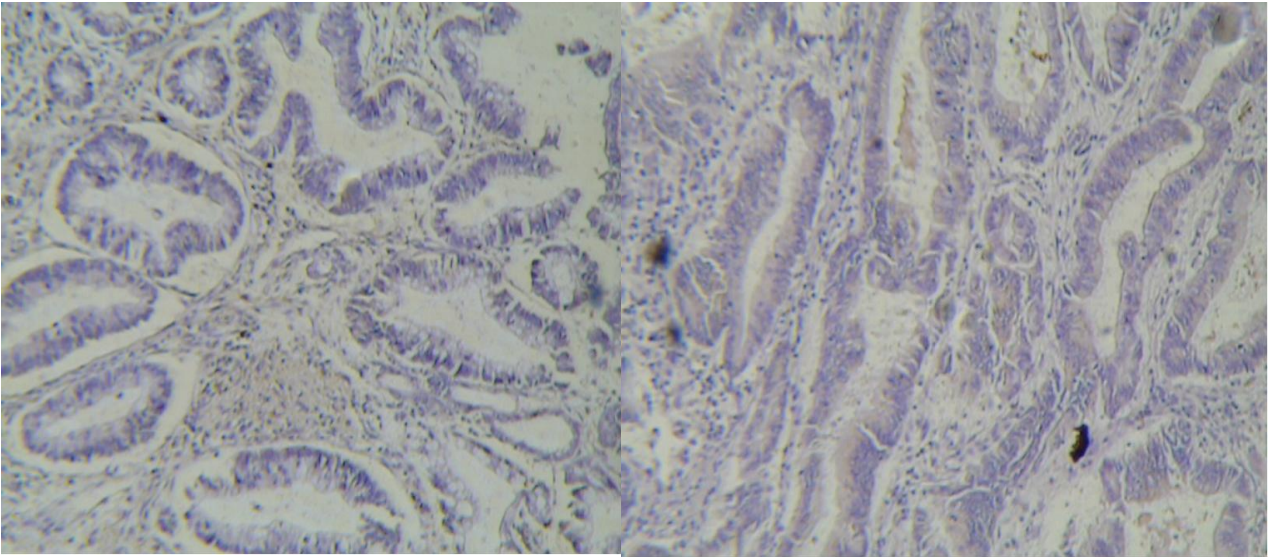
Hasil perhitungan dan analisa derajat diferensiasi tumor kanker kolorectal dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. Uji komparatif *Kolmogorov Smirnov*

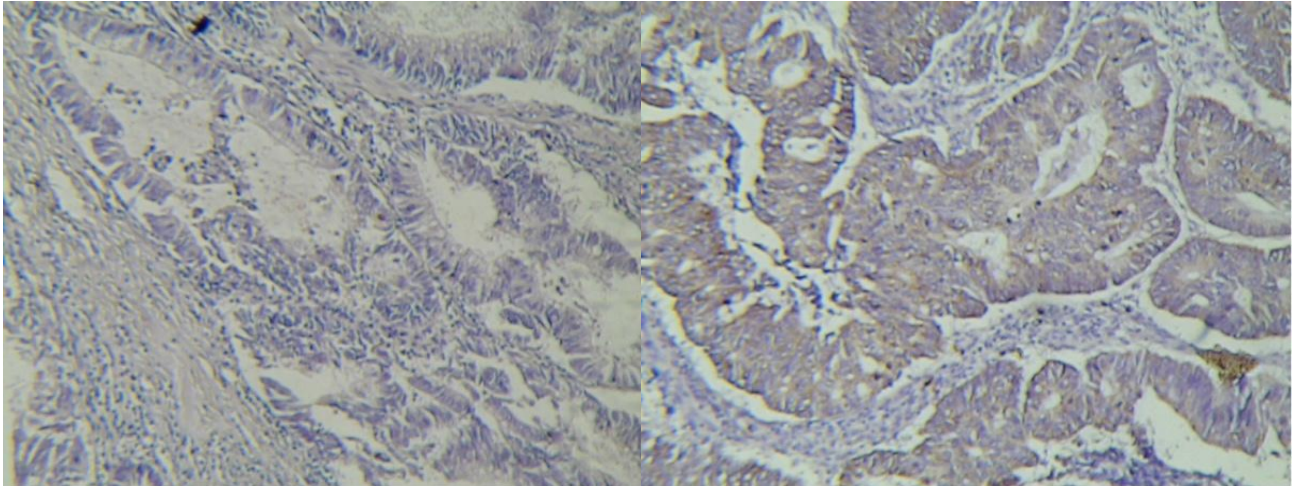
Karakteristik	HIF - 1 α (+)		HIF - 1 α (-)		Asymp. Sig. (2-sided)
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase	
Derajat Diferensiasi Tumor					
Good	2	10,5 %	17	89,5 %	0,081
Moderate	3	42,9 %	4	57,1 %	
Poor	3	75 %	1	25 %	

