

**POLA EKSPRESI VEGF-C SECARA IMUNOHISTOKIMIA  
PADA KANKER PAYUDARA STADIUM II DENGAN HER-2  
POSITIF DAN HUBUNGANNYA DENGAN PENYEBARAN KE  
KELENJAR GETAH BENING KETIAK**

**TESIS**

**REBECCA N. ANGKA  
NPM 0706170936**



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

**POLA EKSPRESI VEGF-C SECARA IMUNOHISTOKIMIA  
PADA KANKER PAYUDARA STADIUM II DENGAN HER-2  
POSITIF DAN HUBUNGANNYA DENGAN PENYEBARAN KE  
KELENJAR GETAH BENING KETIAK**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK (M. Biomedik)**

**REBECCA N. ANGKA  
NPM 0706170936**



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

## **HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**

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

**Nama : Rebecca N. Angka**

**NPM : 0706170936**

**Tanda Tangan :**

**Tanggal : 19 Juni 2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Rebecca N. Angka  
NPM : 0706170936  
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Onkologi  
Judul Tesis : Pola ekspresi VEGF-C secara imunohistokimia pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dan hubungannya dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak

**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 : DR.Dr.Aru W.Sudoyo, SpPD,KHOM,FACP ( )

Pembimbing II : Dr. Evlina Suzanna Sinuraya, SpPA ( )

Penguji I : DR. Dr. Noorwati Sutandyo, SpPD,KHOM ( )

Penguji II : Dr. Esti Sabarati Soetrisno SpPA(K) ( )

Penguji III : Ahmad Rusdan Handoyo Utomo, Ph.D ( )

Ditetapkan di : Jakarta  
Tanggal : 19 Juni 2009

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Dr.rer.physiol.dr.Septelia Inawati Wanandi

## KATA PENGANTAR

Hanya karena kasih dan anugerah yang telah diberikanNya kepada penulis hingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini.

Tesis ini dilaksanakan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik dengan judul **Pola ekspresi VEGF-C secara imunohistokimia pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dan hubungannya dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.**

Terima kasih penulis sampaikan kepada 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 telah menerima penulis sebagai mahasiswa biomedik .

Penghargaan dan terima kasih kepada Dr. rer. physiol. dr. Septelia Inawati W sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan pengarahan selama penulis menjalankan pendidikan.

Penghargaan dan terima kasih kepada Prof. dr. Siti Boedina Kresno, SpPK(K) sebagai Ketua Kekhususan Onkologi FKUI dan Ketua Bidang Penelitian dan Registrasi, Yayasan Kanker Indonesia yang banyak memberikan pengarahan dan dukungan selama ini.

Terima kasih disertai rasa hormat dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada DR. dr. Aru W. Sudoyo, SpPD, KHOM, FACP sebagai dosen pembimbing sejak penulis memulai studi sebagai mahasiswa biomedik sampai penulis menyelesaikan penulisan tesis ini. Terima kasih atas semua saran, bimbingan, dukungan dan waktu yang amat berharga yang telah diberikan selama penulis mengerjakan tesis.

Kepada Dr. Evlina Suzanna Sinuraya, SpPA sebagai dosen pembimbing dalam tesis ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas semua saran, bimbingan, dukungan dan waktu yang diberikan selama penulis mengerjakan tesis.

Penghargaan dan banyak terima kasih kepada dr. Maryantoro Oemardi SpPD KEMD yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan banyak memberi saran dalam penulisan tesis ini.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada DR. Dr. Noorwati Sutandyo, SpPD,KHOM yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran, bimbingan dan koreksi selama penulis menjalani pendidikan.

Terima kasih dan rasa hormat juga penulis sampaikan kepada Dr. Endang SR Hardjolukito,MS,SpPA(K) yang telah memberikan saran dan bimbingan selama penulis melakukan penelitian ini.

Terima kasih kepada Dr. Esti Sabarati Soetrisno SpPA(K) dan Ahmad Rusdan Handoyo Utomo, Ph.D yang telah memberikan saran-saran guna perbaikan penulisan tesis ini.

Kepada DR. dr. Aida Suriadiredja, SpKK (K) sebagai Sekretaris Kekhususan Onkologi penulis mengucapkan banyak terima kasih karena beliau selalu bersedia membantu dan memberi semangat.

Terima kasih kepada Dr. dr. Abidin Widjanarko, SpPD, KHOM selaku Direktur SDM dan Pendidikan RS Kanker Dharmais dan dr. Lenny Sari SpPA selaku Kepala Departemen Patologi Anatomi RS Kanker Dharmais yang telah memberi ijin penulis melakukan penelitian di RS Kanker Dharmais. Terima kasih atas penerimaan dan dukungannya yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Kepada seluruh karyawan di Departemen Patologi Anatomi dan Bagian Litbang RS Kanker Dharmais penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis melakukan penelitian di RS Kanker Dharmais.

Dengan penuh hormat penulis menyampaikan penghargaan dan banyak terima kasih kepada Ibu Karlinah Umar Wirahadikusumah selaku Ketua Dewan Pembina Yayasan Kanker Indonesia beserta seluruh Pembina YKI, Ny. Sri Murti Ali Said, Ny. Suyetty Wardhanto, Ny. T. Satrio Sasono, DR. dr. FA. Moeloek, SpOG. Penghargaan dan banyak terima kasih kepada Ibu Adiati Arifin Siregar selaku Ketua Umum Yayasan Kanker Indonesia yang telah memberi ijin dan dukungan penuh kepada penulis untuk melanjutkan studi. Kepada dr. Melissa S. Luwia, MHA dan dr. Sumarjati Arjoso, SKM, sebagai Ketua Bidang Pelayanan Sosial dan Ketua Bidang Pendidikan dan Penyuluhan Yayasan Kanker Indonesia, penulis mengucapkan terima kasih karena sejak awal telah memberikan dukungan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan ini. Terima kasih kepada Yayasan

Kanker Indonesia yang telah memberikan sebagian dari biaya pendidikan penulis dan seluruh biaya penelitian ini.

Terima kasih penulis sampaikan kepada dr. Hendria J. Ligouw, sahabat dan rekan kerja di Pusat Diagnostik Dini Yayasan Kanker Indonesia yang telah dengan sukarela membantu menyelesaikan tugas-tugas yang seharusnya menjadi tanggung jawab penulis. Terima kasih atas pengertian yang selama ini diberikan kepada penulis.

Kepada seluruh staf sekretariat program studi magister biomedik, pak Dani, pak Zacky dan mbak Ella di sekretariat FKUI, beserta mbak Tika dan mbak Nia di sekretariat kekhususan onkologi di RS Kanker Dharmais, terima kasih atas semua bantuannya terutama dalam melaksanakan semua proses-proses administrasi, perkuliahan dan penulisan tesis hingga semua berjalan lancar.

Dengan rasa cinta penulis mengucapkan terima kasih kepada papi Gustaaf Clarence Angka SH dan mami Sriwulani Sutantio yang tiada henti mendoakan putra-putrinya agar selalu berhasil dalam mengarungi kehidupan ini.

Teruntuk suamiku tercinta Ir. Satyo Lumaksono Hadisaputro, terima kasih atas cinta, perhatian dan dukungan yang selalu diberikan serta pengertian mengingat banyak waktu kebersamaan yang tersita saat penulis harus melakukan penelitian dan menyelesaikan tesis ini. Teruntuk Yosia Giovanni Hadisaputro dan Gabriel Hezekiah Hadisaputro, anak-anakku tercinta, terima kasih untuk pengertian dan bantuan kalian selama mama melanjutkan studi. Kiranya ini dapat menjadikan kalian lebih giat belajar dan menuntut ilmu tiada henti.

Terima kasih penulis sampaikan kepada para guru yang telah mendidik semenjak kecil hingga sekarang, teman-teman yang tidak bisa disebutkan namanya satu persatu dan semua pihak yang telah membantu dengan doa-doa mereka selama penulis melanjutkan studi, melakukan penelitian dan penyusunan tesis ini.

Kiranya semua pihak yang telah memberikan bantuan dan kebaikan kepada penulis akan senantiasa mendapatkan berkat dari Tuhan YME. Dengan rendah hati penulis menyadari bahwa tidak ada karya yang sempurna selain Maha Karya-Nya, oleh karena itu kepada segenap pembaca karya kecil ini, penulis

menghaturkan penghargaan dan ucapan terima kasih serta tidak menutup mata untuk koreksinya.

*Trials make us think; thinking makes us wise; wisdom makes life profitable*

Jakarta, 19 Juni 2009



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

---

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

Nama : Rebecca N. Angka  
NPM : 0706170936  
Program Studi : Pasca Sarjana Ilmu Biomedik  
Kekhususan : 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:

Pola ekspresi VEGF-C secara imunohistokimia pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dan hubungannya dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak

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 : 19 Juni 2009

Yang menyatakan

( Rebecca N. Angka )

## ABSTRAK

Nama : Rebecca N. Angka  
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Onkologi  
Judul : Pola ekspresi VEGF-C secara imunohistokimia pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dan hubungannya dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak

Faktor pertumbuhan endotel vaskular atau Vascular Endothelial Growth Factor (selanjutnya disebut VEGF) adalah suatu glikoprotein dimer yang dihasilkan oleh sel tumor dan jaringan yang memerlukan pasokan pembuluh darah baru. Beberapa penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan antara penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dengan ekspresi VEGF C dan D terutama pada kanker payudara jenis duktal invasif. Ekspresi berlebihan dari VEGF disertai ekspresi berlebihan dari HER-2 ditemukan pada 77,2% pasien kanker payudara. Lebih jauh diketahui bahwa ekspresi VEGF berhubungan dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.

Pengaruh faktor ini mendorong peneliti untuk mempelajari kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif karena penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak pada sisi yang sama dengan kanker payudara, mulai ditemukan pada stadium II baik pada tumor ukuran di bawah 2 cm ataupun pada tumor berukuran lebih dari 2 cm. Dalam penelitian ini dinilai pola ekspresi VEGF pada subjek dengan penyebaran ke kelenjar getah bening (N1) dan pada keadaan belum adanya keterlibatan kelenjar getah bening (N0).

Ekspresi VEGF dapat diamati dan diukur derajatnya pada jaringan kanker payudara dengan teknik imunohistokimia. Pola ekspresi yang didapatkan dari hasil penelitian ini diharapkan dapat melihat sifat biologik kanker payudara dalam hal penyebarannya ke kelenjar getah bening ketiak dan dapat digunakan sebagai faktor prediksi dalam hal penyebarannya, sehingga membantu dalam membuat keputusan mengenai terapi pada kanker ini. Sebanyak 95 sampel kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif tahun 1999 – 2009 diperiksa pola ekspresi VEGF-C. Didapatkan perbedaan tidak bermakna antara ekspresi VEGF-C pada kelompok N0 dan N1 (5 dan 90, dengan  $p = 0,086$ ).

Kata kunci: kanker payudara, VEGF-C, penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak regional ipsilateral

## ABSTRACT

Name : Rebecca N. Angka  
Study Program : Biomedic Science (Major Oncology)  
Title : Expression VEGF-C by immunohistochemical staining in breast cancer stage II with HER-2 positive and associated with axillary lymph node metastasis.

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) is a dimeric glycoprotein produced by tumor cells and tissues that require ample blood supply. Some studies have suggested that there is an association between metastasis of cancer cells to the axillary lymph nodes and VEGF C and D especially in ductal invasive breast carcinoma. The overexpression from VEGF together with HER-2 were found in 77.2 percent of breast cancer patients. Furthermore evidence suggest that VEGF expression is connected with the spread of cancer to the axillary lymph nodes.

We examined breast cancer stage II with HER-2 positive, as the spread of cancer cells to the axillary lymph nodes from the same breast cancer side will only be found at stage II for both tumour under 2 cm or more than 2 cm. We examined VEGF-C expression in breast cancer by immunohistochemistry and we analyzed the its relationship with axillary lymph node.

The results from this research is aimed at monitoring the spread of breast cancer to the axillary lymph nodes and to predict its spread and therefore to find the most effective treatment management for this type of cancer. We analyzed VEGF-C expression in 95 sample breast cancer stage II with HER-2 positive from 1999 – 2009. There is no significant associated between VEGF-C expression and axillary lymph node ( $p = 0,089$ ).

Key words: breast cancer, VEGF-C, ipsilateral axillary lymph node metastasis regional

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
<b>1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Hipotesis .....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
<b>2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Kanker payudara.....	6
2.1.1 Epidemiologi dan faktor-faktor risiko terjadinya kanker payudara.....	6
2.1.2 Jenis-jenis kanker payudara.....	8
2.1.3 Karsinogenesis kanker payudara.....	10
2.1.4 Kelenjar getah bening ketiak.....	13
2.2 <i>Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)</i> .....	14
2.3 VEGF, kelenjar getah bening ketiak dan kanker payudara.....	22
<b>3 METODOLOGI.....</b>	<b>26</b>
3.1 Kerangka konsep.....	26
3.2 Desain Penelitian.....	26
3.3 Tempat dan Waktu.....	27
3.4 Populasi dan Sampel .....	27
3.5 Kriteria Inklusi.....	27
3.6 Besar Sampel.....	27
3.7 Cara Kerja.....	28
3.6.1 Rekrutmen subyek penelitian.....	
3.6.2 Bahan.....	
3.6.3 Metode pemeriksaan.....	
3.8 Alur penelitian.....	31
3.9 Manajemen dan Analisis Data.....	31
3.10 Definisi Operasional.....	32

3.10	Etika Penelitian.....	32
<b>4</b>	<b>HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>33</b>
4.1	Karakteristik Subyek Penelitian.....	33
4.2	Hasil Pulasan Imunohistokimia VEGF-C.....	34
4.3	Analisis ekspresi VEGF-C serta penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.....	35
<b>5</b>	<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
5.1	Demografi.....	36
5.2	Hubungan ekspresi VEGF-C dengan HER-2.....	37
5.3	Hubungan ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.....	38
<b>6</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>41</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA... ..</b>	<b>42</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>47</b>
	<b>RIWAYAT HIDUP.....</b>	<b>53</b>
	<b>DRAFT ARTIKEL.....</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Hubungan stadium dan harapan hidup penderita .....	9
Tabel 4.1	Karakteristik subyek penelitian.....	34
Tabel 4.2	Hubungan VEGF-C dengan kelenjar getah bening (KGB).....	35
Tabel 5.1	Hubungan VEGF-C dengan grade histologi.....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kanker sporadik 75%, kanker familial 25% .....	10
Gambar 2.2	Model karsinogenesis bertahap pada kanker payudara.....	11
Gambar 2.3	Proses molekuler, seluler dan patologik yang terjadi pada perubahan dari jaringan normal ke lesi preinvasif .....	12
Gambar 2.4	Interaksi antara anggota keluarga VEGF dan reseptor VEGF ..	16
Gambar 2.5	Keseimbangan faktor proangiogenik dan antiangiogenik .....	17
Gambar 2.6	Pengaturan HIF- $\alpha$ selama keadaan normoksia dan hipoksia ....	18
Gambar 2.7	Proses proteolitik, spesifisitas pengikatan reseptor dan efek biologis dari VEGF-C .....	20
Gambar 2.8	Jalur sinyal pada limfangiogenesis.....	21
Gambar 2.9	Limfangiogenesis merangsang penyebaran tumor secara limfatik .....	24
Gambar 2.10	Proses penyebaran limfatik .....	25
Gambar 3.1	Skema kerangka konsep .....	26
Gambar 3.2	Skema alur penelitian .....	31
Gambar 4.1	Spesimen blok parafin dan slide pulasan imunohistokimia ....	34
Gambar 4.2	Hasil pulasan imunohistokimia .....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Tabel induk data pasien penelitian.....,,,	47
Lampiran 2	Surat izin penelitian.....	49
Lampiran 3	Keterangan lolos kaji etik.....	50
Lampiran 4	Penjelasan tentang penelitian perjalanan penyakit kanker payudara.....	51
Lampiran 5	Formulir persetujuan.....	52



## DAFTAR SINGKATAN

1. HER-2 : *Human epidermal growth factor receptor-2*
2. EGFR : *Epidermal growth factor receptor*
3. MAPK : *Mitogen-activated protein kinase*
4. PI3K : *Phosphatidylinositol-3 kinase*
5. VEGF : *Vascular endothelial growth factor*
6. TNM : *Primary Tumor, Regional Lymph Nodes, Distant Metastasis*
7. AJCC : *American Joint Committee on Cancer*
8. FISH : *Fluorescent in situ hybridization*
9. FLT-1 : *fms-like tyrosine kinase receptor*
10. KDR : *kinase insert domain containing receptor*
11. FLT-4 : *fms-like tyrosine kinase receptor*
12. HIF-1 : *Hypoxia-inducible factor 1*
13. ARNT : *Aryl hydrocarbon nuclear translocator*
14. HREs : *specific hypoxia reponse elements*
15. TAMs : *Tumor-associated macrophages*
16. ALND : *Axillary lymph node dissection*
17. ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*
18. RT-PCR : *reverse trancription polymerase chain reaction*

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Sudah lama diketahui bahwa status kelenjar getah bening ketiak pada kanker payudara merupakan faktor prognosa dan perkiraan (*predictive factor*) yang berdiri sendiri (*independent*) selain dari pada derajat keganasan histologi dan ukuran tumor<sup>1</sup>. Dalam hal penyebaran ke kelenjar getah bening, kanker payudara yang mengekspresikan HER-2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor-2*) disertai penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak mempunyai prognosa yang lebih buruk dibandingkan dengan kanker payudara yang tidak mengekspresikan HER-2 disertai penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak, karena ekspresi berlebih dari HER-2 dianggap berhubungan dengan agresifitas penyakit. HER-2 adalah suatu protoonkogen tirosin kinase yang merupakan golongan dari *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). Reseptor HER-2 terdiri dari tiga domain yaitu ekstraseluler, membrane sel dan intraseluler yang pada akhirnya akan meneruskan sinyal ke inti sel sehingga terjadi proliferasi sel. Domain intraseluler mempunyai aktivitas tirosin kinase yang mengatur aspek fisiologi, pertumbuhan dan differensiasi sel. Domain ekstraseluler berinteraksi dengan anggota famili HER sebagai ko-reseptor dan memfasilitasi sinyal transduksi sebagai bagian kompleks heterodimer yang terbentuk setelah berikatan dengan ligan. Ligan untuk reseptor ini dikenal sebagai heregulin adalah famili faktor pertumbuhan yang mengikat HER-3 dan HER-4 kemudian akan menginduksi heterodimer dengan HER-2 dan meneruskan sinyal selanjutnya. Heregulin setelah dimerisasi dengan HER-3, melalui HER-2 menstimulasi jalur multipel intraseluler termasuk *the mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan AKT/PI3K (*phosphatidylinositol-3 kinase*) yang mengakibatkan peningkatan proliferasi, resisten terhadap apoptosis dan peningkatan angiogenesis. Ekspresi berlebih dari HER-2 mengubah sel menjadi ganas dan meningkatkan tumorigenesis. HER-2 yang merupakan faktor yang merangsang penyebaran, mempengaruhi proses replikasi dan meningkatkan tumorigenesis. Ekspresi berlebih dari HER-2 terdapat pada 20% sampai 40% kanker payudara<sup>2,3,4,5,6,7</sup>.

Saat ini diketahui ada enam perubahan dalam fisiologi sel yang terkumpul menyebabkan keganasan<sup>8</sup>, yaitu:

1. Sinyal pertumbuhan sendiri
2. Tidak sensitif terhadap sinyal anti pertumbuhan
3. Menghindari program kematian sel (apoptosis)
4. Kemampuan replikasi tak terbatas
5. Pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*) terus menerus
6. Invasi jaringan dan penyebaran (*metastasis*).

Peningkatan pertumbuhan akan menyebabkan perubahan metabolisme yang menuju pada hipoksia. Hipoksia akan merangsang terjadinya pembentukan pembuluh darah baru dimana VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) sebagai salah satu faktor yang berperan penting<sup>8</sup>.

