

Hubungan antara Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dengan Karakteristik Klinikopatologik Karsinoma Payudara Duktal Invasif

Huratio Nelson, Heni Maulani, Aida Farida, Mgs. Irsan Saleh

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

RSUP. Dr. Mohammad Hoesin

Palembang

ABSTRAK

Latar belakang

Kanker payudara merupakan keganasan tersering serta penyebab kematian terbanyak kedua pada wanita di dunia. Angiogenesis sangat berperan dalam karsinogenesis karsinoma payudara duktal invasif. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor angiogenik utama merupakan salah satu faktor prediktor untuk metastasis bila ekspresinya meningkat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi VEGF dengan karakteristik klinikopatologik pada karsinoma payudara duktal invasif.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian potong lintang (*cross sectional*). Lima puluh lima sampel jaringan payudara hasil mastektomi yang telah didiagnosis sebagai karsinoma payudara duktal invasif diambil dari arsip di Bagian Patologi Anatomi RSMH. Dilakukan pulasan imunohistokimia dengan antibodi anti-VEGF, diidentifikasi dan dianalisis hubungannya dengan umur, ukuran tumor, status limfonodus, dan derajat keganasan histologik.

Hasil

Positivitas ekspresi VEGF lebih banyak dijumpai pada kelompok umur ≤ 49 tahun, kelompok ukuran tumor $\leq 9,6$ cm, dan status limfonodus positif serta derajat keganasan histologik tinggi pada karsinoma payudara duktal invasif. Terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan kategori status limfonodus ($p=0,047$) dan derajat keganasan histologik ($p=0,020$), namun tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan kategori umur ($p=0,781$) dan kategori ukuran tumor ($p=0,700$).

Kesimpulan

Terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dengan status limfonodus dan derajat keganasan pada karsinoma mamma duktal invasif.

Kata kunci: karakteristik klinikopatologik, karsinoma payudara duktal invasif, VEGF.

ABSTRACT

Background

Breast cancer is the most common malignancy and related death of female worldwide. The angiogenesis has an important role in the invasive ductal mammary carcinoma carcinogenesis, and vascular endothelial growth factor (VEGF) is a primary angiogenic factor. The aim of this study is to determine the relationship between the VEGF expression and clinicopathologic characteristics of the invasive ductal mammary carcinoma.

Methods

It was a cross-sectional study. Fifty-five paraffin block samples of mastectomy tissue diagnosed as invasive mammary ductal carcinoma were obtained from the archives of the Anatomical Pathology Department of RSMH, was stained by immunohistochemical method with anti-VEGF antibody. The result was analyzed in relation to age, tumor size, lymph node status, and histological grade.

Results

The positivity of VEGF expression was more common in the ≤ 49 years age of group, in the tumor of ≥ 9.6 cm size group, in the positive lymph node status, and in the high histological grade. There was a significant correlation between the VEGF expression and the category of lymph node status ($p=0.047$), as well as histological grade ($p=0.020$). There was insignificant correlation between VEGF expression and the age category ($p=0.781$), as well as tumor size category ($p=0.700$).

Conclusion

There was correlation between VEGF expression and lymph node status and histological grade in invasive ductal mammary carcinoma.

Key words: clinicopathologic characteristics, invasive ductal mammary carcinoma, VEGF.

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan keganasan ter-sering serta penyebab kematian terbanyak kedua di dunia. *American Cancer Society* tahun 2011 menyebutkan ada 1.383.500 (23%) kasus baru dan 458.400 (14%) diantaranya mengalami kematian.¹ Pada tahun 2012 di Amerika Serikat dijumpai 226.870 kasus baru dan 39.510 (17%) di antaranya mengalami kematian.² Berdasarkan data kanker tahun 2008 di Indonesia kasus karsinoma payudara invasif menduduki urutan teratas mendahului kanker leher rahim.³ Data di Sentra Diagnostik Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang sejak tahun 2008-2012 memperlihatkan peningkatan kasus rata-rata 8,7% per tahun.