p = Nilai signifikansi dimana jika *p* > 0,05 berarti tidak memiliki perbedaan yang signifikan dan *p* < 0,05 berarti memiliki perbedaan yang signifikan.

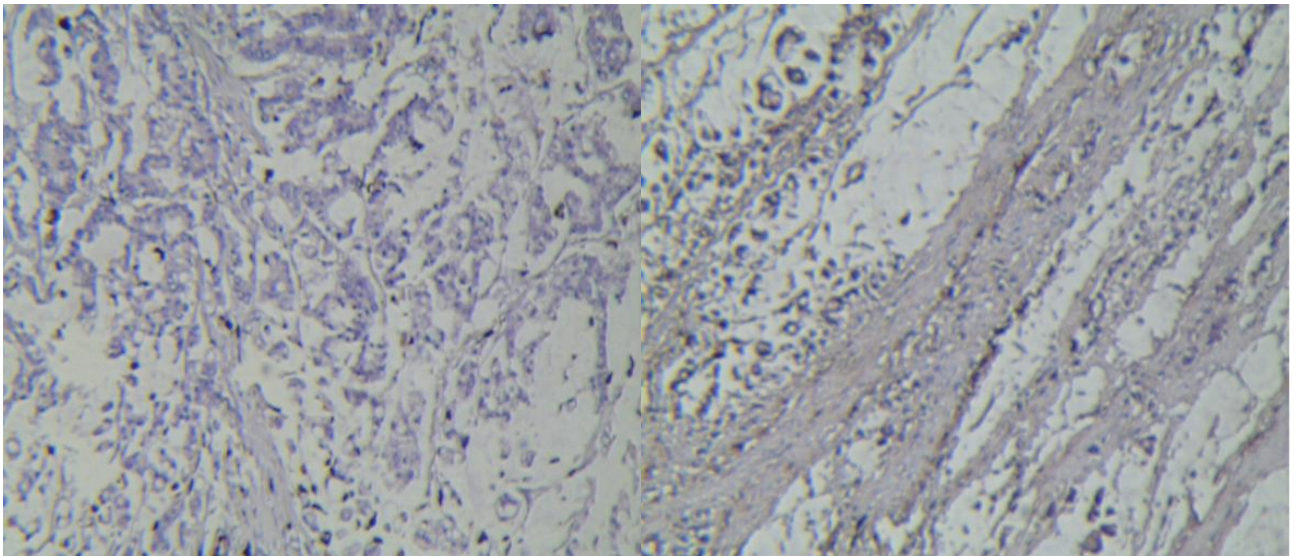
Grade I



Grade II



Grade III



HIF-1 α (-)

HIF-1 α (+)

Gambar 1. Mikroskopis Kanker Kolorektal Pulasan Immunohistokimia

Tabel 2 menunjukkan analisis data hubungan antara derajat diferensiasi tumor kanker kolorectal dengan ekspresi HIF-1 α . dari tabel diatas menunjukkan hasil pembacaan derajat diferensiasi tumor kanker kolorectal dengan ekspresi HIF-1 α . Dari 8 preparat yang terekpresi positif (+) didapatkan pada deferensiasi baik 2 preparat, diferensiasi sedang 3 preparat dan diferensiasi buruk 3 preparat. Dari hasil analisa yang telah dilakukan diperoleh nilai sig 0,081 ($p>0,05$) yang berarti tidak ada hubungan yang bermakna antara diferensiasi tumor kanker kolorectal dengan ekspresi HIF-1 α .