VEGF adalah suatu glikoprotein dimer yang dikeluarkan oleh sel tumor dan jaringan yang memerlukan pasokan pembuluh darah baru. VEGF bekerja melalui reseptornya yaitu VEGFR-2 dan VEGFR-1 yang berada pada endotel dan keduanya diinduksi pada keadaan hipoksia untuk memacu limfangiogenesis. VEGF-A adalah heparin yang terikat pada glikoprotein dengan kemampuan angiogenik, mitogenik dan permeabilitas vaskuler yang meningkatkan aktivitas mitogenesis dan migrasi untuk sel endotel, menginduksi proteinase yang menuju perpindahan matriks ekstraseluler, meningkatkan permeabilitas vaskuler dan vasodilasi, mempertahankan pembuluh darah baru melalui penghambatan apoptosis sel endotel. VEGF-C dan VEGF-D adalah sitokin yang tidak hanya untuk angiogenik tapi juga aktifitas limfangiogenik. VEGF-C dan VEGF-D berafinitas pada reseptor tirosin kinase, VEGFR-3 yang memacu limfangiogenesis, suatu komponen utama yang penting untuk penyebaran ke kelenjar getah bening regional. Sebagai ligan, VEGF-C dan VEGF-D merangsang fosforilasi VEGFR-3 dan mengatur pertumbuhan dan diferensiasi endotel limfatik sendiri atau bersamaan dengan faktor pertumbuhan lainnya. VEGF berperan juga pada proses penyembuhan luka, proliferasi endometrium, kehamilan dan tereksresi pada beberapa jenis kanker, antara lain: paru, tiroid, payudara, saluran gastrointestinal, ginjal dan kandung kemih, sel telur dan uterus. Pada jaringan normal, seperti jantung dan paru terjadi ekspresi gen VEGF-C dalam jumlah

tinggi, sehingga dapat diperkirakan bahwa VEGF-C penting untuk homeostasis jaringan. Mutasi pada gen VEGFR-3 menyebabkan terjadinya pembesaran kelenjar getah bening. Ekspresi VEGF dapat dipakai sebagai petanda harapan hidup pada kanker melalui peningkatan limfangiogenesis dan penyebaran melalui pembuluh darah dan pembuluh limfe. Ini berarti harapan hidup menjadi lebih buruk. Beberapa penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan antara penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dengan ekspresi VEGF C dan D terutama pada kanker payudara jenis karsinoma duktal invasif. Ekspresi berlebih dari VEGF ditemukan pada 77,2% pasien kanker payudara dengan ekspresi berlebih dari HER-2. Lebih jauh diketahui bahwa ekspresi VEGF berhubungan dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak<sup>9,10,11,12,13</sup>.

Terapi kanker payudara saat ini ditentukan oleh stadium dan penentuan stadium kanker payudara ditetapkan berdasarkan sistem TNM (*Primary Tumor, Regional Lymph Nodes, Distant Metastasis*)<sup>14</sup> (AJCC/American Joint Committee on Cancer, *Cancer Staging Manual 6<sup>th</sup> ed*) dimana pembagian stadium II terdiri dari:

- stadium II A : T0, N1, M0  
T1, N1, M0  
T2, N0, M0
- stadium II B : T2, N1, M0  
T3, N0, M0

T0 : tidak ada massa tumor

T1 : diameter < 2 cm

T2 : diameter > 2 - < 5 cm

T3 : diameter > 5 cm

N0 : tidak ada penyebaran ke kelenjar getah bening

N1 : penyebaran ke 1 – 3 kelenjar getah bening dan/atau dengan tehnik *Sentinel Node Lymph Procedure (SLNP)* ke kelenjar getah bening mamaria interna.

Kanker payudara stadium dini adalah :

- stadium 0 : karsinoma insitu
- stadium I : pT1mikroinvasif, pTa/b/cN0
- stadium IIA : > 2 - < 5 cm, pN1mikrometastasis,a,b,c

Penelitian ini dilakukan pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif karena pada umumnya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak pada sisi yang sama baru mulai terdeteksi nyata pada kanker payudara baru mulai ditemukan pada stadium II, baik pada tumor yang berukuran di bawah 2 cm maupun pada tumor yang berukuran lebih dari 2 cm, di mana ini merupakan salah satu faktor perkiraan yang penting untuk menentukan penatalaksanaan pengobatan kanker payudara selanjutnya disamping faktor-faktor lainnya. Hubungan antara pola ekspresi VEGF dengan keterlibatan kelenjar getah bening pada kanker payudara dengan HER-2 positif perlu dilengkapi untuk menentukan penanganan yang tepat<sup>1,14</sup>. Dalam penelitian ini dinilai pola ekspresi VEGF pada kasus dengan penyebaran ke kelenjar getah bening (N1) dan pada keadaan belum adanya keterlibatan kelenjar getah bening (N0).

Ekspresi VEGF dapat diamati dan diukur derajatnya pada jaringan kanker payudara dengan teknik imunohistokimia. Pola ekspresi yang didapatkan dari hasil penelitian ini diharapkan dapat melihat sifat biologik kanker payudara dalam hal penyebarannya ke kelenjar getah bening ketiak dan dapat digunakan sebagai faktor prediksi dalam hal penyebarannya, sehingga bisa dilakukan penentuan/pemilihan metode penanganan yang lebih baik.

## **1.2 Perumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif, N0 dan N1?
2. Adakah hubungan antara ekspresi VEGF-C dengan penyebaran di kelenjar getah bening ketiak pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif?

## **1.3 Hipotesis**

Pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif akan mengekspresi VEGF-C lebih rendah pada status N0 daripada N1.

## **1.4 Tujuan penelitian**

**Tujuan umum:**

Mempelajari pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif.

**Tujuan khusus:**

1. Mendapatkan pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif.
2. Membandingkan pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dengan dan tanpa penyebaran ke kelenjar getah bening.

**1.5 Manfaat penelitian**

Pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II, HER-2 positif dengan atau tanpa penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dapat digunakan sebagai data tambahan dalam menentukan progresifitas penyakit dan respon terhadap pengobatan.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kanker payudara

##### 2.1.1 Epidemiologi dan faktor-faktor risiko terjadinya kanker payudara

Kanker payudara merupakan jenis kanker terbanyak diderita oleh perempuan di dunia menurut data WHO pada tahun 2002 dan merupakan penyebab kematian pertama pada perempuan di Indonesia pada tahun 2005<sup>15</sup>. Jumlah kasus payudara pada perempuan menunjukkan peningkatan setiap tahunnya. Hal ini mungkin disebabkan karena perubahan gaya hidup perempuan modern sebagai tenaga profesional yang sukses menyebabkan mereka menunda atau tidak hamil, meningkatnya kegemukan disertai berkurangnya aktivitas fisik dan meningkatnya penggunaan terapi sulih hormon. Faktor nongenetik seperti kehamilan pada usia lebih muda, aktivitas fisik, merokok dan berat badan yang seimbang secara umum akan melindungi perempuan dari risiko terkena kanker payudara<sup>16</sup>.

Kanker payudara selalu merupakan sumber tekanan bagi penderita dan keluarganya karena payudara merupakan simbol estetik yang berharga. Penderitaan ini juga disebabkan karena banyak penderita yang baru mencari pengobatan saat stadium penyakit telah lanjut. Stadium kanker payudara yang digunakan saat ini memakai sistem TNM<sup>14</sup> (AJCC Cancer Staging Manual 6<sup>th</sup> ed) :

- Stadium 0 : Tis, N0, M0
- Stadium I : T1 (termasuk T1mikroinvasif), N0, M0
- Stadium II A : T0, N1, M0  
T1 (termasuk T1mikroinvasif), N1, M0  
T2, N0, M0
- Stadium II B : T2, N1, M0  
T3, N0, M0
- Stadium III A : T0, N2, M0  
T1 (termasuk T1mikroinvasif), N2, M0

T2, N2, M0

T3, N1, M0

T3, N2, M0

- Stadium III B : T4, semua N, M0

Semua T, N3, M0

- Stadium IV : semua T, semua N, M1

Sebagaimana ditemukan pada jenis kanker yang lain, kanker payudara disebabkan oleh berbagai faktor herediter dan faktor lingkungan yang multipel. Faktor-faktor risiko yang berkaitan dengan terjadinya kanker payudara adalah:

1. usia : Risiko terkena kanker payudara meningkat dengan bertambahnya usia (> 55 tahun)<sup>1</sup>.
2. herediter dan riwayat keluarga : 5% dari kasus kanker payudara disebabkan karena faktor herediter akibat adanya mutasi pada gen BRCA1 dan BRCA2<sup>1,17</sup>.
3. diet : Diet rendah lemak disertai konsumsi sayuran dapat menurunkan risiko terjadinya kanker payudara<sup>1,17</sup>.
4. alkohol : Alkohol meningkatkan risiko terjadinya kanker payudara<sup>1,17</sup>.
5. kegemukan (obesitas) : Penambahan berat badan setelah menopause meningkatkan risiko terjadinya kanker payudara. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan meningkatnya produksi estrogen oleh aktivitas aromatase di dalam jaringan lemak payudara<sup>17</sup>.
6. hormon : Menarche (haid pertama kali) dini, ovulasi yang teratur, menopause yang terlambat meningkatkan paparan estrogen pada perempuan premenopause. Pemakaian kontrasepsi hormonal meningkatkan risiko terjadinya kanker payudara (risiko relatif = 1,2) tapi risiko ini akan menghilang bila penggunaan dihentikan. Satu sampai empat tahun setelah berhenti risiko relatif 1,16, lima sampai sembilan tahun setelah dihentikan risiko relatif 1,07 dan 10 tahun setelah dihentikan risiko terjadinya kanker payudara sama dengan bukan pengguna sedangkan pemberian terapi hormon pengganti meningkatkan estrogen pada perempuan postmenopause dan ini semua berhubungan dengan



meningkatnya risiko kanker payudara. Pemberian terapi hormon pengganti ini juga dipengaruhi oleh lamanya pemakaian<sup>1,17</sup>.

7. Pengaruh lingkungan<sup>17</sup>:

- Tembakau: pajanan terhadap asap tembakau dan bahan-bahan karsinogen yang terkandung dalam rokok menyebabkan terjadinya mutasi gen dengan konsekuensi kanker.
- Radiasi: dosis tinggi sinar ion pada daerah dada sebagai terapi terhadap kanker lainnya.
- Pajanan zat-zat kimia toksik seperti pestisida, kosmetika, dioxin yang bersifat karsinogen.

### 2.1.2 Jenis-jenis kanker payudara

Secara histopatologi berdasarkan klasifikasi WHO 2003, lesi di payudara dibagi atas<sup>1,18</sup>:

1. Karsinoma payudara invasif.
2. Lesi-lesi prekursor.
3. Lesi-lesi epitel jinak.
4. Lesi-lesi mioepitel.
5. Lesi-lesi mesenkim.
6. Lesi-lesi fibroepitel.
7. Tumor dari puting payudara.
8. Limfoma maligna dan tumor-tumor metastatik.
9. Tumor pada payudara pria

Karsinoma payudara invasif :

1. Karsinoma duktal, NOS.
2. Karsinoma lobular.
3. Karsinoma tubular.
4. Karsinoma kribriiform.
5. Karsinoma meduler.
6. Karsinoma yang menghasilkan musin.
7. Karsinoma neuroendokrin.
8. Karsinoma papiler.

9. Karsinoma mikropapiler.
10. Karsinoma apokrin.
11. Karsinoma metaplastik.
12. Karsinoma kaya lipid.
13. Karsinoma sekretorik.
14. Karsinoma onkositik.
15. Karsinoma adenoid kistik.
16. Karsinoma sel asinik.
17. Karsinoma kaya glikogen.
18. Karsinoma sebacea.
19. Karsinoma inflamatori.
20. Karsinoma payudara bilateral.

Angka kejadian karsinoma duktal invasif sebesar 74,6%-85% dan 4-10% untuk karsinoma lobular invasif ( seperti dilaporkan Azzopardi dkk<sup>1</sup> dan Ikeda dkk<sup>19</sup>). Angka kejadian jenis kanker payudara lainnya lebih sedikit lagi.

Menurut Yeh I<sup>20</sup>, jenis dan stadium (ukuran tumor dan adanya pembesaran kelenjar getah bening) kanker payudara disertai status hormonal, mempengaruhi harapan hidup pada penderita.

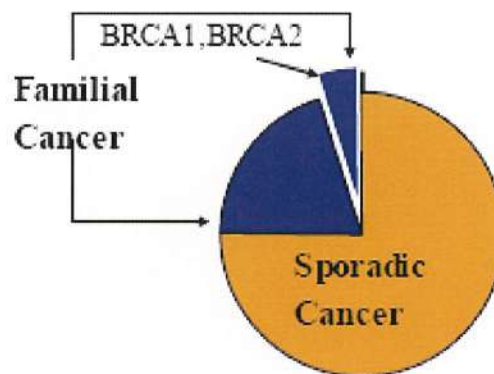
Tabel 2.1: Hubungan stadium dan harapan hidup penderita

Stage	5-year Relative Survival Rate
<b>0</b>	100%
<b>I</b>	100%
<b>IIA</b>	92%
<b>IIB</b>	81%
<b>IIIA</b>	67%
<b>IIIB</b>	54%
<b>IV</b>	20%

(*American Cancer Society*).

### 2.1.3 Karsinogenesis kanker payudara

Kanker payudara terjadi karena faktor genetik dan lingkungan yang menyebabkan terjadinya mutasi pada gen-gen penting. Kanker payudara dapat dibagi menjadi kanker yang diturunkan (familial) sebanyak 20-30% dan kanker sporadik 70-80%. Interaksi antara faktor genetik seperti mutasi pada gen BRCA1 dan BRCA2, dan paparan lingkungan sangat penting dengan perbandingan genetik yang sangat kuat atau lingkungan yang sangat kuat<sup>16</sup>.

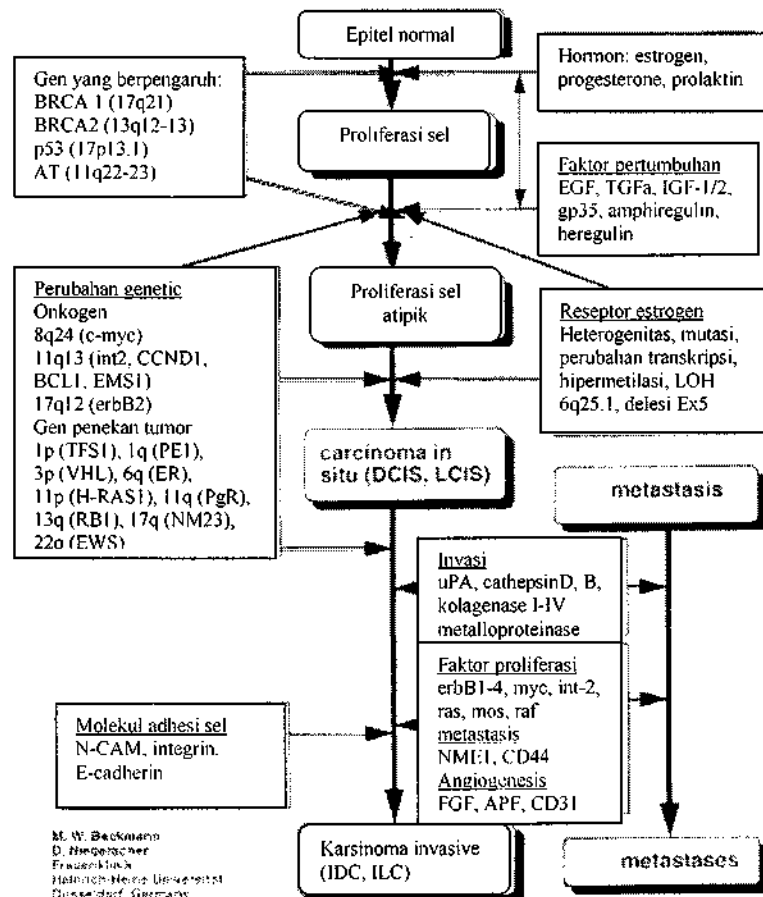


Gambar 2.1 : Kanker sporadik 75%, kanker familial 25% ( BRCA1, BRCA2 5% atau 25% risiko familial)<sup>16</sup>

Beberapa penelitian membuktikan bahwa estrogen mempengaruhi terjadinya tumorigenesis payudara di mana perempuan dengan paparan tinggi hormon seks terutama estrogen akan berisiko lebih tinggi untuk terkena kanker payudara, yaitu pada perempuan dengan menarche dini dan menopause lambat. Pemberian antiestrogen jangka panjang dan pengobatan dengan inhibitor aromatase dapat menurunkan kejadian kanker payudara kontralateral sebanyak 80%<sup>16</sup>.

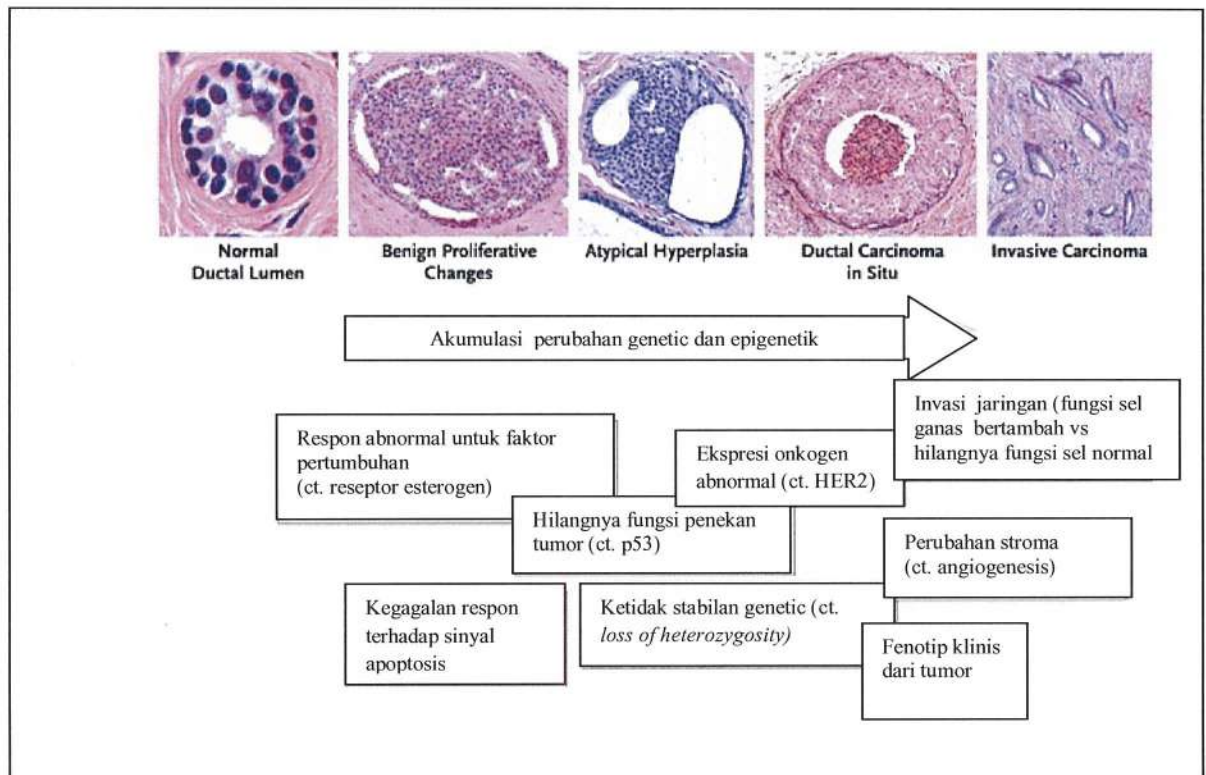
Karsinogenesis terjadinya kanker payudara merupakan proses bertahap yang dimulai dari hiperplasia sampai in situ dan karsinoma invasif. Tidak ada konsensus yang dapat mengatakan bahwa proses bertahap karsinogenesis kanker payudara akurat dan kapan waktunya terjadi perubahan sukar diduga<sup>21</sup>. Penelitian yang dilakukan oleh Bai M dkk pada tahun 2000 membuktikan bahwa terdapat peningkatan proses apoptosis dan aktivitas proliferasi yang paralel dengan terjadinya

progresivitas lesi epitel yang bersifat terus menerus menuju karsinoma duktal invasif.



Gambar 2.2 : Model karsinogenesis bertahap pada kanker payudara dimulai dari sel epitel kelenjar payudara normal menjadi karsinoma payudara yang bersifat insitu dan invasif.<sup>22</sup>

Reseptor estrogen yang pada keadaan normal diekspresikan oleh sel epitel luminal payudara, pada lesi karsinoma duktal insitu diekspresikan lebih dari 70%. Protoonkogen HER2/neu diekspresikan secara berlebih hampir separuh dari semua lesi karsinoma duktal insitu tapi tidak pada hiperplasia atipik. Mutasi tumor supresor gen p53 ditemukan pada hampir 25% lesi karsinoma duktal insitu tapi jarang mutasi pada jaringan payudara normal atau proliferasi jinak. Terjadi perubahan pola ekspresi gen selama proses tumorigenesis payudara dari jaringan normal ke karsinoma duktal insitu tetapi gambaran ekspresi gen karsinoma duktal invasif hampir sama dengan kanker payudara invasif.



Gambar 2.3 : Proses molekuler, seluler dan patologik yang terjadi pada perubahan dari jaringan normal ke lesi preinvasif<sup>16</sup>.