Karsinoma payudara duktal invasif merupakan kelompok terbesar kanker payudara invasif.⁴ Proses karsinogenesisnya melibatkan banyak faktor. Salah satu faktor yang berperan penting adalah angiogenesis yang akan meningkatkan proliferasi sel-sel tumor dan lebih lanjut meningkatkan kemungkinan metastasis. Beberapa faktor dapat memacu proses angiogenesis ini namun *vascular endothelial growth factor* (VEGF) merupakan faktor angiogenik utama. Protein VEGF ini merupakan anggota kelompok *survival gene* yang memperlihatkan peningkatan ekspresi sebagai respon terhadap keadaan hipoksia pada ekspansi tumor yang berdiameter 1-2 mm melalui faktor transkripsi *hypoxia inducible factor-1 α* (HIF-1 α).⁵⁻¹²

Peningkatan ekspresi VEGF berkaitan dengan progresi tumor dan prognosis yang buruk pada beberapa tumor termasuk pada kanker payudara.^{5,6} Hasil-hasil penelitian terdahulu sebagian menyebutkan ada hubungan bermakna (Yoshiji H *et al.*, Brown LF *et al.*, Mohammed RAA *et al.*, Linderholm BK *et al.*), sementara sebagian lagi menyebutkan tidak ada hubungan bermakna (Maria A *et al.*, Kurebayashi J *et al.*) antara peningkatan ekspresi gen VEGF dengan umur, ukuran tumor, status limfonodus, dan derajat keganasan histologik kanker payudara.^{5,6,13-20} Penemuan antibodi monoklonal *bevacizumab* (anti-VEGF), yang targetnya adalah protein VEGF, menjadikan status protein ini sangat penting dalam menentukan pasien yang mendapatkan terapi anti-VEGF.²¹⁻²³

Berdasarkan hal-hal di atas dan sejauh ini di RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang belum ada penelitian mengenai ekspresi VEGF

pada karsinoma payudara invasif, maka peneliti tertarik untuk mengetahui hubungan ekspresi VEGF dengan karakteristik klinikopatologik pada karsinoma payudara duktal invasif.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang (*cross-sectional*). Populasi sampel adalah penderita karsinoma payudara yang telah didiagnosis secara histopatologik sebagai karsinoma payudara duktal invasif. Sampel penelitian merupakan preparat Hematoksilin-Eosin (HE) disertai blok parafin yang diperoleh dari sediaan mastektomi, disertai catatan rekam medik di Sentra Diagnostik Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP. dr. Mohammad Hoesin Palembang, periode Januari 2010 sampai dengan Februari 2013. Sampel yang memenuhi kriteria penerimaan dan tidak memiliki kriteria penolakan dievaluasi ulang secara tersamar oleh 2 patolog untuk menentukan derajat keganasan histologik dan status limfonodus. Karakteristik umur dan ukuran tumor didapat dari catatan arsip kertas rekam medik. Setelah itu dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi primer anti-VEGF poliklonal pada kelinci (*rabbit polyclonal antibody to VEGF-BioGenex Ready-to-use*), yang digunakan dengan *BioGenex Automated Staining System* pada tumor primer. Hasil pulasan imunohistokimia diperiksa oleh dua patolog bersamaan menggunakan mikroskop cahaya jenis olympus BX51. Ekspresi VEGF dinyatakan positif apabila sel tumor terpulas coklat (muda/sedang/gelap) pada membran sel dan atau sitoplasma.²⁴ Penilaian ditentukan berdasarkan luas pulasan menggunakan metode semikuantitatif dengan menghitung jumlah sel-sel terpulas dalam 500-1000 sel atau dalam 5-10 lapangan pandang besar (LPB) menggunakan pembesaran 400x. Kriteria luas pulasan: negatif (terpulas 0%); 1+ (minimal) (<10%), 2+ (sedang) (10-50%); dan 3+ (difus) (>50%).⁵ Pada analisis, data dikelompokkan menjadi negatif (negatif dan 1+) dan positif (2+ dan 3+).²⁴ Analisis data dengan cara deskriptif menggunakan nilai rerata (mean) usia dan ukuran tumor. Hubungan antara ekspresi VEGF dengan karakteristik klinikopatologik dianalisis menggunakan uji *Chi-Square*, uji *Fisher exact*, dan uji Kolmogorov-Smirnov (SPSS versi 20.0).

HASIL

Pada penelitian ini didapatkan 55 subjek penelitian yang memenuhi kriteria sampel penelitian. Usia penderita berkisar antara 31-65 tahun dengan rerata, nilai tengah (median) dan nilai paling sering muncul (*mode*) pada usia 49 tahun. Tabel 1 memperlihatkan distribusi karakteristik klinikopatologi sampel penelitian.