Diskusi

Hasil analisa secara statistik penelitian kami selaras dengan hasil data statistik dari penelitian “Expression of HIF-1alpha and VEGF in colorectal cancer: association with clinical outcomes and prognostic implications” oleh Cao., et al. Hasil dari penelitian tersebut ialah HIF-1 α dan VEGF secara signifikan terkait dengan stadium tumor, kelenjar getah bening dan metastasis hepar ($P <0,05$). Ekspresi HIF-1 α dan VEGF dikaitkan dengan parameter klinis:

umur, jenis kelamin, ukuran tumor, derajat diferensiasi histologis, dan kedalaman infiltrasi tidak signifikansi ($P > 0,05$). Tetapi hal ini tidak berkorelasi dengan hasil penelitian lain yang menyebutkan bahwa terdapat hubungan antara ekspresi *Hypoxia Inducible Factor* (HIF) 1- α terhadap derajat diferensiasi tumor kanker kolorektal. seperti pada penelitian “*Hypoxia-Inducible Factor-1 Modulates The Down-Regulation Of The Homeodomain Protein CDX2 In Colorectal Cancer*” oleh Jianbao Zheng., et al. Hasil penelitian tersebut membuktikan adanya hubungan antara ekspresi HIF-1 α dengan CDX2 dan hubungan kedua faktor tersebut terhadap diferensiasi tumor ($p < 0.01$).

Sebagaimana diketahui, hipoksia merupakan hasil dari ketidakseimbangan antara pengiriman oksigen dan konsumsi oksigen yang mengakibatkan penurunan tekanan oksigen di bawah tingkat normal pada jaringan tertentu.⁴ Hipoksia banyak terjadi pada proses penyakit dan tersebar luas di daerah tumor solid, karena tumor mempunyai proses yang progresif melampaui jumlah pembuluh darah yang ada.⁵ Proses adaptasi fisiologi dan patologi terhadap

tekanan oksigen rendah (hipoksia) pada sel dan jaringan menyebabkan terinduksinya transkripsi dari serangkaian gen yang berpartisipasi dalam transporter glukosa, enzim glikolitik, angiogenesis, dan protein lain yang terlibat dalam homeostasis O₂ dan perkembangan tumor yang teraktivasi oleh HIF-1 α .⁶

Hipoksia dan HIF-1 α menginduksi growth factors, seperti *insulin-like growth factor-2* (IGF2) dan *transforming growth factor-2* (TGF-2). Pengaktifan *growth factors* dengan reseptornya mengaktifkan jalur transduksi sinyal yang menyebabkan proliferasi sel dan merangsang ekspresi HIF-1 α itu sendiri (Semenza, 2003). Sitokin, *growth factors* serta hipoksia dalam sel, dapat mengaktifkan jalur sinyal MAPK dan PI3K, yang mempromosikan proliferasi sel serta berkontribusi terhadap siklus HIF-1 α . Hal ini menyebabkan peningkatan aktivitas transkripsi gen target HIF-1 α , termasuk encoding IGF2 dan TGF-2 yang berkontribusi dalam jalur *autocrine-signaling*, yang penting untuk perkembangan kanker.⁷