Gen HER2/neu yang terletak pada kromosom 17q adalah golongan gen yang mengkode reseptor transmembran untuk faktor pertumbuhan, termasuk EGFR (HER1, ErbB1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3), dan HER4 (ErbB4). Reseptor faktor pertumbuhan memegang peranan penting untuk memulai proliferasi dan jalur kehidupan sel. Reseptor ini mempunyai daerah ekstraseluler yang akan berikatan dengan ligan, daerah transmembran dan daerah sitoplasma yang mempunyai aktivitas tirosin kinase yang dapat mengaktifkan jalur pensinyalan di bawahnya. Domain ekstraseluler berinteraksi dengan anggota famili HER sebagai ko-reseptor dan memfasilitasi sinyal transduksi sebagai bagian kompleks heterodimer yang terbentuk setelah berikatan dengan ligan<sup>1,23</sup>. Ligan untuk reseptor ini dikenal sebagai heregulin adalah golongan faktor pertumbuhan yang mengikat HER-3 dan HER-4 kemudian akan menginduksi heterodimer dengan HER-2 dan meneruskan sinyal selanjutnya<sup>23</sup>. Heregulin setelah dimerisasi dengan HER-3, melalui HER-2 menstimulasi reorganisasi aktin, perkembangan struktur untuk pergerakan seperti filopodia dan lamelipodia dan merangsang motilitas

pada galur sel kanker payudara. Heregulin juga merangsang *p21-activated kinase* (PAK1), merupakan kinase yang terlibat pada perpindahan sel. Peningkatan ekspresi HER-2 mengubah sel menjadi ganas dan meningkatkan tumorigenesis. Setelah perbanyakkan HER-2/neu terjadi, fenotip HER-2 terfiksasi selama masa perkembangan tumor, oleh karena itu tes HER-2 dapat dilakukan saat stadium dini maupun setelah metastasis. Keadaan ini dihubungkan dengan faktor harapan hidup yaitu diferensiasi buruk, tumor derajat tinggi, proliferasi sel tinggi disertai keterlibatan kelenjar limfe dan relatif resisten terhadap kemoterapi. Ekspresi HER-2 dapat dibuktikan dengan pemeriksaan imunohistokimia dan *fluorescent in situ hybridization* (FISH)<sup>2</sup>.

Peningkatan ekspresi HER-2/neu terdapat pada 25% sampai 40% kanker payudara<sup>3</sup> dan di artikel lain dikatakan 20% sampai 30 % kanker payudara invasif<sup>24</sup>. Ekspresi HER-2 menyebabkan berkurangnya sensitifitas kanker payudara ER positif terhadap pengobatan hormonal yang tergantung pada fosforilasi tidak tergantung pada ligand ER. Hal ini disebabkan karena kanker payudara HER-2 positif berproliferasi lebih cepat sehingga respon biologik tidak sebanding dengan respon klinik<sup>25</sup>. Selain dengan status hormonal yang negatif, peningkatan ekspresi HER-2 secara bermakna berhubungan dengan pentahapan histologi yang tinggi dan besarnya tumor<sup>26</sup>. Pada tingkat molekuler, peningkatan HER2 dihubungkan dengan deregulasi kontrol siklus sel fase G1/S melalui peningkatan regulasi siklin D1, E dan cdk6, seperti juga penghancuran p27<sup>24</sup>.

#### 2.1.4 Kelenjar getah bening ketiak

Secara biologi, adanya sel tumor pada kelenjar getah bening ketiak sangat penting artinya bagi penderita kanker payudara karena dua alasan<sup>27</sup>:

- Status kelenjar getah bening ketiak diterima sebagai faktor prognosis dan prediksi yang berdiri sendiri. Adanya sel tumor ganas di dalam 1 – 3 kelenjar getah bening ketiak merupakan tanda bahwa tumor telah menyebar di luar batas payudara. Bila ditemukan  $\geq 4$  kelenjar getah bening ketiak mengandung sel tumor maka sudah termasuk ke dalam N2 di mana ini merupakan stadium III<sup>14</sup>.

- Adanya sel tumor di kelenjar getah bening ketiak bukan hanya merupakan suatu tanda prognosis yang buruk tapi juga merupakan sumber sel tumor menyebar ke tempat lain yang lebih jauh bila sel-sel tumor di kelenjar getah bening ini masuk kembali ke dalam aliran darah menuju organ yang lebih jauh seperti tulang, otak, paru, hati dan tumbuh di sana.

## 2.2 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

VEGF adalah suatu glikoprotein yang bersifat dimer, 34-42 kDa, terdiri dari 6,28,29,30,31,32.

- VEGF-A yang biasa disebut VEGF terdiri dari lima bentuk serupa, bervariasi panjangnya berdasarkan residu asam amino: VEGF 121, VEGF 145, VEGF 165, VEGF 189 dan VEGF 206. Penelitian lain menyebutkan ada satu bentuk tambahan lain yaitu VEGF 148. Bagian amino terminal dari rantai peptida dari ke lima bentuk berikatan dengan reseptor VEGFR 1 dan 2, sedangkan bagian karboksil berikatan dengan protein heparin-sulfat dari matrik ekstraselular. VEGF 121 bersifat asam dan tidak berikatan dengan heparin. VEGF 189 dan VEGF 206 bersifat sangat basa dan mempunyai afinitas yang sangat kuat terhadap heparin. VEGF 165 mempunyai afinitas sedang terhadap heparin dan dapat ditemukan berikatan terhadap matriks ekstraselular dan pada permukaan sel. VEGF-A berikatan dengan VEGFR-1 dan -2 dan sflt1. VEGF-A diekspresikan tinggi pada tumor paru, otak, gastrointestinal, urogenital dan kanker payudara in situ dan invasif.
- VEGF-B adalah anggota famili VEGF yang dapat berikatan dengan VEGFR-1 dan neuropilin-1. Ada dua bentuk VEGF-B yaitu VEGF-B 167, sebuah peptida yang terlarut dan VEGF-B 189 yang berikatan dengan matriks ekstraselular. Faktor pertumbuhan ini bisa didapatkan sebagai homodimer atau heterodimer dengan VEGF-A. VEGF-B diekspresikan secara kuat pada otot.
- VEGF-C dapat berikatan dengan VEGFR-2 dan VEGFR-3/Flt-4, memberi efek angiogenesis dan limfangiogenesis. 48% VEGF-C identik terhadap

VEGF-D dengan NH<sub>2</sub>- dan perpanjangan C-terminal yang mengait bagian homologi VEGF. Dengan pemeriksaan imunohistokimia, VEGF-C akan diekspresikan di dalam sitoplasma sel tumor. VEGF-C merangsang mitosis dan perpindahan sel endotel dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah. Pada dewasa, VEGF-C diekspresikan pada jantung, usus halus, plasenta, sel telur dan kelenjar tiroid.

- VEGF-D juga berikatan dengan VEGFR-2 dan VEGFR-3 dan merangsang terjadinya limfangiogenesis dan angiogenesis. VEGF-D bersifat mitogenik untuk sel endotel dan diekspresikan pada beberapa jaringan dewasa seperti endotelium pembuluh darah, jantung, otot lurik, paru dan usus.
  - VEGF-B, VEGF-C dan VEGF-D diekspresikan pada kanker payudara dengan beberapa hubungan patologik dengan penyebaran kelenjar, harapan hidup dan densitas limfatik.
- VEGF-E berikatan dengan VEGFR-2 dan merangsang terjadinya angiogenesis, merupakan molekul VEGF virus.
- Placental growth factor (PlGF).

Ada tiga reseptor VEGF yaitu<sup>29,30,33,34,35,36</sup>:

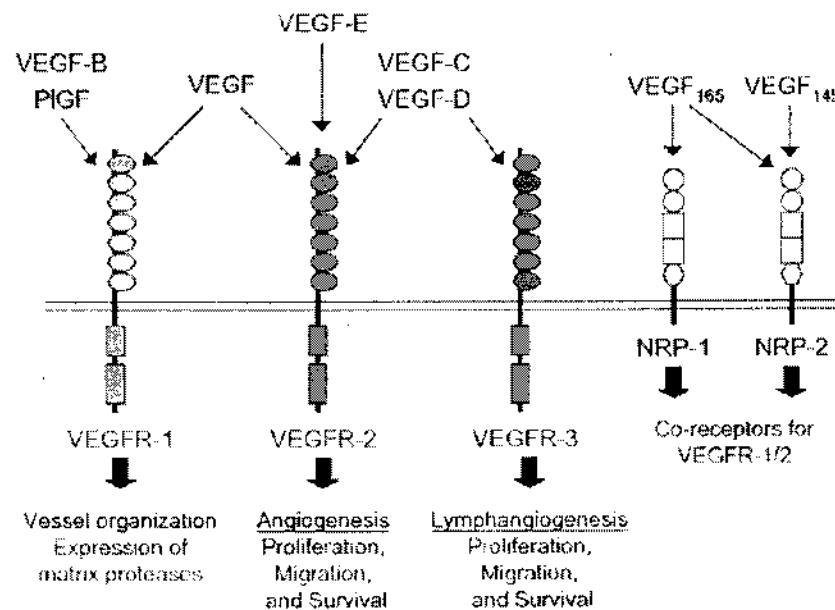
- VEGFR-1 (*Flt-1/fms-like tyrosine kinase receptor*) merupakan reseptor tirosin kinase yang pertama kali berhasil diidentifikasi. VEGFR-1 berikatan dengan VEGF-A, VEGF-B dan juga PlGF. Ekspresi VEGFR-1 akan meningkat dalam keadaan hipoksia melalui mekanisme yang tergantung pada HIF-1. VEGFR 1 mengembangkan diferensiasi dan pertahanan vaskular.
- VEGFR-2 (*KDR/kinase insert domain containing receptor*) merupakan reseptor utama yang akan merangsang pertumbuhan sel endotelial dan permeabilitas vaskular dengan mengaktifkan jalur Raf-Mek-Erk.
- VEGFR-1 dan VEGFR-2 memiliki tujuh bagian yang menyerupai Ig (*Ig-like domains*) di bagian ekstraseluler, daerah tunggal di antara membran (*single-transmembrane*) dan rangkaian tirosin kinase yang disisipi oleh bagian kinase.
- VEGFR-3 (*Flt-4/fms-like tyrosine kinase receptor*) yang pada perkembangan embrionik ada di dalam pembuluh darah tetapi menjadi



spesifik merangsang limfangiogenesis pada dewasa. VEGFR-3 merupakan reseptor tirosin kinase yang mengatur perkembangan dan pertumbuhan sistem limfatik. Pada manusia terdapat dua bentuk yang sama dari protein VEGFR-3 yaitu VEGFR-3S (*short*) dan VEGFR-3L (*long*). Perbedaan keduanya terletak pada ujung karboksil akibat dari *mRNA splicing*.

- Pengaturan tambahan melalui reseptor *isoform-specific* yaitu *neuropilin 1* dan *neuropilin 2* yang merupakan protein transmembran. Neuropilin tidak hanya berikatan dengan tiga kelas semaforin tetapi juga beberapa isoform VEGF di mana mereka berfungsi sebagai ko-reseptor nontirosin kinase, meningkatkan ikatan VEGF pada VEGFR-1 dan VEGFR2. *Neuropilin-2* diekspresikan juga pada pembuluh limfe.

Pengikatan VEGF pada reseptor merangsang homodimerisasi atau heterodimerisasi yang diikuti oleh transaktivasi bagian tirosin kinase yang akan memulai VEGF merangsang jalur sinyal transduksi seperti meningkatkan permeabilitas vaskular (meningkatkan pembentukan stroma tumor), proliferasi sel endotel, kelangsungan hidup sel endotel dan pembentukan pembuluh.

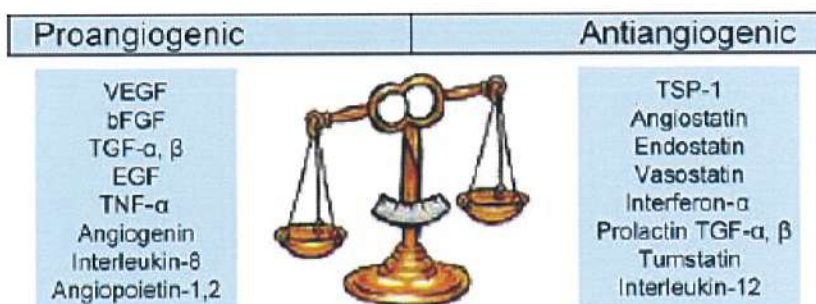


Gambar 2.4 : Interaksi antara anggota famili VEGF dan reseptor VEGF<sup>35</sup>

Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh yang telah ada. Angiogenesis pada dewasa normal sangat terbatas yaitu pada

penyembuhan luka dan reproduksi. Angiogenesis yang terus menerus bersifat patologis dan karakteristik untuk beberapa penyakit seperti *diabetes*, *psoriasis* dan *rheumatoid arthritis*. Proses angiogenesis dimulai dari penghancuran membran basal pembuluh darah, migrasi sel endotel dan invasi matriks ekstraseluler dengan proliferasi sel endotel dan pembentukan lumen kapiler sebelum terjadi pematangan dan stabilisasi pembuluh yang baru. Kemudian dibutuhkan pembatasan proliferasi endotel, rekonstruksi dari membran basal, pembentukan kompleks penyambungan dan pembentukan sel endotel ke dalam lumen baru<sup>37</sup>.

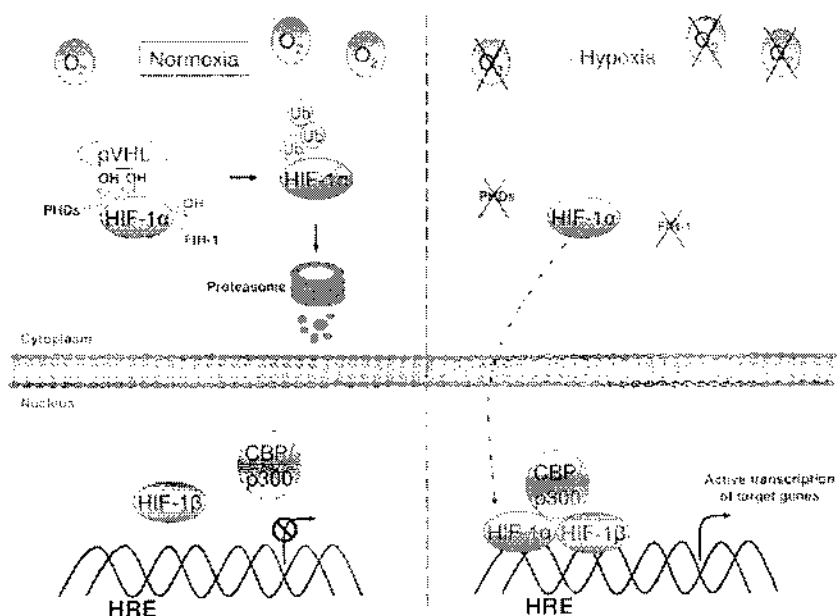
Angiogenesis diatur melalui ekspresi keseimbangan positif (faktor angiogenik) dan negatif (penghambat angiogenesis). Pertumbuhan tumor akan berhenti bila mencapai ukuran 1-2 mm<sup>3</sup>. Apabila tumor bertumbuh di luar persediaan darahnya atau kehilangan oksigen, maka gen yang bertanggung jawab terhadap hipoksia dimulai. *Hypoxia-inducible factor 1* (HIF 1) adalah suatu heterodimer dari dua protein yang berikatan dengan DNA yaitu HIF-1 $\alpha$  dan *the aryl hydrocarbon nuclear translocator* (ARNT/HIF-1 $\beta$ ). Pada keadaan normoksia, HIF-1 $\alpha$  tidak stabil dan secara cepat dihancurkan melalui proteasom tetapi bila tekanan oksigen turun di bawah 2%, HIF-1 $\alpha$  menjadi stabil, berpindah ke inti dan berinteraksi dengan HIF-1 $\beta$  untuk merekam program gen kompleks melalui *specific hypoxia response elements* (HRES)<sup>6,29,30,34,38</sup>.



Gambar 2.5 : Keseimbangan faktor proangiogenik dan antiangiogenik<sup>34</sup>

Pada keadaan normoksia, di mana HIF-1 $\alpha$  terletak di dalam sitoplasma sel dan HIF-1 $\beta$  terletak di dalam inti, tiga prolin hidrosilase (prolyl hydroxylase-1,-2 dan -3) menghidrosilasi HIF-1 $\alpha$  pada dua residu prolin di domain penghancuran yang memerlukan oksigen sebagai kofaktor (*oxygen-dependent degradation domain*) seperti juga 2-oxoglutarate dari siklus Krebs, vitamin C dan Fe<sup>2+</sup>, yang

memimpin pada pengenalan dan pengikatan domain  $\alpha$  oleh protein von Hippel-Lindau, sebuah protein ligase yang ada di mana-mana yang menargetkan HIF-1 $\alpha$  untuk dihancurkan di dalam proteasom. Pada keadaan normoksia, peningkatan HIF-1 $\alpha$  dapat terjadi pada fungsi biologis seperti defisiensi glukosa dan aktivasi onkogen. Pada keadaan hipoksia, molekul oksigen tidak mungkin untuk hidroksilasi yang menghasilkan stabilitas HIF-1 $\alpha$  dan pindah ke inti, untuk berikatan dengan HIF-1 $\beta$  dan elemen yang bertanggung jawab terhadap hipoksia pada promoter gen. Ko-aktivator dan polimerase diambil dan aktivitas transkripsi dari beberapa jalur gen yang terlibat dalam angiogenesis, glikolisis, eritropoiesis dan apoptosis terjadi<sup>29,30,35,37,38,39</sup>.



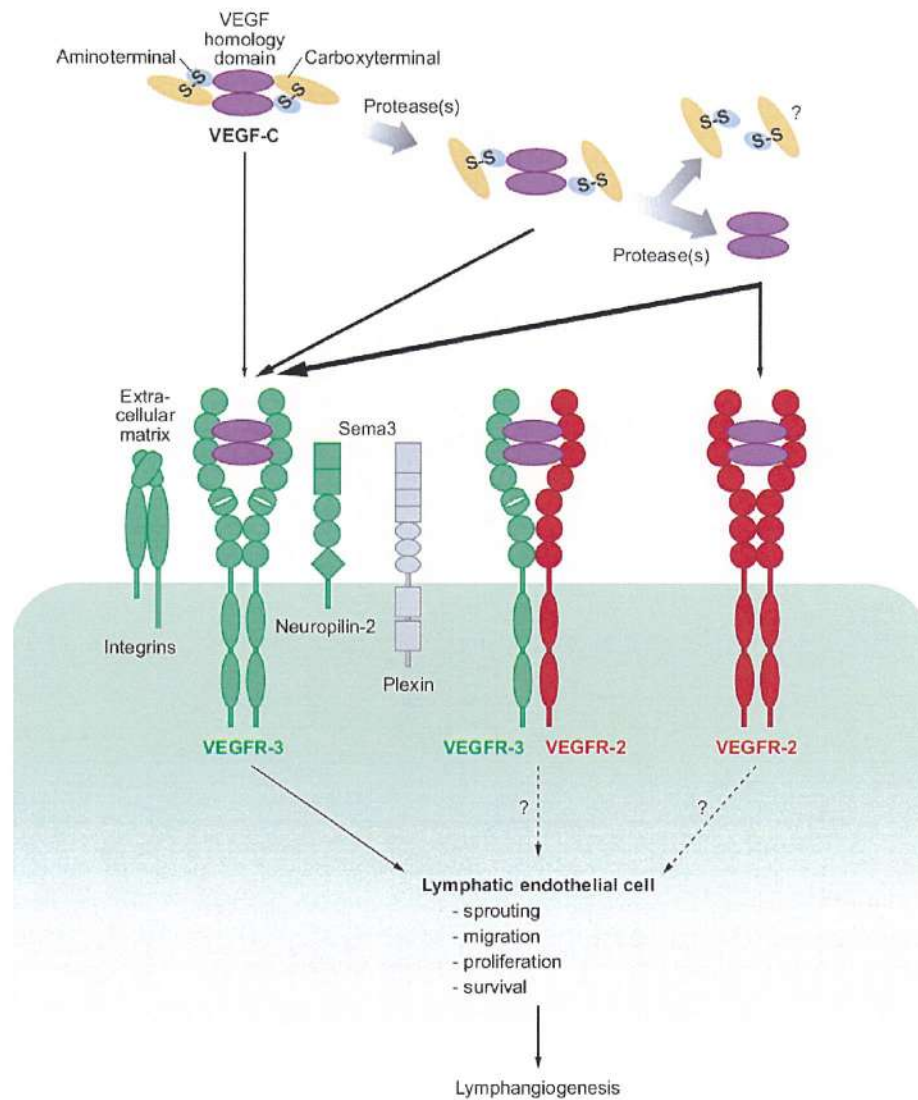
Gambar 2.6 : Pengaturan HIF- $\alpha$  selama keadaan normoksia dan hipoksia<sup>39</sup>

Pada kanker payudara, frekuensi sel dengan HIF-1 $\alpha$  positif meningkat seiring dengan peningkatan stadium dan berhubungan dengan densitas pembuluh darah, agresifitas tumor dan harapan hidup yang buruk. Ada dua bentuk lain dari HIF-1 $\alpha$  yaitu HIF-2 $\alpha$  dan HIF-3 $\alpha$ . HIF-2 $\alpha$  diekspresikan lebih tinggi di dalam sel stroma seperti makrofag, membuktikan bahwa HIF-2 $\alpha$  mengaktifkan gen hipoksia yang berbeda. Pada kanker payudara diekspresikan pada sel tumor dan *tumor-associated macrophages* (TAMs)<sup>29,37,38</sup>. HIF-1 $\alpha$  secara langsung mengaktifkan transkripsi VEGF dan VEGFR-1 dengan pengikatan pada HRE dan memegang

peran penting selama perkembangan normal dan pembentukan tumor. Penelitian secara histologi menunjukkan adanya hubungan antara peningkatan ekspresi HIF-1 $\alpha$  dan VEGF dengan makin agresif dan ganasnya tumor<sup>30</sup>.