Tabel 1. Distribusi karakteristik klinikopatologi pada karsinoma payudara duktal invasif.

Karakteristik	Frekuensi	Persentase
Kategori usia*		
≤ 49	31	56,4
>49	24	43,6
Kategori ukuran tumor*		
≤ 9,6	28	50,9
>9,6	27	49,1
Kategori status limfonodus		
Negatif	10	18,2
Positif	45	81,8
Kategori derajat keganasan histologik**		
Rendah (G1)	6	10,9
Menengah (G2)	16	29,1
Tinggi (G3)	33	60,0

*didapat dari nilai mean; **Sistem penderajat dari Bloom & Richardson modifikasi Elston & Ellis⁴

Walaupun jumlah sampel tidak terlalu besar, penelitian ini telah berhasil memperlihatkan bahwa 40 (72,7%) kasus karsinoma payudara duktal invasif memperlihatkan ekspresi VEGF positif. Tabel 2 memperlihatkan distribusi dan hubungan ekspresi VEGF dengan karakteristik klinikopatologi sampel penelitian.

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan kelompok umur (p=0,781), demikian juga dengan kelompok ukuran tumor (p=0,700). Sebaliknya terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan kelompok status limfonodus (p=0,047) dan dengan derajat keganasan histologik (p=0,020). Ekspresi VEGF tinggi pada penderita dengan status limfonodus positif. Ekspresi VEGF juga semakin tinggi seiring dengan peningkatan derajat histopatologik.

Tabel 2. Distribusi dan hubungan antara ekspresi VEGF dengan karakteristik klinikopatologi pada karsinoma payudara duktal invasif.

Variabel	Ekspresi VEGF		Total	p
	Negatif	Positif		
Kelompok umur				
≤49 tahun	8 (14,5%)	23 (41,8%)	31	0,781*
>49 tahun	7 (12,7%)	17 (30,9%)	24	
Ukuran tumor				
≤9,6 cm	7 (12,7%)	21 (38,2%)	28	0,700*
>9,6 cm	8 (14,5%)	19 (34,5%)	27	
Status limfonodus				
Negatif	0 (0,0%)	10 (18,2%)	10	0,047**
Positif	15 (27,3%)	30 (54,5%)	45	
Derajat keganasan histologik				
Rendah (G1)	5 (9,1%)	1 (1,8%)	6	0,020***
Menengah(G2)	6 (10,9%)	10 (18,2%)	16	
Tinggi (G3)	4 (7,3%)	29 (52,7%)	33	
Karsinoma payudara duktal invasif	15 (27,3%)	40 (72,7%)	55	

*Uji *Chi-square* **Uji Fisher exact ***Uji Kolmogorov-Smirnov.

DISKUSI

Secara umum penelitian ini secara umum mendapatkan hasil yang tidak jauh berbeda dari beberapa penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini tidak dijumpai hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan karakteristik umur. Hasil ini sesuai dengan penelitian Wang Z *et al.* (2011)⁵, Cimpean AM *et al.* (2008)¹³, Ghasemi M *et al.* (2011)¹⁷ dan Mohammed RAA *et al.* (2007)¹⁵ yang menyebutkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan umur.

Walaupun tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan umur, namun ekspresi VEGF positif pada kasus kelompok umur ≤49 tahun (usia reproduktif) pada penelitian ini lebih banyak dibandingkan kelompok kategori >49 tahun. Hal ini mengindikasikan kemungkinan keterlibatan faktor hormonal dalam perkembangan kanker payudara. Hasil penelitian terdahulu memperlihatkan bahwa ekspresi faktor-faktor pertumbuhan, seperti VEGF, diregulasi oleh hormon-hormon melalui mekanisme direk (autokrin) dan indirek (parakrin). Jink K dkk dalam studi literturnya yang mendalam menyatakan bahwa Buteau-Lozano dkk membuktikan bahwa estrogen dapat meningkatkan ekspresi VEGF melalui transkripsi gen pada sel-sel kanker payudara. Penelitian lain juga memperlihatkan bahwa ekspresi VEGF

pada kanker payudara dependen estrogen meningkatkan proses angiogenesis dan pertumbuhan kanker payudara. Penelitian selanjutnya memperlihatkan level VEGF sebagai prediksi bagi pemberian terapi adjuvan anti-estrogen untuk kanker payudara dengan estrogen reseptor (ER) positif.⁷