Insulin-like growth factors (IGFs) memainkan peran penting dalam mengatur

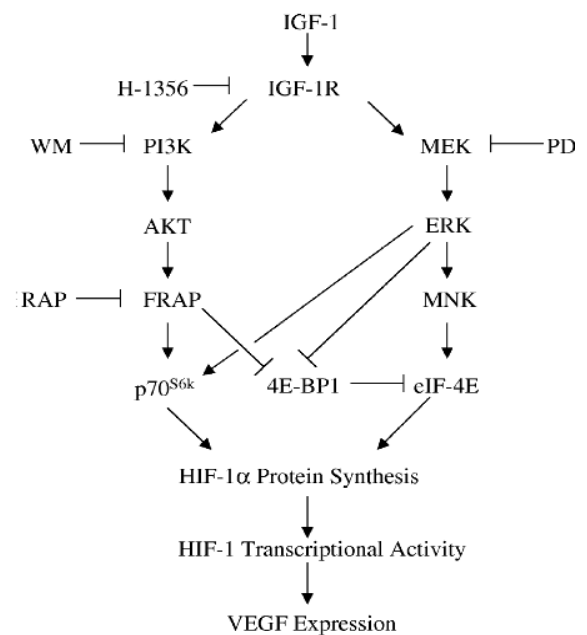
proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, dan transformasi. IGFs akan teraktivasi dengan berinteraksi dengan reseptor spesifik pada membran sel, yaitu reseptor IGF-I (IGF-IR), dan interaksi tersebut diatur oleh sekelompok protein pengikat spesifik. Anggota dari *insulin-like growth factors* (IGFs) mencakup polipeptida ligan IGF-I dan IGF-II, dua jenis reseptor membran sel (yaitu, IGF-IR dan IGF-IIR), dan enam protein *insulin-like growth factor binding protein* yaitu IGFBP-1 sampai IGFBP-6.⁸

Insulin-like growth factors I reseptor (IGF - IR) berikatan oleh ligan yang cukup hidrofobik agar dapat memasuki sel. Pengikatan ligan mengaktifkan pembentukan kompleks reseptor-ligan yang secara langsung berhubungan dengan DNA inti sel dan selanjutnya mengaktifkan ataupun menghentikan transkripsi gen.⁹ Kompleks reseptor-ligan mengontrol proliferasi sel dalam berbagai cara, yaitu mengirimkan sinyal mitogenik, melindungi sel dari berbagai cedera apoptosis, mendorong pertumbuhan ukuran sel (persyaratan untuk pembelahan sel), memainkan peran penting dalam pembentukan dan pemeliharaan perubahan fenotip sel,

mengatur adhesi sel dan motilitas sel, dan menginduksi diferensiasi terminal.¹⁰

IGF-IR mengirimkan sinyal mitogenik dan *Insulin-like growth factor-1 receptor tyrosine kinase* (IGF-1R) diaktifkan dengan mengikat salah satu dari ligan, IGF-1 atau IGF-2. IGF-1R *signaling* melalui jalur mitogen mengaktifasi protein (MAP) kinase dan fosfatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) yang memainkan peran penting dalam transformasi dan tumorigenesis. Ekspresi gen IGF2 merupakan *up-regulator* setiap gen dalam sel kanker kolorektal dan relatif pada epitel kolon normal, sehingga dapat menstimulasi *autocrine-signalling* sel yang mengekspresikan reseptor dan ligan. Selain efek dari IGF-1R untuk transformasi sel dan proliferasi, pengikatan IGF-1 juga menginduksi transkripsi faktor gen VEGF yang penting untuk angiogenesis tumor. IGF-1 meningkatkan pertumbuhan kanker kolorektal dan metastasis serta ekspresi VEGF tumor dan vaskularisasi. Berbagai jalur *growth factor-receptor tyrosine kinase signaling* menginduksi ekspresi VEGF pada sel kanker, seperti pada sinyal onkogenik RAS, ekspresi VEGF tergantung pada aktivitas

kinase MAP/extracellular signal-regulated kinase (ERK) kinase 1 (MEK-1) pada fibroblas, tetapi juga tergantung pada aktivitas PI3-kinase pada sel epitel. Jalur sinyal selular tersebut memodulasi ekspresi gen dengan mengubah aktivitas atau ekspresi faktor transkripsi spesifik. Stimulus fisiologis utama untuk ekspresi VEGF adalah hipoksia seluler, hipoksia menginduksi transkripsi gen VEGF dimediasi oleh HIF-1 α .¹¹