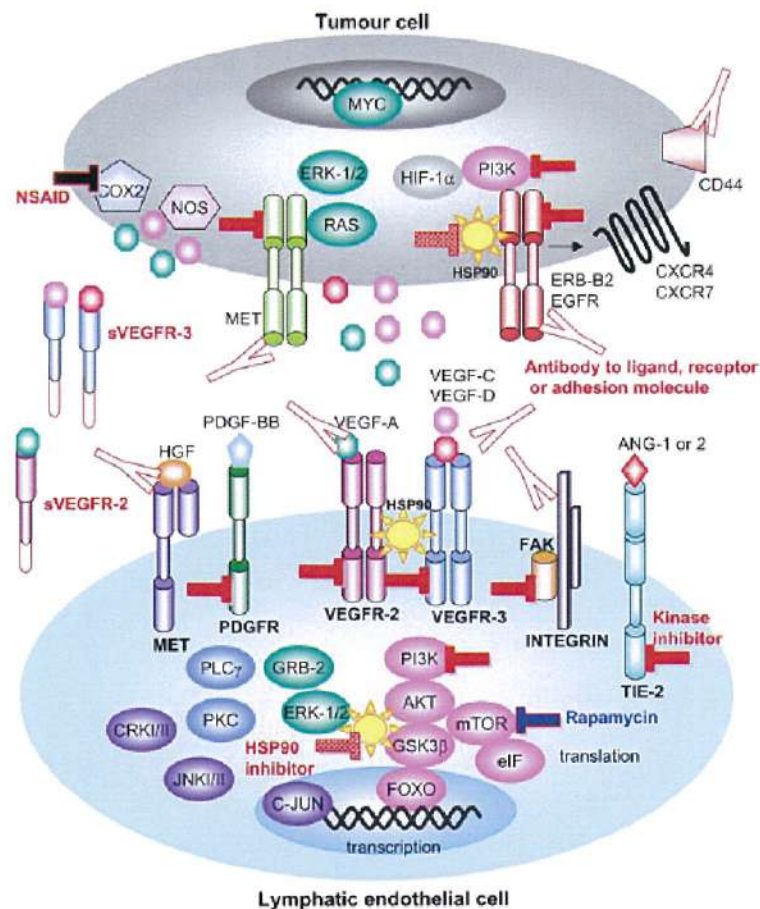
Faktor angiogenik yang diteliti adalah VEGF, yang secara kuat dirangsang oleh HIF-1 $\alpha$  melalui HREs pada akhir 5' dan 3' dari gen. Beberapa onkogen juga mengaktifkan transkripsi dari VEGF dan secara terpisah meningkatkan fungsi atau ekspresi dari HIF-1 $\alpha$ <sup>28</sup>. Banyak penelitian yang membuktikan adanya hubungan antara HIF-1 $\alpha$  dengan ekspresi gen VEGF pada keganasan di otak dan payudara<sup>30,35</sup>.

Awal dari VEGF-C adalah sepasang homodimer kovalen antiparalel yang diikat oleh ikatan disulfida (S-S) antara propeptida terminal amino dan karboksi. Propeptida secara proteolitik bergerak dalam berbagai tahap yang meningkatkan afinitas VEGF-C terhadap VEGFR-3 dan menuju kematangan, dimer nonkovalen dengan kemampuannya berikatan dengan VEGFR-2. Tidak diketahui lagi bagaimana keberadaan propeptida terminal amino dan karboksi tersebut. Sinyal VEGF-C melalui VEGFR-3 diatur oleh beberapa koreseptor, termasuk *neuropilin-2* dan *integrin  $\beta 1$* . Aktifitas molekul sinyal di bawahnya meliputi penyebaran sel endotel, migrasi, proliferasi dan kelangsungan hidup menuju pada pembentukan pembuluh limfe baru<sup>36</sup>.



Gambar 2.7 : Proses proteolitik, spesifisitas pengikatan reseptor dan efek biologis dari VEGF-C<sup>36</sup>

VEGF-C diproduksi oleh sel tumor dan beberapa sel host. Sekresi parakrin dari peptida ini merangsang limfangiogenesis yang dihubungkan dengan penyebaran ke kelenjar getah bening regional<sup>40,41</sup>.



Gambar 2.8 : Jalur sinyal pada limfangiogenesis<sup>41</sup>.

Penilaian ekspresi VEGF-C dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti tehnik imunohistokimia, *in situ hybridization*, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*)<sup>28,33,42,43,44</sup>.

Pemulasan VEGF yang positif secara imunohistokimia tidak berhubungan dengan status reseptor hormonal, jumlah kelenjar getah bening yang positif, pentahapan, ukuran tumor, kejadian kekambuhan atau kematian. Pemulasan VEGF yang positif secara bermakna berhubungan dengan ekspresi yang berlebihan dari HER-2, seperti diketahui bahwa HER-2 meningkatkan VEGF pada galur sel manusia<sup>26</sup>. Dengan jumlah kasus yang lebih kecil, Kinoshita J, dkk<sup>43</sup> menemukan bahwa ekspresi berlebih dari VEGF-C terdapat pada 39 (39,8%) dari 98 kasus kanker payudara dan berhubungan bermakna dengan invasi ke kelenjar limfe. Schoppmann SF, dkk<sup>38</sup> menemukan adanya hubungan bermakna antara HIF-1 $\alpha$  dengan ekspresi VEGF-C pada 119 kasus kanker

payudara invasif dengan NI. Gu Y, dkk<sup>44</sup> menemukan bahwa VEGF-C dan VEGF-D memegang peran penting terjadinya limfangiogenesis dan menyebabkan kanker payudara lebih agresif disertai prognosis lebih buruk.

### 2.3 VEGF, kelenjar getah bening ketiak dan kanker payudara

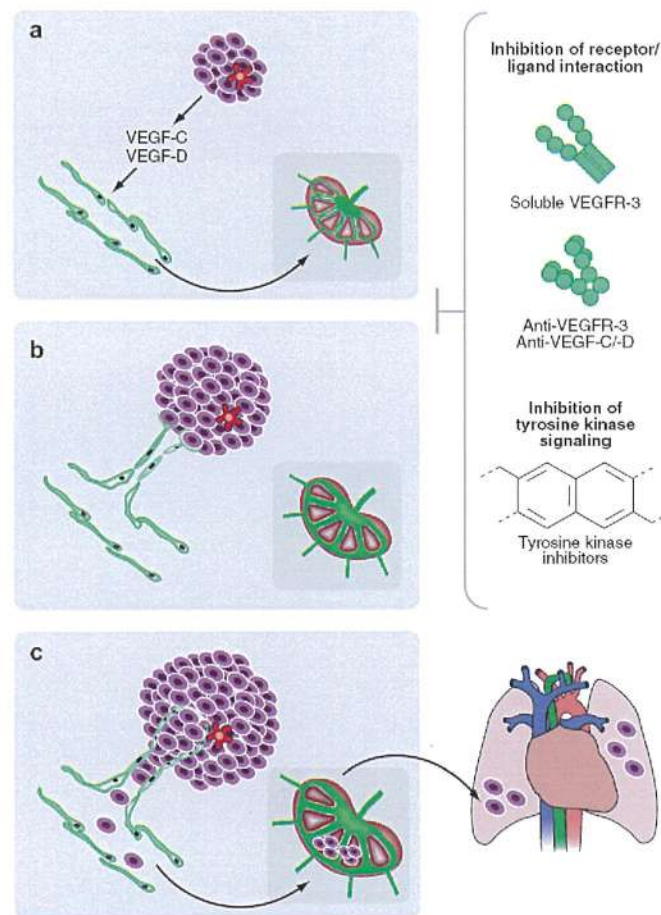
Faktor prognosis merupakan pengukuran yang menggunakan waktu saat diagnosis atau pembedahan dihubungkan dengan hasil (harapan hidup secara keseluruhan/*overall survival*, waktu bebas penyakit/*disease free survival* atau kontrol lokal). Faktor prognosis klasik untuk kanker payudara adalah demografi, klinis, patologi, biologi dan karakteristik molekular yang dihubungkan dengan kekambuhan dan harapan hidup. Penyebaran sel kanker ke kelenjar getah bening setempat merupakan langkah awal progresi tumor padat dan salah satu faktor prognosis penting untuk kanker payudara yang dapat memberi informasi penting untuk stadium. Kelenjar sentinel adalah kelenjar getah bening pertama di dalam sistem limfatik yang menerima aliran limfe dari tumor primer dan kemungkinan akan menerima sel metastatik pertama kali. Status kelenjar getah bening ketiak, besarnya tumor dan derajat keganasan memberikan nilai prognosis bagi pasien dengan kanker payudara yang dioperasi<sup>26,31,41,45</sup>.

Ekspresi berlebih dari HER-2/neu dapat memprediksi penyebaran ke kelenjar getah bening pertama yang dilewati (*sentinel node*). Karena ekspresi berlebih dari HER-2/neu berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF-C dan VEGF-C merupakan faktor yang menginduksi terjadinya limfangiogenesis, maka peningkatan VEGF-C berhubungan dengan penyebaran ke sentinel node. Penelitian lain membuktikan bahwa ekspresi berlebih dari HER-2/neu dihubungkan dengan banyaknya kelenjar getah bening yang positif. Pengangkatan kelenjar getah bening ketiak (*axillary lymph node dissection/ALND*) membuat ahli patologi dapat menghitung jumlah kelenjar getah bening untuk analisa secara histopatologi. Sekarang ini pemeriksaan ekspresi HER-2/neu pada kanker payudara sudah rutin dilakukan karena relatif sederhana dan dapat menilai onkogen ini sebagai nilai prognostik dan dapat memperkirakan respon terhadap terapi sistemik. Pasien dengan ekspresi HER-2/neu disertai kelenjar getah bening

yang positif mempunyai prognosis buruk dibandingkan dengan HER-2/neu negatif disertai kelenjar getah bening yang positif. Dapat disimpulkan bahwa ekspresi berlebih dari HER-2/neu berhubungan dengan subtype kanker payudara yang lebih agresif. Karena peningkatan HER-2/neu dihubungkan dengan prognosis buruk pada kanker payudara, maka kemungkinan merupakan langkah untuk terjadinya penyebaran secara hematogen. Ekspresi berlebih dari HER-2/neu berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF-C<sup>40</sup>.

VEGF 121-206 terekspresi secara berlebih pada 77,2% pasien dengan ekspresi yang berlebih dari HER-2/neu dibanding dengan 54,5% pasien tanpa ekspresi berlebih dari HER-2/neu. Ekspresi berlebih dari HER-2/neu berhubungan dengan ekspresi berlebih dari VEGF 165-206 pada 87,7% pasien dibanding dengan 71,0% tanpa ekspresi berlebih dari HER-2/neu. Ekspresi berlebih dari VEGF sendiri atau kombinasi dengan HER-2/neu berhubungan dengan penurunan harapan hidup dan bebas dari kekambuhan<sup>38,46,47</sup>. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pada beberapa jenis tumor padat manusia, ekspresi berlebih dari VEGF-C berhubungan secara positif dengan ekspresi dan invasi limfatik, kelenjar getah bening dan penyebaran jauh<sup>36,48</sup>.



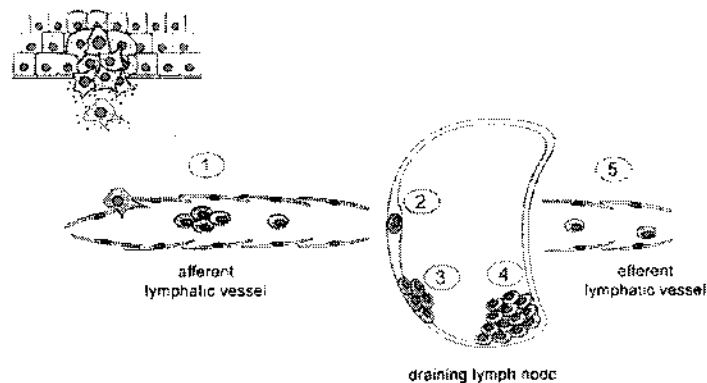


Gambar 2.9 : Limfangiogenesis merangsang penyebaran tumor secara limfatik<sup>36</sup>

Walaupun penyebaran ke organ yang jauh terjadi melalui sirkulasi darah, diperlukan penyebaran awal sel tumor melalui pembuluh limfe ke kelenjar getah bening. Dari tempat ini mereka akan menyebar lebih jauh melalui sistem limfatik ke dalam sirkulasi vena di mana mereka akan berakhir di pembuluh kapiler paru atau langsung melalui pembuluh darah<sup>49</sup>. Hal ini didukung oleh penelitian pada kanker kulit yang disebabkan oleh zat kimia, VEGF-C meningkatkan penyebaran tumor tidak hanya di kelenjar getah bening sentinel tapi juga di organ yang jauh. Yang lebih penting lagi, tidak ada penyebaran di organ yang jauh tanpa adanya penyebaran ke kelenjar getah bening<sup>36</sup>. Sistem limfatik merupakan jalur yang amat baik untuk penyebaran sel-sel ganas karena diameter lumen limfatik awal lebih besar dari kapiler darah dan mempunyai membran basal yang tidak sempurna. Aliran limfe juga lebih lambat daripada aliran darah dan mempunyai konsistensi yang sama dengan cairan interstitial<sup>31</sup>.

Ada tiga langkah yang relevan dalam penyebaran limfatik, yaitu: limfangiogenesis, invasi limfatik dan penyebaran ke kelenjar getah bening. Peningkatan ekspresi VEGF-C dihubungkan dengan peningkatan densitas pembuluh limfe, penyebaran ke kelenjar getah bening dan penurunan harapan hidup pasien. Pada pasien dengan kanker payudara invasif terdapat hubungan antara ekspresi VEGF-C dan densitas dari pembuluh limfe. Invasi limfatik dan vaskular merupakan tanda prognosis yang buruk, sehingga tidak dibedakan apakah penyebaran vaskular atau limfatik dan disebut sebagai invasi limfovaskular. Sebagai ilustrasi ada lima langkah selama proses penyebaran limfatik<sup>50</sup>:

1. Sel tumor keluar dan pindah ke dalam limfatik (invasi limfatik).
2. Terperangkap di dalam aliran kelenjar getah bening
3. Pembentukan penyebaran mikrometastasis di dalam kelenjar getah bening
4. Pembentukan penyebaran makrometastasis di dalam kelenjar getah bening
5. Penyebaran lebih lanjut ke aliran selanjutnya di pembuluh limfatik dan kelenjar getah bening



Gambar 2.10 : Proses penyebaran limfatik<sup>50</sup>

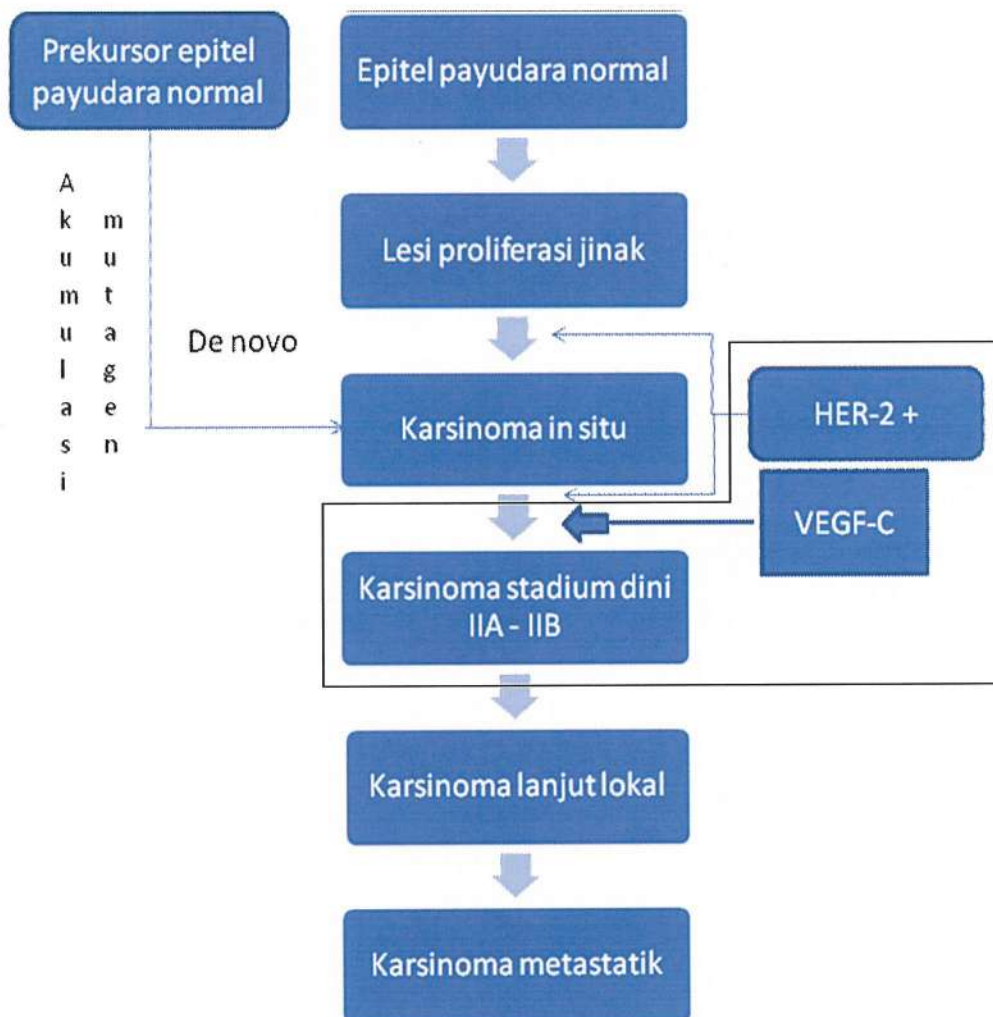
Ada beberapa faktor lain yang diketahui mempengaruhi terjadinya metastasis di mana ada dua kategori gen yang terlibat di dalamnya yaitu gen yang mengaktifkan penyebaran dan gen yang menekan terjadinya penyebaran.<sup>51</sup>

## BAB 3

### METODOLOGI

#### 3.1 Kerangka konsep

Penyebaran kanker payudara pada awalnya terjadi melalui sistem limfatik dan adanya ekspresi berlebih dari VEGF-C pada sel kanker payudara meningkatkan limfangiogenesis di dalam tumor. Hal ini akan meningkatkan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dan pada akhirnya ke organ yang jauh<sup>49</sup>.



#### 3.2 Desain penelitian

Desain penelitian adalah studi retrospektif pada penderita kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif.

### 3.3 Tempat dan waktu

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Kanker Dharmais, Departemen Patologi Anatomi sejak bulan November 2008 sampai Juni 2009.

### 3.3 Populasi dan sampel

Populasi penelitian adalah sampel jaringan blok parafin dari penderita kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif yang datang ke Rumah Sakit Kanker Dharmais. Subyek penelitian adalah sampel jaringan blok parafin yang diambil antara tahun 1999 sampai 2009 dan memenuhi kriteria inklusi.

### 3.4 Kriteria inklusi

#### Kriteria inklusi

1. Sampel jaringan dari pasien yang telah didiagnosa sebagai kanker payudara dan dilakukan pengambilan jaringan payudara disertai kelenjar getah bening ketiak (*axillary lymph node dissection/ALND*)
2. Hasil histopatologi ditemukan kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dan jumlah 10 kelenjar getah bening ketiak.