Ekspresi VEGF dilaporkan juga dipengaruhi faktor non-hormonal. Jink K dalam studi literturnya juga menyatakan bahwa Fuckar dkk membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara peningkatan ekspresi VEGF dan ER negatif pada kanker payudara. Prognosis penderita kanker payudara dengan ER negatif lebih buruk dibandingkan dengan ER positif. Penelitian lain menyebutkan bahwa overekspresi baik VEGF maupun Her-2/neu mempunyai hubungan bermakna dengan prognosis yang buruk pada kanker payudara. Kawai dkk membuktikan bahwa ekspresi dan sekresi VEGF dikontrol oleh interaksi langsung yang melibatkan protein BRCA-1 dan ER. Hasil penelitian mereka menyebutkan bahwa normal protein BRCA-1 menekan promotor VEGF melalui subunit ER- α dan juga meregulasi sekresi VEGF dari sel, sehingga mutasi pada BRCA-1 tidak terjadi penekanan ekspresi VEGF.⁷

Analisis statistik menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan ukuran tumor pada karsinoma payudara duktal invasif. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wang Z dkk⁵ dan Cimean AM dkk¹³, namun berbeda dengan penelitian Mohammed RAA dkk¹⁵ yang menyebutkan bahwa ekspresi VEGF yang tinggi berkaitan dengan ukuran tumor. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh penentuan pengelompokan kategori ukuran tumor pada penelitian ini tidak sama dengan penelitian sebelumnya, sehingga mendapatkan keluaran yang berbeda.

Penelitian ini mendapatkan hubungan antara ekspresi VEGF dengan status limfonodus pada karsinoma payudara duktal invasif, walaupun dengan kekuatan hubungan lemah dan arah negatif. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mohammed RAA yang menyebutkan terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dan positività limfonodus serta metastasis jauh pada karsinoma payudara duktal invasif.¹⁵ Namun hasil penelitian Wang Z dkk⁵ dan Kurebayashi J dkk¹⁹ menyebutkan tidak terdapat hubungan bermak-

na antara ekspresi VEGF dan metastasis ke limfonodus pada karsinoma payudara duktal invasif.

Walau dengan kekuatan hubungan yang lemah penelitian ini memperlihatkan bahwa VEGF mempunyai peran dalam metastasis kanker payudara ke limfonodus. Arah negatif berarti faktor VEGF tidak berdiri sendiri, ada faktor lain yang ikut berperan dalam metastasis ke limfonodus. Literatur menyebutkan adanya hubungan yang kuat antara ukuran tumor dan invasi limfovaskuler dengan status limfonodus. Risiko metastasis ke limfonodus menjadi meningkat bersamaan dengan peningkatan ukuran tumor, namun baik status limfonodus maupun ukuran tumor keduanya merupakan faktor prognostik independen. Demikian juga halnya dengan invasi limfovaskuler.²⁵

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan derajat keganasan histologik pada karsinoma payudara duktal invasif. Hasil ini sesuai dengan penelitian Wang Z dkk, Ghasemi M dkk, dan Mohammed RAA dkk yang menyebutkan ada hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan derajat keganasan histologik pada kanker payudara duktal invasif.^{5,13,15,17} Dengan demikian dapat dikatakan bahwa VEGF sebagai faktor angiogenik utama memegang peran penting dalam progresi karsinoma payudara duktal invasif. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa peningkatan ekspresi VEGF berkaitan dengan progresi tumor dan prognosis yang buruk pada beberapa tumor termasuk kanker payudara.^{5,6}

KESIMPULAN

Terdapat hubungan antara ekspresi VEGF dengan derajat keganasan dan proses metastasis karsinoma payudara duktal invasif. Ekspresi VEGF positif pada karsinoma payudara dengan derajat keganasan tinggi dan pada yang bermetastasis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69-90.
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistic. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62: 10-29.
3. Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI, Registrasi

- Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia, Yayasan Kanker Indonesia. Kanker di Indonesia tahun 2008 Data Histopatologik. Jakarta: Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI; 2008.
4. Ellis IO, Collins L, Ichihara S, MacGrogan G. Invasive carcinoma of no special type. In: Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ, ed. WHO Classification of Tumours of the Breast. Lyon: IARC Press; 2010.
 5. Wang Z, Shi Q, Gu Y, Shen Y, Sun M, Deng M, *et al.* Clinicopathologic of cancer stem cell markers cd44, cd24, vegf and hif-1 α in ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of breast: an immunohistochemistry-based pilot study. Elsevier GmbH. 2011; 207: 505-13.
 6. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. Devita cancer principles and practice of oncology. 8th ed. Vol 1. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
 7. Jin K, Xhang Y, Zheng L, Fu K, Zhu T, Jin Z, *et al.* Vascular endothelial growth factor in breast cancer: a systemic review. J US-China Med Sci. 2011; 8: 175-180.
 8. Marson LP, Miller WR, Dixon JM. Angiogenesis and breast cancer. Edinburgh: Harcourt Brace & Co. Ltd; 1998.
 9. Hoeben A, Landuyt B, Highley SM, Wildiers H, Oosterom ATV, Bruijn EAD, *et al.* Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. Pharmacol Rev. 2004; 56: 549-80.
 10. Terman BI, Stoletov KV. VEGF and tumor angiogenesis. Einstein Quart J Biol Med. 2001; 18: 59-66.
 11. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor as a target for anticancer therapy. Oncologist. 2004; 9: 2-10.
 12. Carpinì DJ, Karam AK, Montgomery L. Vascular endothelial growth factor and its relationship to the prognosis and of breast, ovarian, and cervical cancer. Springer 2010;13:43-58.
 13. Cimean AM, Raica M, Suciù C, Tatucu D, Sarb S, Mureas AM, *et al.* Vascular endothelial growth factor a (VEGF A) as individual prognostic factor in invasive breast carcinoma. Rom J Morph Embryo 2008; 49: 303-08.
 14. Shankar R, Tiwary SK, Khanna R, Kumar M, Khanna AK. Tumor angiogenesis: determined by VEGF expression, MAGS scoring, doppler study, as prognostic indicator in carcinoma breast. Intern J Surg. 2006; 8: 1528-8242.
 15. Linderholm BK, Saal SG, Ferno M, Bendahl PO, Malmstrom P. Vascular endothelial growth factor is a prospective study of premenopausal women with lymph-node negative breast cancer. Breast 2008;5:484-91.
 16. Mohammed RAA, Green A, El-SikhmS, Paish EC, Ellis IO, Martin SG, *et al.* Prognostic significance of vascular endothelial growth factors -A, -C, -D in breast cancer and their relationship with angio- and lymphangiogenesis. Br J Cancer 2007; 96: 1092-100.
 17. Yoshiji H, Gomez DE, Shibuya M, Thorgeirsson UP. Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factors in human breast cancer. Cancer Res. 1996; 56: 2013-6.
 18. Ghasemi M, Emadian O, Naghshvar F, Bekhradnia A, Abediankenari S, Larijani VL, *et al.* Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and its correlation with tumor grade in breast ductal carcinoma. Acta Med Iranica 2011;12:776-9.
 19. Kurebayashi J, Otsuki T, Kunisue H, Mikami Y, Tanaka K, Yamamoto S, *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) family members in breast cancer. Jpn J Cancer Res. 1999; 90: 977-81.
 20. Zhu L, Loo WTY, Louis WCL. PTEN and VEGF: Possible predictors for sentinel lymph node micro-metastasis in breast cancer. Elsevier Masso 2007;61:558-61.
 21. Youuoufian H, Hicklin DJ, Rowinsky EK. Review: monoclonal antibodies to the vascular endothelial growth factor receptor-2 in cancer therapy. Clin Cancer Res 2007;13: 5544-8.
 22. Tortora G, Melisi D, Ciardiello F. Angiogenesis: A Target for Cancer therapy. Curr Pharm. 2004;10:11-26.
 23. Yang SX, Steinberg SM, Nguyen D, Wu TD, Modrusan Z, Swain SM, *et al.* Gene expression profile and angiogenic markers correlate with response to neoadjuvant bevacizumab followed by bevacizumab plus chemotherapy in breast cancer. Clin Cancer Res. 2008; 14: 5893-9.

Hubungan antara Ekspresi VEGF dengan Karakteristik
Huratio Nelson, Heni Maulani, Aida Farida, Mgs. Irsan Saleh

24. Choi CH, Song SY, Choi JJ, Park YA, Kang H, Kim TJ, *et al.* Prognostic significance of VEGF expression in patients with bulky cervical carcinoma undergoing neoadjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2008; 295: 1-7.
25. Lester SC. The breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editor. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia: Saunder Elsevier; 2010.