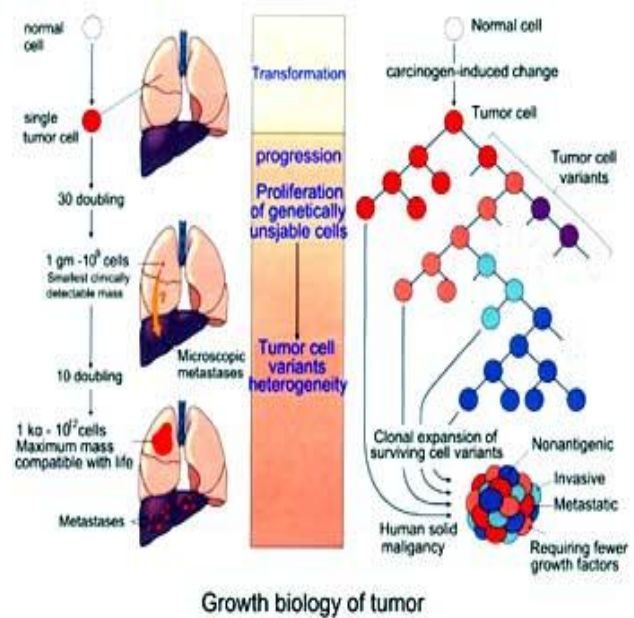


Gambar 2. Mekanisme molekuler HIF-1 α dimediasi IGF-1.¹¹

Secara fungsional, IGF-1 tidak hanya mengindikasi proliferasi sel tetapi juga menghambat apoptosis. Perpaduan dari efek

mitogenik dan antiapoptotic IGF-1 memiliki dampak besar pada pertumbuhan tumor. IGF-1 memiliki efek langsung dan jangka panjang pada berbagai kegiatan selular, dan efek ini dimediasi terutama melalui IGF-1R. IGF-1 mendesak terjadinya anabolik akut pada protein dan metabolisme karbohidrat dengan meningkatkan ambilan asam amino, glukosa, dan glikogen dengan merangsang dan sintesis protein. IGF-1 juga memiliki dampak jangka panjang pada proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis. IGF-1 adalah mitogen ampuh untuk berbagai macam sel dan mengerahkan aksi mitogenik dengan meningkatkan sintesis DNA dan dengan merangsang ekspresi cyclin D1 , yang mempercepat perkembangan siklus sel dari G1 ke fase S. Efek mitogenik dari IGF-1 dapat dihapuskan dengan menekan ekspresi cyclin D1. Selain merangsang perkembangan siklus sel , IGF-1 juga menghambat apoptosis. IGF-1 mampu merangsang ekspresi protein Bcl dan untuk menekan ekspresi Bax , yang menghasilkan peningkatan dalam jumlah relatif dari heterodimer Bcl/Bax, sehingga menghalangi inisiasi jalur apoptosis.¹²

Famili reseptor tirosin kinase ini berperan pada berbagai proses sel neoplastik termasuk proliferasi. Semua perubahan tersebut mempengaruhi laju pertumbuhan tumor dan laju pertumbuhan tumor berhubungan dengan derajat diferensiasi tumor. Proliferasi sel adalah pembelahan sel dan pertumbuhan sel, mekanisme dan pengaturan proliferasi sel didasari oleh adanya siklus sel. Derajat diferensiasi secara umum berhubungan dengan tingkat keganasan dan proliferasi sel, sehingga tumor yang derajat diferensiasinya buruk akan mempunyai tingkat proliferasi yang lebih tinggi.⁹



Gambar 3. Biologi pertumbuhan tumor.¹³

tumor berkembang biak, populasi mutan mengalami penyeleksian yang menghilangkan beberapa sel tumor, sel neoplastik kurang agresif dieliminasi dan sel-sel yang lebih agresif bertahan hidup. Mekanisme pertahanan sel tumor dan hasil seleksi sel tumor merupakan prinsip yang sangat penting secara teori dan klinis:

1. Perkembangan Tumor.

Banyak tumor menjadi lebih agresif dan memperoleh potensi ganas lebih besar dari waktu ke waktu .