#### Kriteria eksklusi

1. Pasien atau keluarganya menolak untuk menandatangani lembaran *informed consent*.
2. Keadaan spesimen yang terdapat dalam arsip tidak memenuhi syarat untuk pemeriksaan imunohistokimia

### 3.5 Besar sampel

Besarnya sampel dihitung dengan rumus uji hipotesis satu proporsi:

$$n = \frac{Z^2 \alpha p q}{d^2}$$

n = total besar sampel

$\alpha$  = tingkat kemaknaan 1-5% (pada umumnya 5%)  $\rightarrow Z_{0,975} = 1,96$

$p$  = perkiraan perbandingan (dari literatur: 50%)

$q = 1-p = 1 - 0,5 = 0,5$

$d$  = presisi untuk menentukan nilai  $p$  (ditentukan 10%)

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,5 \times 0,5}{0,1^2} = 96,04$$

Jumlah sampel yang diambil untuk pemeriksaan VEGF-C adalah 96 sampel.

### 3.6 Cara kerja

#### 3.6.1 Rekrutmen subyek penelitian

Sampel jaringan blok parafin dari penderita kanker payudara stadium II didapatkan dari meneliti arsip hasil Patologi Anatomi di Departemen Patologi Anatomi dan Litbang Rumah Sakit Dharmais. Pasien/keluarga pasien dengan hasil Patologi Anatomi yang memenuhi syarat dihubungi untuk diminta kesediaannya menandatangani *informed consent*. Dari nomer Patologi Anatomi yang memenuhi syarat dicari sediaan slide HE untuk diperiksa ulang oleh seorang dokter spesialis PA dan ditentukan nomor blok parafin yang akan digunakan untuk penelitian selanjutnya.

#### 3.6.2 Bahan

Bahan penelitian adalah spesimen blok parafin pasien kanker payudara stadium II yang menjalani operasi pengangkatan jaringan payudara disertai kelenjar getah bening ketiak (*axillary lymph node dissection/ALND*) di Rumah Sakit Dharmais dan disimpan di Departemen Patologi Anatomi Rumah Sakit Kanker Dharmais.

#### 3.6.3 Metode pemeriksaan

Penilaian pola ekspresi protein VEGF dilakukan secara imunohistokimia dengan metode *avidin-biotin peroxidase complex* (ABC). Prosedur imunohistokimia dan skoring VEGF-C pada penelitian ini mengikuti teknik yang dilaporkan sebelumnya oleh Kostopoulos I, dkk<sup>26</sup>.

Prosedur laboratorium:

Persiapan jaringan untuk imunohistokimia:

1. Blok parafin dipotong dengan ketebalan 2 $\mu$ m.
2. Direkatkan pada gelas objek yang telah dilapisi dengan *poly-L-lysine*.
3. Gelas objek dikeringkan semalaman pada suhu 37°C.

*Pre-treatment:*

4. Jaringan di-deparafinisasi dengan xylol 3x5 menit dan alkohol serial dengan konsentrasi menurun (absolut, 96%, 80%, 70%) masing-masing 5 menit.
5. Bilas dengan air suling selama 3 menit.
6. Dilakukan *blocking* peroksidase endogen dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,5% dalam metanol selama 30 menit.
7. Cuci dengan air mengalir selama 1 menit dan cuci beberapa kali dengan *aqua bidestilata*.
8. Sediaan disusun dalam rak tahan panas yang diisi 10 mM larutan penyangga TE (Tris Edta) pH 9,0 dan dipanaskan (*pre-treated*) di dalam *decloaking chamber* hingga mencapai suhu 125°C, kemudian secara bertahap suhu akan turun sendiri hingga mencapai suhu 90°C.
9. Dibiarkan sampai dingin.
10. Area jaringan yang akan diperiksa ditandai pada gelas objek dengan "PAP pen" (Dakopatts).
11. Direndam dalam PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit.
12. Dilakukan *blocking* dengan *normal horse serum* (NHS) 3% selama 20 menit.

## Pulasan imunohistokimia:

13. Inkubasi dengan antibodi primer monoklonal tikus anti-VEGF (C-1): sc-7269 (Santa Cruz Biotechnology, Inc) dengan pengenceran 1:500 selama satu malam di dalam *moist chamber*.
14. Cuci dengan PBS dengan pH 7,4 selama 2x5 menit.
15. Inkubasi dengan antibodi sekunder *biotinylated rabbit anti-goat IgG* selama 30 menit di dalam *moist chamber*.
16. Cuci dengan PBS dengan pH 7,4 selama 2x5 menit.
17. Inkubasi gelas objek dengan kompleks *streptavidin/peroksidase* selama 30 menit.
18. Cuci dengan PBS dengan pH 7,4 selama 2x5 menit.

19. Inkubasi slide dengan *diaminobenzidine* (DAB) selama 5 menit yang berfungsi sebagai chromogen untuk memunculkan kompleks antigen-antibodi.
20. Cuci dengan air mengalir selama 10 menit.
21. *Counterstain* dengan hematoksilin.
22. Cuci dengan air mengalir.
23. Masukkan ke dalam *Lithium Carbonat* jenuh (5% dalam aquades).
24. Birukan dalam air mengalir.
25. Dehidrasi dengan alkohol serial (70%, 80%, 96%, absolut) masing-masing 5 menit.
26. *Clearing* dengan xylol 2x5 menit.
27. *Mounting* – tutup dengan kaca penutup.

**Pembacaan hasil pulasan:**

Hasil positif adalah sel-sel tumor yang terwarnai coklat di bagian sitoplasma. Inti sel tumor berwarna biru.

**Cara perhitungan:**

Untuk menjaga kesahihan prosedur pulasan, maka setiap kali melakukan pemulasan disertakan dua *slide* kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif adalah jaringan kanker payudara. Kontrol negatif pada pulasan adalah sama dengan jaringan sampel namun tidak ditetesi antibodi primer.

**Penghitungan skor:**

Pulasan imunohistokimia VEGF-C dinilai dengan mikroskop cahaya. Kasus positif dihitung secara semikuantitatif berdasarkan persentase sel tumor yang terpulas dan intensitas warna pulasannya.

Perhitungan persentase sel tumor yang terpulas dalam 5 lapang pandang besar:

- ❖ 0 = 0%
- ❖ 1 = 25%
- ❖ 2 = 26-50%
- ❖ 3 = > 50%

Intensitas pemulasan menggunakan sistem sebagai berikut:

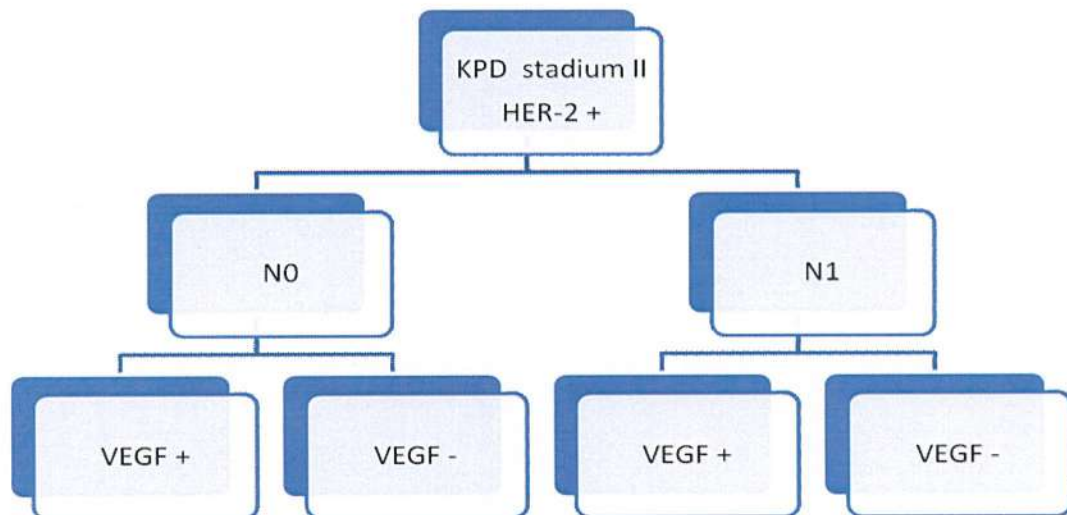
- ❖ 0 = negatif
- ❖ 1 = lemah
- ❖ 2 = menengah
- ❖ 3 = kuat

Penilaian positivitas menggabungkan antara intensitas pemulasan dan persentase sel yang positif dengan nilai maksimum 6:

- ❖ Nilai 0 – 3 = negatif atau ekspresi lemah
- ❖ Nilai 4 – 6 = positif

Cara penilaian ini digunakan oleh Kostopoulos I, dkk<sup>26</sup> pada penelitian yang bertujuan untuk mengevaluasi nilai prognostik dari HER-2 dan VEGF pada pasien kanker payudara studi random dengan kemoterapi ajuvan.

### 3.7 Alur penelitian



### 3.8 Manajemen dan analisis data

Hasil penelitian akan dikelola sebagai berikut:

- a. Data deskriptif akan ditampilkan untuk melihat karakteristik penderita dan semua variabel yang diteliti dan disajikan dalam bentuk tabular dan tekstular.



- b. Dibuat perbandingan proporsi ekspresi VEGF-C pada kelompok N1 dan N0 dengan uji *Chi-square* dengan nilai *p* yang dianggap bermakna adalah kurang dari 0,05.
- c. Analisa data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS ver. 11,5 *for windows*.

### 3.9 Definisi operasional

- a. Usia: adalah umur saat diagnosis yang dihitung dari tanggal lahir pasien. Jika umur kurang dari enam bulan sejak ulang tahun terakhir, usia dibulatkan ke bawah. Jika umur enam bulan atau lebih sejak ulang tahun terakhir, maka usia dibulatkan ke atas.
- b. Metastasis ke kelenjar getah bening aksila (N): penyebaran sel tumor ke kelenjar getah bening regional berdasarkan *pTNM Pathological Classification*; pN0 bila tidak ada penyebaran ke kelenjar getah bening regional dan pN1 bila penyebaran ke 1-3 kelenjar getah bening ketiak pada sisi yang sama dan atau ke kelenjar mamaria interna dengan penyebaran yang dapat dideteksi secara mikroskop dengan pengangkatan kelenjar limfe sentinel tapi belum tampak secara klinis.
- c. *Grade* tumor: derajat diferensiasi tumor dan dikelompokkan sebagai grade I, II dan III.

### 3.10 Etika penelitian

Penelitian ini tidak mengandung unsur intervensi kepada penderita yang tunduk kepada Deklarasi Helsinki. Namun, pada setiap analisis genetik perlu ada persetujuan tertulis (*informed consent*) dari penderita atau keluarganya. Kepada penderita dan/ atau keluarganya diberikan penjelasan tentang maksud dan tujuan penelitian serta manfaat yang diharapkan dari penelitian ini. Setelah memahami dengan jelas, penderita atau keluarganya diminta menandatangani surat persetujuan jika tidak berkeberatan untuk diikutsertakan dalam penelitian. Kaji etik dan keterangan lolos kaji etik telah diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Rumah Sakit Kanker Dharmais dengan surat keputusan no. 12/PEP/11/2008.

## BAB 4

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1 Karakteristik subyek penelitian

Pengumpulan subyek penelitian dimulai dari penelusuran data penderita kanker payudara di Bagian Litbang/Registrasi Kanker RS Kanker Dharmais dilanjutkan dengan membuka rekam medis semua penderita kanker payudara untuk melihat stadium dan hasil pemeriksaan HER-2. Dari 500 rekam medis yang berhasil diteliti, ternyata hanya sebagian kecil yang mencantumkan stadium disertai hasil Patologi Anatomi yang lengkap sehingga penelusuran data penderita kanker payudara stadium 2 (berdasarkan hasil Patologi Anatomi) dengan HER-2 positif dialihkan dengan mencari langsung di arsip hasil Patologi Anatomi, baik yang ada di Bagian Litbang/Registrasi Kanker maupun Bagian Patologi Anatomi RS Kanker Dharmais. Dari data pasien tahun 1999 hingga Desember 2008 didapatkan sebanyak 84 sampel yang memenuhi kriteria inklusi, tapi beberapa di antaranya tidak ditemukan blok parafinnya sehingga penelusuran data diteruskan hingga 2009. Sebelum tahun 2002 pemeriksaan HER-2 belum termasuk pemeriksaan yang rutin dilakukan di RS Kanker Dharmais sehingga banyak pasien stadium II hanya disertai data pemeriksaan ER dan PR saja tanpa adanya pemeriksaan HER-2 sehingga diputuskan untuk melakukan pemeriksaan HER-2 pada beberapa pasien stadium II tersebut yang ditemukan blok parafinnya. Dari 31 sampel stadium II yang dikumpulkan tahun 1999 – 2003 hanya 13 sampel yang diperiksa HER-2 nya karena yang lainnya tidak ditemukan blok parafinnya dan didapatkan 5 sampel dengan HER-2 +3. 4 sampel tahun 2001 – 2002 diperiksa ulang HER-2 nya untuk memastikan bahwa HER-2 sampel-sampel tersebut adalah +3. Dari 100 sampel yang diperiksa hingga Mei 2009 didapatkan sebanyak 95 sampel yang memenuhi syarat untuk dianalisa lebih jauh.

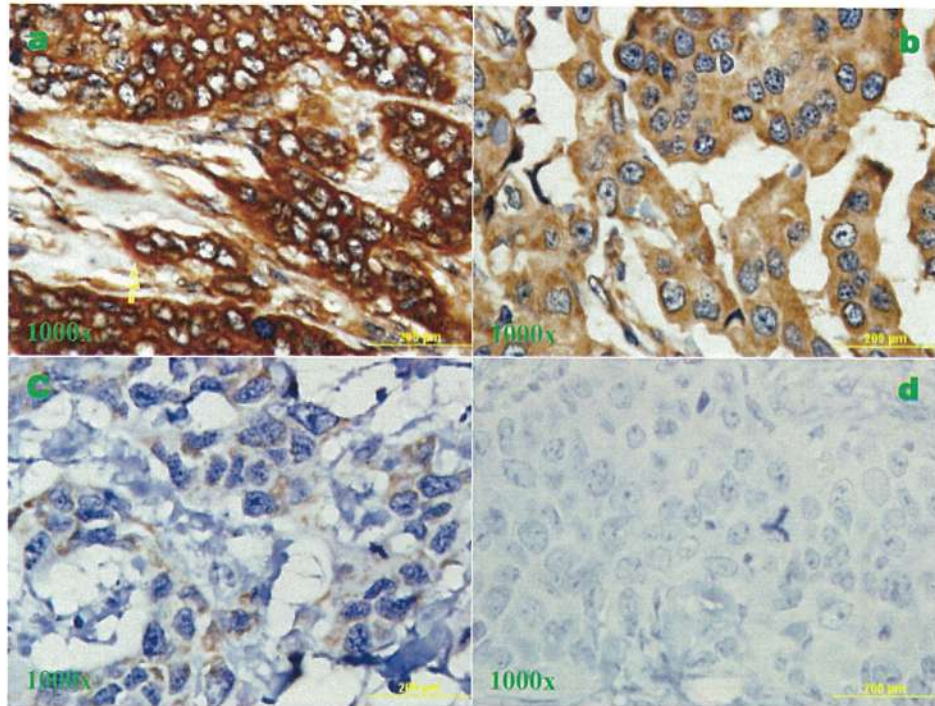
Tabel 4.1 Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik	Jumlah	Persentase
<b>Umur (tahun)</b>		
Rata-rata	49,11 (SD 9,82)	
♦ ≤ 35	9	9,47
♦ 36 – 45	23	24,21
♦ 46 – 55	41	43,16
♦ ≥ 56	22	23,16
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>
<b>Tipe histologi</b>		
♦ Duktal Invasif	88	92,63
♦ Non Duktal Invasif	7	7,37
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>
<b>Penyebaran ke kelenjar getah bening</b>		
♦ N0	61	64,21
♦ N1	34	35,79
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>
<b>Derajat histologi</b>		
♦ Diferensiasi baik	20	21,05
♦ Diferensiasi sedang	24	25,26
♦ Diferensiasi buruk	51	53,68
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>

#### 4.2 Hasil pulasan imunohistokimia VEGF-C



Gambar 4.1 : Spesimen blok parafin dan slide pulasan imunohistokimia



Gambar 4.2 : Hasil pulasan imunohistokimia dengan pembesaran 1000x

- a. sampel 08-2871 dengan intensitas warna +3
- b. sampel 04-0671 dengan intensitas warna +2
- c. sampel 08-2103 dengan intensitas warna +1
- d. kontrol negatif.

#### 4.3 Analisis tabulasi silang ekspresi VEGF-C dan ada tidaknya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak

Tabel 4.2 : Hubungan VEGF-C dengan kelenjar getah bening (KGB)

KGB	VEGF		Total
	+	-	
N1	34	0	34
N0	56	5	61
Total	90	5	95

$$X^2 = 2,942, p = 0,086$$

Hasil nilai Kai kuadrat pada uji tabulasi silang adalah 2,942 dengan nilai  $p = 0,086$  dengan catatan bahwa ada sel dengan jumlah/nilai kurang dari 5.

## BAB 5

### PEMBAHASAN

#### 5.1 Demografi

Penelitian pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II berhasil dilakukan pada 95 sampel blok parafin yang ada di Departemen Patologi Anatomi RS Kanker Dharmais. Semula direncanakan penelitian dilakukan hanya pada sampel blok parafin yang disimpan sejak tahun 2005 hingga tahun 2007 saja. Pada penelusuran yang dilakukan baik melalui data rekam medis dan kemudian dilanjutkan dengan penelusuran arsip hasil PA, maka diputuskan penelusuran dilanjutkan ke tahun-tahun sebelum 2005 karena jumlah sampel selama 2005 – 2007 belum mencukupi. Dari 500 kasus payudara yang ditelusuri pada awalnya terdapat 220 (44%) kasus dengan HER-2 positif dan hanya 41 (18,64%) dari 220 kasus dengan stadium II, 16 kasus di luar stadium II, sisanya tidak mencantumkan stadium. Penelusuran sampel blok parafin dilakukan dengan membaca ulang slide HE untuk menentukan blok parafin mana yang mengandung massa tumor tanpa adanya daerah yang nekrosis. Penilaian HER-2 dilihat dari hasil PA dan dipilih HER-2 dengan nilai +3. Penelusuran blok parafin sebelum tahun 2000 mendapatkan kendala berupa blok parafin yang sudah semakin tidak representatif untuk dilakukan pulasan imunohistokimia dan sulitnya menemukan blok parafin yang diinginkan, di samping tentu saja sampel sebelum tahun 2000 belum dilakukan pemeriksaan HER-2. Karena itu, maka diputuskan penelusuran kasus dilanjutkan ke tahun 2009 dengan perkiraan blok parafin pasti baik kondisinya, mudah ditemukan dan pemeriksaan HER-2 sudah dilakukan.

Usia termuda subyek penelitian adalah 27 tahun, tertua 70 tahun dengan usia rata-rata 49,11 tahun (SD 9,82) dan kelompok usia 46 – 55 tahun merupakan jumlah yang terbanyak (43,16%).

Jenis kanker payudara duktal invasif merupakan jenis terbanyak pada 88 dari 95 sampel penelitian (92,63%). Ikeda T<sup>19</sup> melaporkan bahwa kanker payudara duktal invasif merupakan 85% dari seluruh kanker payudara dan kemungkinan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak 15% walaupun ukuran tumor kurang dari 1 cm dan 26% bila ukuran tumor antara 1,1 - 2 cm.

## 5.2 Hubungan ekspresi VEGF-C dengan HER-2

Penelitian dilakukan pada sampel dengan HER-2 positif berdasarkan kepustakaan yang mengemukakan bahwa ekspresi berlebih dari HER-2 akan meningkatkan ekspresi VEGF-C. Pada penelitian ini ditemukan ekspresi VEGF-C pada 90 dari 95 sampel (94,74%). Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nathanson SD MD, dkk<sup>40</sup>, Konecny GE, dkk<sup>46</sup> dan Blackwell KL, dkk<sup>47</sup>. Mereka melaporkan bahwa ekspresi berlebih dari HER-2/neu berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada sel-sel kanker payudara, tapi tidak berhubungan dengan kelenjar getah bening ketiak yang positif. Konecny GE, dkk<sup>50</sup> menunjukkan bahwa VEGF merupakan target selanjutnya dari jalur sinyal HER-2/neu, tapi bagaimana mekanisme sesungguhnya hingga kini belum jelas diketahui.