2. Tumor heterogenitas.

Meskipun sebagian besar tumor ganas yang berasal monoklonal , pada saat mereka terbukti secara klinis, sel-sel penyusunnya telah menjadi sangat heterogen. Heterogenitas hasil dari beberapa mutasi yang terakumulasi secara independen dalam sel yang berbeda . Hal ini menyebabkan generasi subclones, memiliki masing-masing dengan karakteristik fungsional atau morfologi yang berbeda. Sebuah tumor yang tumbuh cenderung memiliki

subclones yang mampu bertahan hidup, tumbuh, invasi, dan bermetastasis. ¹³

Perbedaan yang terjadi antara hipotesis dengan data hasil statistik penelitian dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Adapun salah satu faktor yang turut andil dalam hal ini adalah distribusi jumlah sampel derajat diferensiasi tumor. Hal ini disebabkan karena diferensiasi buruk adenokarsinoma dan karsinoma mucinous (Por & Muc) dari usus besar dan rektum memiliki insiden lebih rendah dari kanker organ lain seperti lambung dan kelenjar payudara. Namun tetap memiliki karakteristik diferensiasi buruk, yaitu prognosis buruk, tahap yang lebih maju saat diagnosis, perilaku agresif dan tingginya insiden metastasis. Sebagian karena jumlah kasus yang terlalu kecil, beberapa jurnal diferensiasi buruk & mucinous karsinoma kolorektal (CRC) mengenai perubahan genetik dalam karsinogenesis kolorektal, menjelaskan perkembangan tumor sebagai refleksi dari perubahan genetik kumulatif. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa gen supresor tumor kehilangan fungsi bertahap mereka dalam urutan tertentu. Dalam beberapa sampel klinis,

bagian invasif dari tumor menunjukkan grade diferensiasi yang lebih rendah, meskipun tumor utama berdiferensiasi baik. Menpertimbangkan bahwa bagian invasif dari tumor dianggap paling progresif, diferensiasi yang lebih rendah mungkin menunjukkan tahap progresif tumor diferensiasi baik. Oleh karena itu, menurut tahapan karsinogenesis, perubahan genetik lebih seharusnya terakumulasi di differensiasi buruk & karcinoma mucinous yang akan menurunkan survival rate penderita.¹⁴ Pada derajat diferensiasi yang tinggi, maka angka bertahan hidup 49 bulan 21,7%, derajat diferensiasi sedang dan baik untuk 60 bulan 58,9% dan perbedaan ini sangat bermakna dengan $p < 0,01$.¹⁵

Faktor lain yang dapat mempengaruhi ialah pasien telah mendapatkan terapi kemoterapi atau radioterapi sebelum operasi yang dapat membiaskan hasil dari statistik. Dimana bila mendapatkan kemoterapi berupa 5 Fu yang mempunyai prinsip kerja sintesa DNA yang akan berlanjut dengan proses apoptosis tumor.¹⁶

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil analisa statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara ekspresi Hypoxia Inducible Factor (HIF) 1- α terhadap derajat diferensiasi tumor kanker kolorektal dengan $p=0.081$.
2. Prosentase HIF-1 α positif terbanyak ditemukan pada kanker kolorektal dengan derajat diferensiasi buruk (75%) dibandingkan dengan diferensiasi baik (10,5%) dan diferensiasi sedang (42,5%).

Saran

Penelitian ini dapat diperbaiki dan dilanjutkan dengan jumlah sampel yang lebih banyak dan dengan penambahan variabel tergantung karena masih banyak kemungkinan faktor yang akan membedakan ekspresi HIF-1 α dapat memberikan gambaran yang lebih baik dan lebih bermakna.