Untuk mengetahui apakah ekspresi berlebih dari HER-2 dan VEGF dapat mempunyai nilai prognosis, maka Kostopoulos I, dkk<sup>26</sup> melakukan penelitian pada tiga kelompok: kelompok risiko rendah dengan tidak adanya ekspresi berlebih dari HER-2 dan pewarnaan VEGF negative, kelompok risiko menengah dengan ekspresi berlebih dari HER-2 atau pewarnaan VEGF positif dan kelompok risiko tinggi dengan ekspresi berlebih dari HER-2 dan pewarnaan VEGF yang positif. Hasil penelitian yang dilakukan pada 394 pasien menemukan bahwa ekspresi tinggi dari VEGF terdapat pada 72% kanker payudara, ini sesuai dengan hasil penelitian ini. Ekspresi berlebih dari HER-2 ditemukan pada 31%. Rata-rata ekspresi berlebih dari HER-2 lebih tinggi secara bermakna pada pasien dengan pewarnaan VEGF positif (35% dibandingkan dengan 21%,  $p=0,02$ ). Pewarnaan VEGF yang positif tidak ada hubungannya dengan status reseptor, jumlah kelenjar getah bening yang positif, grade, ukuran tumor maupun insiden kekambuhan atau kematian. Walaupun pada penelitian ini tidak dianalisa lebih lanjut mengenai angka kekambuhan dan harapan hidup tapi peneliti mendapatkan beberapa pasien telah meninggal dunia dalam waktu kurang dari 3 tahun. Ini menimbulkan berbagai pertanyaan antara lain faktor apa saja yang berpengaruh pada perjalanan

kanker payudara karena walaupun sudah mendapatkan penanganan yang tepat dan terpadu pada kanker payudara stadium dini (dalam hal ini stadium II) tapi hasil yang didapatkan pasien masih belum memuaskan.

Bagaimana pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara dengan HER-2 negatif perlu penelitian lebih lanjut. Apakah ada hubungan bermakna antara ekspresi VEGF-C dengan ekspresi berlebih dari HER-2 dan bagaimana hubungannya dengan angka kekambuhan dan harapan hidup?

Peneliti mencoba melihat hubungan antara derajat keganasan histologi dengan ekspresi VEGF-C. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa ekspresi VEGF-C cenderung untuk positif pada keseluruhan rentang derajat keganasan.

Tabel 5.1 : Hubungan VEGF-C dengan grade histologi

	VEGF-C (+)	VEGF-C (-)	Total
Grade I	19	1	20
Grade II	23	1	24
Grade III	48	3	51
Total	90	5	95

Nilai  $p = 0,951$  (uji  $r \times c$ )

### 5.3 Hubungan ekspresi VEGF-C pada kanker payudara stadium II dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak

Ekspresi VEGF-C pada penelitian ini ditemukan pada 90 dari 95 sampel (94,74%) kanker payudara stadium II dan hanya 5 (5,26%) tanpa ekspresi VEGF-C. Pemilihan stadium II saja pada penelitian ini didasarkan pada pemikiran bahwa penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dimulai pada saat ini (N0 dan N1). Hal ini dilaporkan juga oleh Kinoshita J, dkk<sup>46</sup> yang membuktikan dengan analisa imunohistokimia bahwa VEGF-C terekspresi secara berlebih pada 39,8% specimen kanker payudara yang diperiksanya tapi tidak pada kelenjar payudara normal.

Dari perhitungan analisa statistik penelitian ini didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara VEGF-C pada sel tumor dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Seluruh sampel (100%) dengan N1 menunjukkan ekspresi VEGF-C, sedangkan 56 dari 61 sampel (91,80%) dengan N0 menunjukkan juga ekspresi VEGF-C. Ini mengindikasikan bahwa walaupun belum terdapat penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak, pada kanker payudara stadium II ditemukan ekspresi VEGF-C. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kurebayashi J dkk, yang menemukan bahwa ekspresi VEGF-C hanya dapat dideteksi pada kanker payudara dengan kelenjar getah bening positif, sedangkan ekspresi VEGF-A dapat dideteksi baik pada kanker payudara dengan dan tanpa penyebaran ke kelenjar getah bening<sup>31</sup>.

Pada analisa lebih lanjut terhadap skor asli dengan menggunakan Kruskal-Wallis test dihasilkan perbedaan tidak bermakna ( $KW = 1,35$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,246$ ) antara ekspresi VEGF-C dan ada/tidaknya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Ditemukan bahwa semua penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak (N1) disertai adanya ekspresi VEGF-C dan hanya 5 sampel tanpa ekspresi VEGF-C ditemukan pada kanker payudara tanpa penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak (N0). Kinoshita J, dkk<sup>46</sup> membuktikan dengan analisa imunohistokimia bahwa ekspresi VEGF-C menunjukkan hubungan bermakna dengan invasi ke pembuluh getah bening yang dievaluasi secara morfologi ( $p=0,0004$ ) tapi tidak dengan penyebaran ke kelenjar getah bening.

Bila komponen nilai total skor VEGF-C dinilai terpisah, yaitu presentasi sel tumor dan intensitas warna maka didapatkan hasil bahwa walaupun intensitas warna lemah tapi hampir semua sampel didapati 100% sel tumor terwarnai. Hal ini menyokong teori angiogenesis di mana bila ukuran tumor sudah melebihi 2 mm, maka akan terjadi hipoksia sehingga faktor-faktor angiogenesispun akhirnya dikeluarkan, antara lain VEGF. Dalam hal kanker payudara di mana faktor limfangiogenesis lebih menonjol, maka faktor VEGF-C yang akan dihasilkan. Intensitas warna yang kuat tidak berhubungan dengan ada tidaknya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.

Dari hasil analisa statistik pada penelitian ini ditemukan bahwa ekspresi VEGF-C yang meningkat pada sel tumor tidak selalu disertai adanya penyebaran



ke kelenjar getah bening ketiak. Hal ini menimbulkan asumsi bahwa ada faktor lain yang berperan pada penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Skobe, dkk<sup>49</sup> melaporkan bahwa limfangiogenesis yang diinduksi oleh VEGF-C akan merangsang invasi sel tumor tapi diperlukan faktor-faktor lain yang membantu penyebaran lebih lanjut. Debies MT dan Welch DR<sup>51</sup> mengemukakan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya metastasis dan ada dua kategori gen yang terlibat di dalamnya yaitu gen yang mengaktifkan penyebaran (*metastasis activator: ras, MEK1, mtal, proteinases, adhesion molecules, chemoattractants/receptors, autotaxin, PKC, S100A4, RhoC, osteopontin*) dan gen yang menekan terjadinya penyebaran (*metastasis supressor: Nm23, E-cadherin, TIMPs, KiSS1, Kail, Maspin, MKK4, BRMS1*).

Tidak adanya hubungan antara VEGF-C dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak memberikan dampak pada pengambilan keputusan pemilihan pengobatan. Pemilihan terapi dengan anti VEGF masih relevan diberikan mengingat VEGF-C terekspresi pada hampir semua sel kanker payudara dengan atau tanpa adanya penyebaran ke kelenjar getah bening. Ini juga yang menyebabkan pemeriksaan VEGF tidak dijadikan sebagai pemeriksaan yang rutin harus dilakukan sebelum pemilihan terapi.

## **BAB 6**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

1. Terdapat ekspresi VEGF-C pada sel kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif.
2. Pola ekspresi VEGF-C pada N0 tidak lebih rendah daripada N1.

#### **6.2. Saran**

1. Penelitian VEGF-C pada kanker payudara stadium II, HER-2 positif, N0 dengan sampel yang lebih besar.
2. Penelitian VEGF-C pada kanker payudara stadium I (N0), HER-2 (+)
3. Penelitian VEGF-C pada kanker payudara berbagai stadium dihubungkan dengan harapan hidup penderita
4. Penelitian pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara dilakukan pada kelompok dengan HER-2 positif dan kelompok dengan HER-2 negatif.
5. Penelitian mengenai ekspresi VEGF-C pada sel tumor dikaitkan dengan ekspresi reseptor VEGFR-3 pada kelenjar getah bening.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Abeloff MD, Wolff AC, Wood WC, McCormick B, Weber BL. Cancer of The Breast. Clinical Oncology. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2004.p.2369-470.
2. Menard S, Pupa SM, Campiglio M, Tagliabue E. Biologic and therapeutic role of HER-2 in cancer. *Oncogene* 2003;22:6570-8.
3. Carr JA MD, Havstad S MA, Zarbo RJ MD, Divine G PhD, Mackowiak P MS, Velanovich V MD. The Association of HER-2/neu amplification with breast cancer recurrence. *Arch Surg* 2000;135:1469-74.
4. Mass R MD. Erb-B2 as a therapeutic target. In Gasparini G MD, Hayes DF MD. Biomarkers in breast cancer. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc;2006:159-75.
5. Nathanson SD MD, Slater R MD, deBruyn D BS, Kapke A MS, Linden M MD. HER-2/neu espression in primary breast cancer with sentinel lymph node metastasis. *Annals of surgical oncology* 2006;13:205-13.
6. Weinberg RA. Dialogue Replaces Monologue: Heterotypic Interactions and the Biology of Angiogenesis. In *The biology of cancer*. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2007:527-86.
7. Sturk C, Dumont D. Angiogenesis. In Tannock IF, Hill RP, Bristow RG, Hariington L. *The Basic Science of Oncology*. 4<sup>th</sup>ed. The McGraw-Hill Companies, Inc; 2005: 231-48.
8. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell* 2000;100:57-70
9. Van Iterson V MD, Leidenius M MD Phd, von Smitten K MD PhD, Bono P MD PhD, Heikkilä P MD PhD. VEGF-D in association with VEGFR-3 promotes nodal metastasis in human in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 2007;128(5):759-66.
10. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Reviews* 1997;18(1):4-25.
11. Sarmiento R MD, Franceschini R MS, Meo S MS, Gion M MD, Longo R MD, Gasparini G MD. Circulating vascular endothelial growth factor. In Gasparini G MD, Hayes DF MD. Biomarkers in breast cancer. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc;2006:267-92.

12. Schneider BP, Miller KD. Angiogenesis of breast cancer. *Journal of clinical oncology* 2005;23(8):1782-90.
13. Bando H, Weich HA, Horiguchi S, Funata N, Ogawa T, Toi M. The Association between vascular endothelial growth factor-C, its corresponding receptor, VEGFR-3, and prognosis in primary breast cancer. *Oncology Reports* 2006;15:653-9.
14. AJCC Cancer Staging Manual 6<sup>th</sup> ed. USA: Springer-Verlag;2002:221-40.
15. <http://www.who.int/infobase/report.aspx?rid=126> Cancer Country Profiles
16. Agnantis NJ PhD, Fatouros M MD, Arampatzis I MD, Briasoulis E, Ignatiadou EV MD, Paraskevaidis E MD, et al. Carcinogenesis of breast cancer: advances and applications. *Gastric Breast Cancer* 2004;3(1):13-22.
17. Epidemiologi and etiology of breast cancer – Wikipedia.
18. Tavassoli FA, Devilee P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Lyon: IARC Press 2003:9-110.
19. Ikeda T. A sentinel node biopsy in breast cancer patients. *Jpn J Surg* 1999;29:197-9.
20. Gonzales AAM, Morales VF, Hortobagyi GN. Overview of resistance therapy in patients with breast cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2007;608:1-22.
21. Bai M, Agnantis NJ, Kamina S, Demou A, Zagorianakou P, Katsaraki A, et al. In vivo cell kinetics in breast carcinogenesis. *Breast Cancer Res* 2001;3:276-83.
22. Beckmann MW, Niederacher D, Schnürch HG, Gusterson BA, Bender HG. Multistep carcinogenesis of breast cancer and tumour heterogeneity. *J Mol Med* 1997;75:429-39.
23. Burstein HJ. The distinctive nature of HER-2 positive breast cancers. *NEJM* 2005;353:1659-73.
24. Conzen SD, Grushko TA, Olopade OI. Cancer of the breast. 1595-1654.

25. Witton CJ, Reeves JR, Going JJ, Cooke TG, Bartlett JMS. Expression of the HER 1-4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer. *J Pathol* 2003;200:290-7.
26. Kostopoulos I, Arpantoni-Dadioti P, Gogas H, Papadopoulos S, Malamou-Mitsi V, Scopa CD, et al. Evaluation of the prognostic value of HER-2 and VEGF in breast cancer patients participating in a randomized study with dose-dense sequential adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res and Treatment* 2006;96:251-61.
27. Chambers AF, Vantyghem SA. Molecular mechanism of metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:203-20.
28. George ML, Tutton MG, Janssen F, Arnaout A, Abulafi AM, Eccles SA, et al. VEGF-A, VEGF-C and VEGF-D in colorectal cancer progression. *Neoplasia* 2001;3(5):420-7.
29. Bicknell R, Harris AL. Novel angiogenic signaling pathways and vascular targets. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2004;44:219-38.
30. Liao D, Johnson RS. Hypoxia: A key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26:281-90.
31. Al-Rawi MA, Jiang WG. Lymphangiogenesis and metastatic spread of breast cancer. *Metastasis of breast cancer* 2008: 219-40.
32. *Angiogenesis Weekly*. Atlanta Juni 8, 2007 pg 23.
33. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine Reviews* 2004;25(4):581-611.
34. Eichhorn ME, Kleespies A, Angele MK, Jauch KW, Bruns CJ. Angiogenesis in cancer: molecular mechanism, clinical impact. *Langenbecks Arch Surg* 2007;392:371-9.
35. Harper J, Moses MA. Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanisms and therapeutic implications. *Cancer: Cell structures, carcinogenesis and genomic instability*. Switzerland; Birkhäuser Verlag 2006:223-50.
36. Karpanen T and Alitalo K. Molecular biology and pathology of lymphangiogenesis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis* 2008;3:367-97.

37. Fox SB, Generali DG, Harris AL. Breast tumour angiogenesis. *Breast Cancer Res* 2007;9:216.
38. Schoppmann SF, Fenzl A, Schindl M, Hofmann TB, Nagy K, Gnant M, et al. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer. *Breast Cancer Res and Treatment* 2006;99:135-41.
39. Lundgren K, Holm C, Landberg G. Hypoxia and breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Cell.Mol.Life Sci* 2007;64:3233-47.
40. Nathanson SD MD, Slater R MD, DeBruyn D BS, Kapke A MS, Linden M MD. HER-2/neu expression in primary breast cancer with sentinel lymph node metastasis. *Annals of Surgical Oncology* 2006;13(2):205-13.
41. Eccles S, Paon L, Sleeman J. Lymphatic metastasis in breast cancer: importance and new insights into cellular and molecular mechanism. *Clin Exp Metastasis* 2007;24:619-36.
42. Sun P, Gao J, Liu YL, Wei LW, Wu LP, Liu ZY. RNA interference (RNAi)-mediated vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) reduction interferes with lymphangiogenesis and enhances Epirubicin sensitivity of breast cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2008;308:161-8.
43. Kinoshita J, Kitamura K, Kabashima A, Saeki H, Tanaka S, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2001;66:159-64.
44. Gu Y, Qi X, Guo S. Lymphangiogenesis induced by VEGF-C and VEGF-D promotes metastasis and a poor outcome in breast carcinoma: a retrospective study of 61 cases. *Clin Exp Metastasis* 2008;25:717-25.
45. Oliver G, Alitalo K. The lymphatic vasculature: recent progress and paradigms. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005;21:457-83.
46. Konecny GE, Meng YG, Untch M, Wang HJ, Bauerfeind I, Epstein M, et al. Association between HER-2/neu and vascular endothelial growth factor expression predicts clinical outcome in primary breast cancer patients. *Clinical Cancer Research* 2004;10:1706-16.
47. Blackwell KL, Dewhirst MW, Liotcheva V, Snyder S, Broadwater G, Bentley R, et al. HER-2 gene amplification correlates with higher levels of angiogenesis and lower levels of hypoxia in primary breast tumor. *Clinical Cancer Research* 2004;10:4083-8.

48. Pepper MS, Tille JC, Nisato R, Skobe M. Lymphangiogenesis and tumor metastasis. *Cell Tissue Res* 2003;314:167-77.
49. Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, Prevo R, Janes L, Velasco P, et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nature Medicine* 2001;7(2):192-8.
50. Lizardo MM, MacDonald IC, Tuck AB, Chambers AF. A new breast cancer model for lymphatic metastasis. *Cancer Metastasis and the Lymphovascular System*.
51. Debies MT, Welch DR. Genetics basis of human breast cancer metastasis. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 2001;6(4):441-8.

No	No PA	Umur	N0	N1	Karsinoma Duktal		Grade	VEGF		
					+	-		% Sel Tumor	Intensitas Warna	Total
1	99-0318	50	+		+		III	3	1	4
2	00-0805	60	+		+		III	3	2	5
3	00-0928	48	+		+		II	3	1	4
4	01-0987	48	+		+		II	3	1	4
5	01-1011	48	+		+		III	3	1	4
6	01-1019	53		+	+		III	3	2	5
7	02-0484	34	+		+		II	3	2	5
8	02-0615	35		+	+		III	3	2	5
9	02-1211	46	+		+		III	3	1	4
10	02-1380	53		+	+		III	3	3	6
11	02-1400	67		+	+		II	3	2	5
12	02-1644	27	+		+		II	3	2	5
13	03-0754	36		+	+		II	3	1	4
14	03-0962	53	+		+		III	3	1	4
15	03-0991	67	+		+		II	3	2	5
16	03-1099	60	+		+		II	3	1	4
17	04-0055	32	+		+		III	3	2	5
18	04-0175	62		+	+		II	3	1	4
19	04-0381	66		+	+		I	3	2	5
20	04-0527	51	+		+		II	3	3	6
21	04-0671	48	+		+		III	3	2	5
22	04-1003	47	+			+	III	3	1	4
23	05-0076	39	+		+		I	3	1	4
24	05-0193	50	+		+		III	3	3	6
25	05-0852	47	+		+		III	3	1	4
26	05-0858	48	+		+		II	3	2	5
27	05-1032	45	+		+		I	3	3	6
28	05-1122	57		+	+		III	3	1	4
29	05-1187	49		+	+		III	3	2	5
30	05-1194	50	+		+		III	3	1	4
31	05-1221	46		+	+		III	3	1	4
32	05-1260	65		+	+		III	3	1	4
33	05-1466	54	+		+		III	3	1	4
34	05-1849	53	+		+		II	3	1	4
35	06-0021	44	+		+		II	3	1	4
36	06-0763	38	+		+		I	3	1	4
37	06-0876	66	+			+	III	3	1	4
38	06-0886	59	+		+		I	3	1	4
39	06-1082	40		+	+		III	3	2	5
40	06-1539	53	+		+		III	3	1	4
41	06-1555	60	+		+		II	3	1	4
42	06-1652	47	+		+		II	3	2	5
43	06-1965	58		+	+		I	3	1	4
44	06-2242	52	+		+		III	3	2	5
45	07-0237	48	+		+		III	3	3	6
46	07-0382	54	+		+		III	3	1	4
47	07-0506	67	+		+		III	3	2	5
48	07-0553	57	+		+		II	3	2	5
49	07-0716	65	+		+		I	3	1	4
50	07-0832	70		+	+		III	3	2	5



No	No PA	Umur	N0	N1	Karsinoma Duktal		Grade	VEGF		
					+	-		% Sel Tumor	Intensitas Warna	Total
51	07-1071	63	+		+		III	3	1	4
52	07-1228	47	+		+		III	3	1	4
53	07-1265	53	+		+		I	3	3	6
54	07-1381	55		+	+		III	3	1	4
55	07-1690	36		+	+		III	3	1	4
56	07-2051	58	+		+		I	3	3	6
57	08-0116	34		+	+		III	3	1	4
58	08-0303	39	+		+		III	3	3	6
59	08-0801	42	+		+		III	3	1	4
60	08-0909	43		+	+		III	3	1	4
61	08-0919	55	+		+		I	3	1	4
62	08-0987	65	+		+		II	3	1	4
63	08-1001	49	+		+		III	3	1	4
64	08-1282	49		+	+		I	3	1	4
65	08-1383	45	+		+		II	3	2	5
66	08-1657	43	+		+		III	3	0	3
67	08-1806	54		+		+	I	3	2	5
68	08-2044	52	+		+		II	3	1	4
69	08-2103	39		+	+		III	3	1	4
70	08-2105	33		+	+		III	3	2	5
71	08-2154	53	+			+	III	3	3	6
72	08-2316	55		+	+		III	3	3	6
73	08-2414	29		+	+		I	3	1	4
74	08-2671	41	+		+		III	3	0	3
75	08-2871	45		+	+		I	3	3	6
76	08-2926	57		+		+	II	3	2	5
77	08-2930	41		+	+		III	3	1	4
78	08-2947	40	+		+		I	3	2	5
79	09-0022	54		+	+		I	3	1	4
80	09-0351	39	+		+		II	3	1	4
81	09-0397	34		+	+		II	3	3	6
82	09-0454	55	+		+		I	3	1	4
83	09-0472	46	+		+		I	3	1	4
84	09-0607	54		+	+		I	3	1	4
85	09-0637	40	+		+		I	3	1	4
86	09-0718	36	+		+		III	3	1	4
87	09-0833	44	+		+		III	3	1	4
88	09-0887	28	+		+		III	3	2	5
89	09-0907	38		+	+		III	3	3	6
90	09-1053	55	+		+		II	3	1	4
91	09-1054	56	+		+		III	3	1	4
92	09-1067	58	+		+		III	3	1	4
93	09-1079	50		+		+	III	3	1	4
94	09-1080	46		+	+		III	3	2	5
95	09-1160	45		+		+	II	3	2	5



**RUMAH SAKIT KANKER  
"DHARMAIS"  
( NATIONAL CANCER CENTER )**

Nomor : DL. 02.03.4. 2901  
Lampiran :  
Perihal : Ijin Penelitian

Jakarta, 9 Juni 2008

Kepada Yth:

**Ketua KPS Program Magister  
Program Studi Ilmu Biomedik -FKUI  
Jakarta**

Menjawab surat Saudara nomor : 196/VSPS-S2/2008, Izin Permohonan Penelitian , maka dengan ini kami beritahukan bahwa kami dapat menyetujui dan memberikan ijin untuk melakukan kegiatan tersebut di Rumah Sakit Kanker "Dharmais" kepada :

Mahasiswa saudara ;

**N a m a : dr. Rebecca N. Angka  
N P M : 0706170936  
Judul : " Pola Ekspresi HER-2 dan VEGF Secara Imunohistokimia Pada Kanker Payudara Stadium II dan Hubungannya dengan penyebaran ke kelenjar getah bening "**

Untuk kelancaran pengumpulan data, kami telah menunjuk Pembimbing / Nara sumber di Rumah Sakit Kanker "Dharmais" :

1. N a m a : dr.Evlina Suzanna Simuraya,Sp.PA

Selanjutnya perlu kami informasikan bahwa, sesuai dengan ketentuan yang berlaku di RS Kanker "Dharmais", maka akan dikenakan biaya sebagai berikut :

1. Biaya Institusi RS	= Rp. 500.000,-
2. Biaya Adm.LitBang	= Rp. 300.000,-
3. Biaya Pembimbing Lapangan	= Rp. 500.000,-
<b>Jumlah</b>	<b>= Rp. 1.300.000,-</b>

**Terbilang : ( Satu Juta Tiga Ratus Ribu Rupiah )**

Biaya tersebut agar dibayarkan kepada RS.Kanker Dharmais c.q. Bendahara Pencrima Intern RS. Kanker "Dharmais" via Bank Mandiri dengan NO.Rek. 116.00000.6028.6 , Adapun biaya bahan habis pakai, reagensia dan pemeriksaan diperhitungkan kemudian sesuai dengan pemakaian. ( terlampir biaya pemeriksaan di Lab.Patologi Anatomi ),dan sebelum melaksanakan kegiatan kami mohon agar yang bersangkutan terlebih dahulu menghubungi Bagian Penelitian dan Pengembangan RS.Kanker "Dharmais".

Demikian atas perhatiannya kami ucapkan terimakasih.-

**Dr.dr. Abdul Widiyanto, SpPD, KHOM.**  
NIK 430036423

Tembusan Kepada :

- 1.Yth. Ka.Bag.Penelitian dan Pengembangan
2. Yth. Ka.Instalasi Patologi Anatomi
- 3.Yth. dr.Evlina Suzanna Simuraya,Sp.A
4. Arsip



**RUMAH SAKIT KANKER  
"DHARMAIS"  
(NATIONAL CANCER CENTER)**

No. : 12/PEP/11/2008

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
***ETHICAL CLEARANCE***

Panitia Etik Penelitian, Rumah SAKit Kanker "Dharmais" dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protocol berjudul :

*The committee of the Medical Research Ethics of the "Dharmais" Cancer Hospital, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**Pola Ekspresi VEGF Secara Immunohistokimia pada Kanker Payudara Stadium II dengan HER-2 Positif dan Hubungannya Dengan Penyebaran ke Kelenjar Getah Bening Ketiak.**

Nama Peneliti Utama : dr. Rebecca N. Angka  
*Name of the Principal Investigator* :

Nama Institusi : Program Magister Biomedik  
*Name of Institution* Fakultas Kedokteran-Universitas Indonesia

Dan telah menyetujui proposal tersebut di atas.  
*And approved the above mentioned proposal*

Jakarta, 11 November 2008



Ketua  
*Chairman*

Prof.Dr.dr. A. Harryanto Reksodiputro, SpPD-KHOM

*Tampil Lebih Baik, Ramah dan Profesional*

## LAMPIRAN 1

# PENJELASAN TENTANG PENELITIAN PERJALANAN PENYAKIT KANKER PAYUDARA

Kanker payudara di Indonesia merupakan kanker terbanyak dari seluruh jenis kanker yang ada dengan kecenderungan semakin banyak menyerang usia muda. Dengan protokol pengobatan dengan tepat, diharapkan penyakit ini dapat disembuhkan. Kenyataannya beberapa kasus tetap tidak memberikan hasil yang baik terhadap pengobatan. Oleh karena itu timbul pertanyaan apakah ada faktor yang dapat dipakai untuk memperkirakan perkembangan penyakit kanker payudara sehingga walaupun ditemukan pada stadium dini telah dapat diketahui kemungkinan penyebaran yang akan terjadi sehingga dapat dilakukan langkah-langkah pencegahan.

Penelitian ini bertujuan mencari salah satu faktor yang dapat menggambarkan adanya penyebaran kanker payudara ke kelenjar getah bening. Jika faktor penyebaran ini ditemukan maka dapat diperkirakan bahwa penyakit kanker payudara yang dideritanya akan mengalami penyebaran walaupun ditemukan dalam keadaan belum ada penyebaran (stadium dini), sehingga dapat dilakukan langkah-langkah pengobatan agar penyebaran tidak terjadi. Ibu (atau keluarga penderita) kami hubungi karena tercatat sebagai salah satu pasien kanker payudara stadium II yang mendapat penanganan medis di Rumah Sakit Kanker Dharmais, Jakarta dan kami membutuhkan partisipasi Anda dalam penelitian ini.

Penelitian akan dilakukan dengan cara memeriksa **contoh jaringan payudara** yang diangkat sebagian atau seluruhnya (biopsi/operasi) dan disimpan/diawetkan dalam parafin padat di Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Kanker Dharmais. Contoh jaringan tersebut akan diiris sedikit dan ditelaah di laboratorium dengan teknik pulasan tertentu untuk memunculkan faktor penyebaran tadi. Oleh karena itu, tidak ada tindakan yang akan dialami oleh pasien karena penelitian ini hanya memakai bahan jaringan sisa biopsi/operasi.



Untuk keperluan pemeriksaan contoh jaringan di atas, kami membutuhkan ijin tertulis dari Ibu atau keluarga Ibu secara sukarela. Semua data yang berkaitan dengan Ibu akan dijaga kerahasiaannya dan hanya akan digunakan untuk kepentingan penelitian ini. Dari hasil penelitian ini bisa diketahui apakah seorang penderita kanker payudara stadium II memerlukan pengobatan tambahan. Ibu sewaktu-waktu dapat mengundurkan diri dari penelitian ini. Jika masih ada hal-hal yang belum jelas, Ibu (keluarga) dipersilakan bertanya langsung kepada kami. Silahkan menghubungi:

**dr. Rebecca N. Angka**

Pusat Diagnostik Dini – Yayasan Kanker Indonesia  
Jl. Lebak Bulus Tengah no. 9, Cilandak  
Jakarta Selatan. Tel: 021-7690704 Fax: 021-7507447

## 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. Rebecca N. Angka.

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

Ditandatangani di: \_\_\_\_\_

Tanggal: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - 200

**Pasien,**

**Saksi,**

\_\_\_\_\_  
*Nama jelas*

\_\_\_\_\_  
*Nama jelas*

## RIWAYAT HIDUP



Nama : Rebecca N. Angka  
NPM : 0706170936  
Tempat dan tanggal lahir : Surabaya, 29 April 1963  
Agama : Kristen  
Status : Menikah, 2 anak  
Alamat : Jl. Pelikan I blok U7/3, Bintaro Jaya II  
Ciputat 15412  
Pekerjaan & Jabatan : Pimpinan Klinik Deteksi Dini YKI  
Alamat institusi : Jl. Lebak Bulus Tengah no. 9  
Cilandak - Jakarta Selatan  
Riwayat pendidikan : SDK I, Jakarta 1974  
SMPK I, Jakarta 1977  
SMAK I, Jakarta 1981  
FK Unika Atma Jaya, Jakarta, 1989

### Pelatihan / Kursus tambahan

- 1990, Penambah dan Penyegaran Laboratorium Klinik bagi Dokter Umum, Rumah Sakit Atma Jaya
- 1992, Pelatihan Peningkatan Kemampuan Memberikan Informasi tentang Kanker, Yayasan Kanker Indonesia
- 1995, *Preconference Course on Hospice Care, Jakarta International Cancer Conference*, Yayasan Kanker Indonesia
- 1995, Kursus Singkat Deteksi Dini dan Pencegahan Penyakit Kanker, FKUI-POI
- 1996, Pelatihan *Hospice Care* Yayasan Kanker Indonesia, Yayasan Kanker Indonesia
- 1996, *Reach to Recovery International Breast Cancer Support Service Planning Workshop Held in Association with the Indonesian Cancer Foundation*, UICC
- 1996, Kursus Penyegar II Deteksi Dini dan Pencegahan Penyakit Kanker, FKUI-POI-YKI

- 1997, Kursus Penyegaran III Pencegahan dan Deteksi Dini Penyakit Kanker, YKI-POI-FKUI
- 1998, Pelatihan Kewaspadaan Umum terhadap Infeksi Mikro Organisme bagi Tenaga Kesehatan di DKI Jakarta, Yayasan Pelita Ilmu
- 1998, Pelatihan Manajemen Penyakit Menular Seksual dengan Pedekatan Sindrom, Lembaga Aksi Hidup Sehat Indonesia
- 1999, Kursus Deteksi Dini Kanker Leher Rahim, Yayasan Kanker Indonesia wilayah DKI Jakarta
- 1999, Kursus Penyegaran ke V Pencegahan dan Deteksi Dini Penyakit Kanker, POI-YKI-FKUI-IDI
- 1999, Lokakarya Perawatan Paliatif Kanker, POI-YKI-RS Kanker Dharmais-FKUI
- 2001, Kursus dan *Training of Trainer for Course Designer* dalam Bidang Kanker, POI-YKI
- 2004, *Advocacy Training Course, Singapore Cancer Society-Breast Cancer Foundation-Reach to Recovery International-UICC*
- 2006, Pelatihan Penatalaksanaan Tuberkolosis dengan Strategi DOTS (*Direct Observed Treatment Shortcourse*) & TB HIV, Depkes RI-FKUI
- 2007, *One Day Symposium and Workshop Basic Clinical Application : "From Bench to Supportive Care in Cancer"*, POI Jaya
- 2007, *Course on Leukemia and Lymphoma*, FKUI
- 2007, Kursus Peningkatan Profesionalisme dalam Ilmu Dasar Kanker Modul A, RS Hasan Sadikin-POI-UNPAD
- 2008, Kursus Peningkatan Profesionalisme dalam Ilmu Dasar Kanker Modul B, POI-RSCM
- 2008, Pelatihan/*Workshop* "Cegah dan Deteksi Dini Kanker Serviks", YKI
- 2009, *KPPIK Update on Diagnosis & Management of Clinical Problem in Daily Practice, CME-PDU FKUI*

- 2009, Seminar & *Workshop* “ Deteksi Dini & Penanggulangan Kanker Pada Anak & Perempuan”, YKI-HOGI
- 2009, Kursus Peningkatan Profesionalisme dalam Ilmu Dasar Kanker Modul C & D, POI

Riwayat pekerjaan : • Pusat Diagnostik Dini (PDD) YKI  
(Mei 1992 – September 1997)  
• Dokter PTT di Puskesmas Setiabudi  
Jakarta (Oktober 1997 – Juli 2000)  
• PDD/Klinik Deteksi Dini YKI  
(Agustus 2000 – sekarang)

Sumber dana penelitian tesis : Yayasan Kanker Indonesia



**Pola Ekspresi VEGF-C Secara Imunohistokimia pada Kanker Payudara Stadium II dengan HER-2 positif dan Hubungannya dengan Penyebaran ke Kelenjar Getah Bening Ketiak**

Rebecca N. Angka, Aru W. Sudoyo\*, Evlina S. Sinuraya\*\*

\*Divisi Hematologi Onkologi Medik Departemen Penyakit Dalam FKUI/RSCM

\*\*Departemen Patologi Anatomi RS Kanker Dharmais

**Abstrak:** Faktor pertumbuhan endotel vaskular atau Vascular Endothelial Growth Factor (selanjutnya disebut VEGF) adalah suatu glikoprotein dimer yang dihasilkan oleh sel tumor dan jaringan yang memerlukan pasokan pembuluh darah baru. Beberapa penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan antara penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dengan ekspresi VEGF C dan D terutama pada kanker payudara jenis duktal invasif. Ekspresi berlebihan dari VEGF disertai ekspresi berlebihan dari HER-2 ditemukan pada 77,2% pasien kanker payudara. Lebih jauh diketahui bahwa ekspresi VEGF berhubungan dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.

Pengaruh faktor ini mendorong peneliti untuk mempelajari kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif karena penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak pada sisi yang sama dengan kanker payudara baru mulai ditemukan pada stadium II baik pada tumor ukuran di bawah 2 cm ataupun pada tumor berukuran lebih dari 2 cm. Dalam penelitian ini dinilai pola ekspresi VEGF pada subjek dengan penyebaran ke kelenjar getah bening (N1) dan pada keadaan belum adanya keterlibatan kelenjar getah bening (N0).

Ekspresi VEGF dapat diamati dan diukur derajatnya pada jaringan kanker payudara dengan teknik imunohistokimia. Pola ekspresi yang didapatkan dari hasil penelitian ini diharapkan dapat melihat sifat biologik kanker payudara dalam hal penyebarannya ke kelenjar getah bening ketiak dan dapat digunakan sebagai faktor prediksi dalam hal penyebarannya, sehingga membantu dalam membuat keputusan mengenai terapi pada kanker ini. Sebanyak 95 sampel kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif tahun 1999 – 2009 diperiksa pola ekspresi VEGF-C. Didapatkan perbedaan tidak bermakna antara ekspresi VEGF-C pada kelompok N0 dan N1 (5 dan 90, dengan  $p = 0,086$ ).

**Kata kunci:** kanker payudara, VEGF-C, penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak regional ipsilateral

**Abstract:** Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) is a dimeric glycoprotein produced by tumor cells and tissues that require ample blood supply. Some studies have suggested that there is an association between metastasis of cancer cells to the axillary lymph nodes and VEGF C and D especially in ductal invasive breast carcinoma. The overexpression from VEGF together with HER-2 were found in 77.2 percent of breast cancer patients. Furthermore evidence suggest that VEGF expression is connected with the spread of cancer to the axillary lymph nodes.

We examined breast cancer stage II with HER-2 positive, as the spread of cancer cells to the axillary lymph nodes from the same breast cancer side will only be found at stage II for both tumour under 2 cm or more than 2 cm.

We examined VEGF-C expression in breast cancer by immunohistochemistry and we analyzed the its relationship with the axillary lymph node. The results from this research is aimed at monitoring the spread of breast cancer to the axillary lymph nodes and to predict its spread and therefore to find the most effective treatment management for this type of cancer. We analyzed VEGF-C expression in 95 sample breast cancer stage II with HER-2 positive from 1999 – 2009. There is no significant associated between VEGF-C expression and axillary lymph node ( $p = 0,089$ ).

**Key words:** breast cancer, VEGF-C, ipsilateral axillary lymph node metastasis regional

## Pendahuluan

Kanker payudara merupakan jenis kanker terbanyak diderita oleh perempuan di dunia menurut data WHO pada tahun 2002 dan merupakan penyebab kematian pertama pada perempuan di Indonesia pada tahun 2005<sup>1</sup>. Jumlah kasus payudara pada perempuan menunjukkan peningkatan setiap tahunnya.

Sudah lama diketahui bahwa status kelenjar getah bening ketiak pada kanker payudara merupakan faktor prognosa dan perkiraan (*predictive factor*) yang berdiri sendiri (*independent*) selain dari pada *histological grade* dan ukuran tumor<sup>1</sup>. Dalam hal penyebaran ke kelenjar getah bening, kanker payudara yang mengekspresikan HER-2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor-2*) disertai penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak mempunyai prognosa yang lebih buruk dibandingkan dengan kanker payudara yang tidak mengekspresikan HER-2 disertai penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak, karena ekspresi berlebih dari HER-2 dianggap berhubungan dengan agresifitas penyakit. HER-2 adalah suatu protoonkogen tirosin kinase yang merupakan keluarga dari *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). Reseptor HER-2 terdiri dari tiga domain yaitu ekstraseluler, membrane sel dan intraseluler yang pada akhirnya akan meneruskan sinyal ke inti sel sehingga terjadi proliferasi sel. Peningkatan ekspresi HER-2/neu terdapat pada 25% sampai 40% kanker payudara<sup>2</sup> dan di artikel lain dikatakan 20% sampai 30 % kanker payudara invasif<sup>3</sup>.

Secara biologi, adanya sel tumor pada kelenjar getah bening

ketiak sangat penting artinya bagi penderita kanker payudara karena dua alasan<sup>4</sup>:

- Status kelenjar getah bening ketiak diterima sebagai faktor prognosa dan dipakai untuk menentukan pengobatan. Adanya sel tumor di dalam kelenjar getah bening ketiak merupakan tanda bahwa tumor telah menyebar di luar batas payudara.
- Adanya sel tumor di kelenjar getah bening ketiak bukan hanya merupakan suatu tanda prognosa yang buruk tapi juga merupakan sumber sel tumor menyebar ke tempat lain yang lebih jauh bila sel-sel tumor di kelenjar getah bening ini masuk kembali ke dalam aliran darah menuju organ yang lebih jauh seperti tulang, otak, paru, hati dan tumbuh di sana.

VEGF adalah suatu glikoprotein yang bersifat dimer, 34-42 kDa, terdiri dari <sup>5,6,7,8,9,10</sup>:

- VEGF-A yang biasa disebut VEGF terdiri dari lima bentuk serupa, bervariasi panjangnya berdasarkan residu asam amino: VEGF 121, VEGF 145, VEGF 165, VEGF 189 dan VEGF 206. VEGF-A berikatan dengan VEGFR-1 dan -2 dan sflt1.
- VEGF-B adalah anggota keluarga VEGF yang dapat berikatan dengan VEGFR-1 dan neuropilin-1. Ada dua bentuk VEGF-B yaitu VEGF-B 167, sebuah peptida yang terlarut dan VEGF-B 189 yang berikatan dengan matriks ekstraselular.

- VEGF-C dapat berikatan dengan VEGFR-2 dan VEGFR-3/Flt-4, memberi efek angiogenesis dan limfangiogenesis. 48% VEGF-C identik terhadap VEGF-D dengan NH<sub>2</sub>- dan perpanjangan C-terminal yang mengapit bagian homologi VEGF. Dengan pemeriksaan imunohistokimia, VEGF-C akan diekspresikan di dalam sitoplasma sel tumor. VEGF-C merangsang mitosis dan perpindahan sel endotel dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah.
- VEGF-D juga berikatan dengan VEGFR-2 dan VEGFR-3 dan merangsang terjadinya limfangiogenesis dan angiogenesis. VEGF-E berikatan dengan VEGFR-2 dan merangsang terjadinya angiogenesis, merupakan molekul VEGF virus.
- Placental growth factor (PlGF).
  - VEGF-B, VEGF-C dan VEGF-D diekspresikan pada kanker payudara dengan beberapa hubungan patologik dengan penyebaran kelenjar, harapan hidup dan densitas limfatik.

Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh yang telah ada. Angiogenesis diatur melalui ekspresi keseimbangan positif (faktor angiogenik) dan negatif (penghambat angiogenesis). Pertumbuhan tumor

akan berhenti bila mencapai ukuran 1-2 mm<sup>3</sup>. Apabila tumor bertumbuh di luar persediaan darahnya atau kehilangan oksigen, maka gen yang bertanggung jawab terhadap hipoksia dimulai. *Hypoxia-inducible factor 1* (HIF 1) adalah suatu heterodimer dari dua protein yang berikatan dengan DNA yaitu HIF-1 $\alpha$  dan *the aryl hydrocarbon nuclear translocator* (ARNT/HIF-1 $\beta$ ). Pada keadaan normoksia, HIF-1 $\alpha$  tidak stabil dan secara cepat dihancurkan melalui proteasom tetapi bila tekanan oksigen turun di bawah 2%, HIF-1 $\alpha$  menjadi stabil, berpindah ke inti dan berinteraksi dengan HIF-1 $\beta$  untuk merekam program gen kompleks melalui *specific hypoxia response elements* (HREs)<sup>5,7,8,11,12</sup>. Pada kanker payudara, frekuensi sel dengan HIF-1 $\alpha$  positif meningkat seiring dengan peningkatan stadium dan berhubungan dengan densitas pembuluh darah, agresifitas tumor dan harapan hidup yang buruk. Faktor angiogenik yang diteliti adalah VEGF, yang secara kuat dirangsang oleh HIF-1 $\alpha$  melalui HREs pada akhir 5' dan 3' dari gen.

VEGF-C diproduksi oleh sel tumor dan beberapa sel host. Sekresi parakrin dari peptida ini merangsang limfangiogenesis yang dihubungkan dengan penyebaran ke kelenjar getah bening regional<sup>40,41</sup>. Penilaian ekspresi VEGF-C dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti teknik imunohistokimia, *in situ hybridization*, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*)<sup>6,13,14,15,16</sup>.

Pemulasan VEGF yang positif secara imunohistokimia tidak berhubungan dengan status reseptor hormonal, jumlah kelenjar getah bening yang positif, pentahapan,

ukuran tumor, kejadian kekambuhan atau kematian. Pemulsaan VEGF yang positif secara bermakna berhubungan dengan ekspresi yang berlebihan dari HER-2, seperti diketahui bahwa HER-2 meningkatkan VEGF pada galur sel manusia<sup>17</sup>.

#### Metode penelitian

Penelitian ini merupakan studi retrospektif pada penderita kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif, yang dilakukan di Rumah Sakit Kanker Dharmais, Departemen Patologi Anatomi sejak bulan November 2008 sampai Juni 2009. Populasi penelitian adalah sampel jaringan blok parafin dari penderita kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif yang datang ke Rumah Sakit Kanker Dharmais. Subyek penelitian adalah sampel jaringan blok parafin yang diambil antara tahun 1999 sampai 2009 dan memenuhi kriteria inklusi.

#### Kriteria inklusi

1. Sampel jaringan dari pasien yang telah didiagnosa sebagai kanker payudara dan dilakukan pengambilan jaringan payudara disertai kelenjar getah bening ketiak (*axillary lymph node dissection/ALND*)
2. Hasil histopatologi ditemukan kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif dan jumlah 10 kelenjar getah bening ketiak.

Perhitungan besar sampel minimal berdasarkan rumus uji hipotesis satu proporsi dan diperoleh sebesar 96 sampel.

Sampel jaringan blok parafin dari penderita kanker payudara stadium II didapatkan dari meneliti arsip hasil Patologi Anatomi di

Departemen Patologi Anatomi dan Litbang Rumah Sakit Dharmais.

Pemeriksaan VEGF-C secara imunohistokimia dilakukan dengan metode *avidin-biotin peroxidase complex* (ABC). Blok parafin dipotong dengan ketebalan 2µm dan direkatkan pada gelas objek yang telah dilapisi dengan *poly-L-lysine*. Dilakukan deparafinisasi dengan xylol 3x5 menit dan alkohol serial dengan konsentrasi menurun (absolut, 96%, 80%, 70%) masing-masing 5 menit. Bilas dengan air suling dilanjutkan dengan *blocking* peroksidase endogen dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,5% dalam metanol selama 30 menit. Dengan menggunakan larutan penyangga TE (Tris Edta) pH 9,0 dilakukan pemanasan (*pre-treated*) di dalam *decloaking chamber* hingga mencapai suhu 125°C, kemudian secara bertahap suhu akan turun sendiri hingga mencapai suhu 90°C. Dibiarkan sampai dingin. Area jaringan yang akan diperiksa ditandai pada gelas objek dengan "PAP pen" (Dakopatts). Direndam dalam PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit. Dilakukan *blocking* dengan *normal horse serum* (NHS) 3% selama 20 menit. Inkubasi dengan antibodi primer monoklonal tikus anti-VEGF (C-1): sc-7269 (Santa Cruz Biotechnology, Inc) dengan pengenceran 1:500 selama satu malam di dalam *moist chamber*. Cuci dengan PBS dengan pH 7,4 selama 2x5 menit. Inkubasi dengan antibodi sekunder *biotinylated rabbit anti-goat IgG* selama 30 menit di dalam *moist chamber*. Cuci dengan PBS dengan pH 7,4 selama 2x5 menit. Inkubasi dengan kompleks *streptavidin/peroksidase* selama 30 menit. Cuci dengan PBS dengan pH 7,4 selama 2x5 menit. Inkubasi dengan *diaminobenzidine* (DAB)

selama 5 menit yang berfungsi sebagai chromogen untuk memunculkan kompleks antigen-antibodi. Cuci dengan air mengalir selama 10 menit. *Counterstain* dengan hematoksilin. Kontrol negatif adalah semua sampel tanpa menggunakan antibodi primer dan sebagai kontrol positif adalah sampel kanker payudara. Hasil pulasan positif adalah sel-sel tumor yang terwarnai coklat di bagian sitoplasma. Inti sel tumor berwarna biru. Pulasan imunohistokimia VEGF dinilai dengan mikroskop cahaya. Kasus positif dihitung secara semikuantitatif berdasarkan persentase sel tumor yang terpulas dan intensitas warna pulasannya. Perhitungan persentase sel tumor yang terpulas dalam 5 lapang pandang besar: 0 = 0%, 1 = 25%, 2 = 26-50%, 3 = > 50%. Intensitas pemulasan menggunakan sistem sebagai berikut: 0 = negatif, 1 = lemah, 2 = menengah, 3 = kuat. Penilaian positività menggabungkan antara intensitas pemulasan dan persentase sel yang positif dengan nilai maksimum 6: nilai 0 – 3 = negatif atau ekspresi lemah dan nilai 4 – 6 = positif.

Data diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 11,5. Uji statistik dianggap bermakna bila  $p < 0,05$ .

### Hasil dan pembahasan

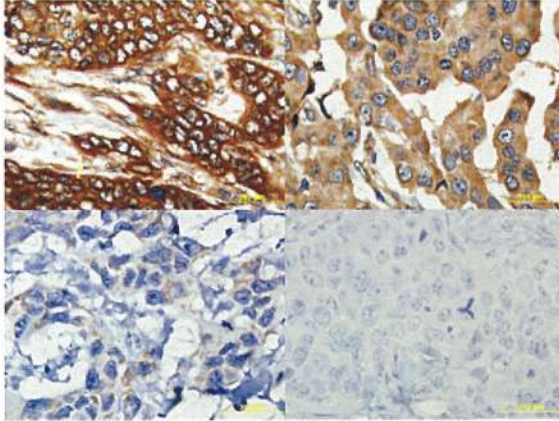
Jumlah sampel yang berhasil dikumpulkan pada penelitian ini adalah 95 sampel.

Karakteristik	Jumlah	Persentase
<b>Umur (tahun)</b>		
Rata-rata	49,11 (SD 9,82)	
♦ ≤ 35	9	9,47
♦ 36 – 45	23	24,21
♦ 46 – 55	41	43,16
♦ ≥ 56	22	23,16
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>
<b>Tipe histologi</b>		
♦ Duktal Invasif	88	92,63
♦ Non Duktal Invasif	7	7,37
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>
<b>Penyebaran ke kelenjar getah bening</b>		
♦ N0	61	64,21
♦ N1	34	35,79
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>
<b>Derajat histologi</b>		
♦ Diferensiasi baik	20	21,05
♦ Diferensiasi sedang	24	25,26
♦ Diferensiasi buruk	51	53,68
♦ <b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,00</b>

Usia termuda subyek penelitian adalah 27 tahun, tertua 70 tahun dengan usia rata-rata 49,11 tahun (SD 9,82) dan kelompok usia 46 – 55 tahun merupakan jumlah yang terbanyak (43,16%).

Jenis kanker payudara duktal invasif merupakan jenis terbanyak pada 88 dari 95 sampel penelitian (92,63%). Ikeda T<sup>18</sup> melaporkan bahwa kanker

payudara duktal invasif merupakan 85% dari seluruh kanker payudara dan kemungkinan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak 15% walaupun ukuran tumor kurang dari 1 cm dan 26% bila ukuran tumor antara 1,1 - 2 cm.



Gambar 4.2 : Hasil pulasan imunohistokimia dengan pembesaran 1000x

- a. sampel 08-2871 dengan intensitas warna +3
- b. sampel 04-0671 dengan intensitas warna +2
- c. sampel 08-2103 dengan intensitas warna +1
- d. kontrol negatif.

Penelitian dilakukan pada sampel dengan HER-2 positif berdasarkan kepustakaan yang mengemukakan bahwa ekspresi berlebih dari HER-2 akan meningkatkan ekspresi VEGF-C. Pada penelitian ini ditemukan ekspresi VEGF-C pada 90 dari 95 sampel (94,74%). Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nathanson SD MD, dkk<sup>19</sup>, Konecny GE, dkk<sup>20</sup> dan Blackwell KL, dkk<sup>21</sup>. Mereka melaporkan bahwa ekspresi berlebih dari HER-2/neu berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF pada sel-sel kanker payudara, tapi tidak berhubungan dengan kelenjar getah

bening ketiak yang positif. Konecny GE, dkk<sup>20</sup> menunjukkan bahwa VEGF merupakan target selanjutnya dari jalur sinyal HER-2/neu, tapi bagaimana mekanisme sesungguhnya hingga kini belum jelas diketahui.

Untuk mengetahui apakah ekspresi berlebih dari HER-2 dan VEGF dapat mempunyai nilai prognosis, maka Kostopoulos I, dkk<sup>17</sup> melakukan penelitian pada tiga kelompok: kelompok risiko rendah dengan tidak adanya ekspresi berlebih dari HER-2 dan pewarnaan VEGF negative, kelompok risiko menengah dengan ekspresi berlebih dari HER-2 atau pewarnaan VEGF positif dan kelompok risiko tinggi dengan ekspresi berlebih dari HER-2 dan pewarnaan VEGF yang positif. Hasil penelitian yang dilakukan pada 394 pasien menemukan bahwa ekspresi tinggi dari VEGF terdapat pada 72% kanker payudara, sedangkan ekspresi berlebih dari HER-2 ditemukan pada 31%. Rata-rata ekspresi berlebih dari HER-2 lebih tinggi secara bermakna pada pasien dengan pewarnaan VEGF positif (35% dibandingkan dengan 21%,  $p=0,02$ ). Pewarnaan VEGF yang positif tidak ada hubungannya dengan status reseptor, jumlah kelenjar getah bening yang positif, grade, ukuran tumor maupun insiden kekambuhan atau kematian. Walaupun pada penelitian ini tidak dianalisa lebih lanjut mengenai angka kekambuhan dan harapan hidup tapi peneliti mendapatkan beberapa pasien telah meninggal dunia dalam waktu kurang dari 3 tahun. Ini menimbulkan berbagai pertanyaan antara lain faktor apa saja yang berpengaruh pada perjalanan kanker payudara karena walaupun sudah mendapatkan penanganan yang tepat dan terpadu pada kanker

payudara stadium dini (dalam hal ini stadium II) tapi hasil yang didapatkan pasien masih belum memuaskan.

Bagaimana pola ekspresi VEGF-C pada kanker payudara dengan HER-2 negatif perlu penelitian lebih lanjut. Apakah ada hubungan bermakna antara ekspresi VEGF-C dengan ekspresi berlebih dari HER-2 dan bagaimana hubungannya dengan angka kekambuhan dan harapan hidup?

Eksresi VEGF-C pada penelitian ini ditemukan pada 90 dari 95 sampel (94,74%) kanker payudara stadium II dan hanya 5 (5,26%) tanpa ekspresi VEGF-C. Pemilihan stadium II saja pada penelitian ini didasarkan pada pemikiran bahwa penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak dimulai pada saat ini (N0 dan N1). Hal ini dilaporkan juga oleh Kinoshita J, dkk<sup>22</sup> yang membuktikan dengan analisa imunohistokimia bahwa VEGF-C tereksresi secara berlebih pada 39,8% specimen kanker payudara yang diperiksanya tapi tidak pada kelenjar payudara normal.

KGB	VEGF		Total
	+	-	
NI	34	0	34
N0	56	5	61
Total	90	5	95

$$X^2 = 2,942, p = 0,086$$

Hasil nilai Kai kuadrat pada uji tabulasi silang adalah 2,942 dengan nilai  $p = 0,086$  dengan catatan bahwa ada sel dengan jumlah/nilai kurang dari 5.

Dari perhitungan analisa statistik penelitian ini didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara VEGF-C pada sel tumor dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Seluruh sampel (100%)

dengan N1 menunjukkan ekspresi VEGF-C, sedangkan 56 dari 61 sampel (91,80%) dengan N0 menunjukkan juga ekspresi VEGF-C. Ini mengindikasikan bahwa walaupun belum terdapat penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak, pada kanker payudara stadium II ditemukan ekspresi VEGF-C. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kurebayashi J dkk<sup>9</sup>, yang menemukan bahwa ekspresi VEGF-C hanya dapat dideteksi pada kanker payudara dengan kelenjar getah bening positif, sedangkan ekspresi VEGF-A dapat dideteksi baik pada kanker payudara dengan dan tanpa penyebaran ke kelenjar getah bening.

Pada analisa lebih lanjut terhadap skor asli dengan menggunakan Kruskal-Wallis test dihasilkan perbedaan tidak bermakna ( $KW = 1,35, df = 1, p = 0,246$ ) antara ekspresi VEGF-C dan ada/tidaknya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Ditemukan bahwa semua penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak (N1) disertai adanya ekspresi VEGF-C dan hanya 5 sampel tanpa ekspresi VEGF-C ditemukan pada kanker payudara tanpa penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak (N0). Kinoshita J, dkk<sup>22</sup> membuktikan dengan analisa imunohistokimia bahwa ekspresi VEGF-C menunjukkan hubungan bermakna dengan invasi ke pembuluh getah bening yang dievaluasi secara morfologi ( $p=0,0004$ ) tapi tidak dengan penyebaran ke kelenjar getah bening.

Bila komponen nilai total skor VEGF-C dinilai terpisah, yaitu presentasi sel tumor dan intensitas warna maka didapatkan hasil bahwa walaupun intensitas warna lemah tapi hampir semua sampel didapati 100%.

sel tumor terwarnai. Hal ini menyokong teori angiogenesis di mana bila ukuran tumor sudah melebihi 2 mm, maka akan terjadi hipoksia sehingga faktor-faktor angiogenesispun akhirnya dikeluarkan, antara lain VEGF. Dalam hal kanker payudara di mana faktor limfangiogenesis lebih menonjol, maka faktor VEGF-C yang akan dihasilkan. Intensitas warna yang kuat tidak berhubungan dengan ada tidaknya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak.

Dari hasil analisa statistik pada penelitian ini ditemukan bahwa ekspresi VEGF-C yang meningkat pada sel tumor tidak selalu disertai adanya penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Hal ini menimbulkan asumsi bahwa ada faktor lain yang berperan pada penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak. Skobe, dkk<sup>48</sup> melaporkan bahwa limfangiogenesis yang diinduksi oleh VEGF-C akan merangsang invasi sel tumor tapi diperlukan faktor-faktor lain yang membantu penyebaran lebih lanjut. Debies MT dan Welch DR<sup>23</sup> mengemukakan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya metastasis dan ada dua kategori gen yang terlibat di dalamnya yaitu gen yang mengaktifkan penyebaran

(*metastasis activator: ras, MEK1, mtal, proteinases, adhesion molecules, chemoattractants/receptors, autotaxin, PKC, S100A4, RhoC, osteopontin*) dan gen yang menekan terjadinya penyebaran (*metastasis supressor: Nm23, E-cadherin, TIMPs, KiSS1, Kai1, Maspin, MKK4, BRMS1*).

Tidak adanya hubungan antara VEGF-C dengan penyebaran ke kelenjar getah bening ketiak memberikan dampak pada pengambilan keputusan pemilihan pengobatan. Pemilihan terapi dengan anti VEGF masih relevan diberikan mengingat VEGF-C terekspresi pada hampir semua sel kanker payudara dengan atau tanpa adanya penyebaran ke kelenjar getah bening. Ini juga yang menyebabkan pemeriksaan VEGF tidak dijadikan sebagai pemeriksaan yang rutin harus dilakukan sebelum pemilihan terapi.

### Kesimpulan

1. Terdapat ekspresi VEGF-C pada sel kanker payudara stadium II dengan HER-2 positif.
2. Pola ekspresi VEGF-C pada N0 tidak lebih rendah daripada N1.

### Daftar Pustaka

1. <http://www.who.int/infobase/report.aspx?rid=126> Cancer Country Profiles
2. Carr JA MD, Havstad S MA, Zarbo RJ MD, Divine G PhD, Mackowiak P MS, Velanovich V MD. The Association of HER-2/neu amplification with breast cancer recurrence. Arch Surg 2000;135:1469-74.
3. Conzen SD, Grushko TA, Olopade OI. Cancer of the breast. 1595-1654
4. Chambers AF, Vantyghem SA. Molecular mechanism of metastasis. Cancer Metastasis Rev 2006;25:203-20.
5. Weinberg RA. The biology of cancer. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2007.
6. George ML, Tutton MG, Janssen F, Arnaout A, Abulafi AM, Eccles SA, et al. VEGF-A, VEGF-C and VEGF-D in colorectal cancer progression. Neoplasia 2001;3(5):420-7.
7. Bicknell R, Harris AL. Novel angiogenic signaling pathways and



- vascular targets. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2004;44:219-38.
8. Liao D, Johnson RS. Hypoxia: A key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26:281-90.
  9. Al-Rawi MA, Jiang WG. Lymphangiogenesis and metastatic spread of breast cancer. *Metastasis of breast cancer* 2008: 219-40.
  10. *Angiogenesis Weekly*. Atlanta Juni 8, 2007 pg 23.
  11. Eichhorn ME, Kleespies A, Angele MK, Jauch KW, Bruns CJ. Angiogenesis in cancer: molecular mechanism, clinical impact. *Langenbecks Arch Surg* 2007;392:371-9.
  12. Schoppmann SF, Fenzl A, Schindl M, Hofmann TB, Nagy K, Gnant M, et al. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer. *Breast Cancer Res and Treatment* 2006;99:135-41.
  13. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine Reviews* 2004;25(4):581-611.
  14. Sun P, Gao J, Liu YL, Wei LW, Wu LP, Liu ZY. RNA interference (RNAi)-mediated vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) reduction interferes with lymphangiogenesis and enhances Epirubicin sensitivity of breast cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2008;308:161-8.
  15. Kinoshita J, Kitamura K, Kabashima A, Saeki H, Tanaka S, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2001;66:159-64.
  16. Gu Y, Qi X, Guo S. Lymphangiogenesis induced by VEGF-C and VEGF-D promotes metastasis and a poor outcome in breast carcinoma: a retrospective study of 61 cases. *Clin Exp Metastasis* 2008;25:717-25.
  17. Kostopoulos I, Arpantoni-Dadioti P, Gogas H, Papadopoulos S, Malamou-Mitsi V, Scopa CD, et al. Evaluation of the prognostic value of HER-2 and VEGF in breast cancer patients participating in a randomized study with dose-dense sequential adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res and Treatment* 2006;96:251-61.
  18. Ikeda T. A sentinel node biopsy in breast cancer patients. *Jpn J Surg* 1999;29:197-9.
  19. Nathanson SD MD, Slater R MD, DeBruyn D BS, Kapke A MS, Linden M MD. HER-2/neu expression in primary breast cancer with sentinel lymph node metastasis. *Annals of Surgical Oncology* 2006;13(2):205-13.
  20. Konecny GE, Meng YG, Untch M, Wang HJ, Bauerfeind I, Epstein M, et al. Association between HER-2/neu and vascular endothelial growth factor expression predicts clinical outcome in primary breast cancer patients. *Clinical Cancer Research* 2004;10:1706-16.
  21. Blackwell KL, Dewhirst MW, Liotcheva V, Snyder S, Broadwater G, Bentley R, et al. HER-2 gene amplification correlates with higher levels of angiogenesis and lower levels of hypoxia in primary breast tumor. *Clinical Cancer Research* 2004;10:4083-8.
  22. Pepper MS, Tille JC, Nisato R, Skobe M. Lymphangiogenesis and tumor metastasis. *Cell Tissue Res* 2003;314:167-77.
  23. Debies MT, Welch DR. Genetics basis of human breast cancer metastasis. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 2001;6(4):441-8.