Daftar pustaka

1. Chao, D., Hou, M., Guan, Y.S., Jiang, M., Yang, Y., Gou, H.F. 2009. *Expression of HIF-1 α and VEGF in Colorectal Cancer: Association With Clinical Outcomes And Prognostic Implications. BMC Cancer.* 9(432):1-92.
2. Stewart SL, Wike JM, Kato I, Lewis DR, Michaud F. A Population-based Study of Colorectal Cancer Histology in The United States, 1998-2001[internet]. 2006[cited 2011 November 20].available from:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16802325>
3. Vleugel MM., A E Greijer, A Shvarts, P van der Groep, M van Berkel, Y Aarbodem, H van Tinteren, A L Harris, P J van Diest, E van der Wall. 2005.*Differential Prognostic Impact Of Hypoxia Induced And Diffuse HIF-1 α Expression In Invasive Breast Cancer. J Clin Pathol* 2005;58:172–177.
4. Lundgren K, Holm C, Landberg G. 2007. *Hypoxia and breast cancer: prognostic and therapeutic implications.* Cell Mol Life Sci. 2007;64:3233–3247.
5. Harris AL. 2002. *Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth.* Nat Rev Cancer 2002;2:38–47.
6. Berra, E., Benizri, E., Ginouves, A., Volmat, V., Roux, D., & Pouyssegur, J. 2003. *HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1 α in normoxia.* EMBO J. 22: 4082–4090
7. Semenza, GL. 2003. Targeting HIF-1 for Cancer Therapy. *Nature Reviews Cancer* , 3(10): 721-732.
8. Yu, Herbert, Thomas Rohan. 2000. *Role of the Insulin-Like Growth Factor Family in Cancer Development and Progression.* Journal of the National Cancer Institute, Vol. 92, No. 18, September 20, 2000
9. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Buku ajar patologi* 7nd ed, Vol. 2. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007 : 860-1
10. Valentinis B, R Baserga. 2001. *IGF-I Receptor Signalling In Transformation And Differentiation.* J Clin Pathol: Mol Pathol 2001;54:133–137
11. Fukuda , Ryo, Kiichi Hirota, Fan Fan, Young Do Jung, Lee M. Ellis, Gregg L. Semenza. 2002. *Insulin-like Growth Factor 1 Induces Hypoxia-inducible Factor 1-mediated Vascular Endothelial Growth Factor Expression, Which is Dependent on MAP Kinase and Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling in Colon Cancer Cells.* The Journal Of Biological Chemistry Vol. 277, No. 41, Issue of October 11, pp. 38205–38211, 2002
12. Gombos, Andrea, Otto Metzger-Filho, Lissandra Dal Lago, Ahmad Awada-Hussein.2012. Clinical development of insulin-like growth factor receptor—1 (IGF-1R) inhibitors: At the crossroad?. Invest New Drugs (2012) 30:2433–2442
13. Pathological Website. 2006. Biology of tumor growth. Diakses pada tanggal 17 Desember 2013 dari <http://pathol.med.stu.edu.cn/pathol/listEngContent2.aspx?ContentID=598>
14. Kazama J., T. Makino, Y. Ohta, and J. Tsujii. 2002. Tuning Support Vector Machines for Biomedical Named Entity Recognition. *ACL Workshop on NLP in Biomedical Domain*, pages 1–8.
15. Riwanto dkk. 1994. *Faktor-Faktor Yang Berperan Pada Angka Bertahan Hidup Karsinoma Kolorektal Di RSDK Semarang, Periode April 1988-1994.*
16. He, Xiao-Tong, Xiao-Ming Fan, Xi-Liang Zha. 2011. Ghrelin inhibits 5-fluorouracil-induced apoptosis in colonic cancer cells. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* Volume 26, Issue 7, pages 1169–1173, July 2011