

**AKURASI KADAR PROTEIN HE4 DAN VEGF-A DALAM  
MENDIAGNOSIS KARSINOMA OVARIUM TIPE EPITEL**

*THE ACCURACY OF HE4 AND VEGF-A PROTEIN LEVELS IN  
EPITHELIAL OVARIAN CANCER DIAGNOSIS*

**NAMIRA BACHTIAR**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU OBSTETRI DAN GINEKOLOGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**AKURASI KADAR PROTEIN HE4 DAN VEGF-A DALAM  
MENDIAGNOSIS KARSINOMA OVARIUM TIPE EPITEL**

TESIS

Sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Pendidikan  
Dokter Spesialis dan mencapai sebutan Spesialis Obstetri dan  
Ginekologi

Disusun oleh

**NAMIRA BACHTIAR**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU OBSTETRI DAN GINEKOLOGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



**TESIS****AKURASI KADAR PROTEIN HE4 DAN VEGF-A DALAM MENDIAGNOSIS  
KARSINOMA OVARIUM TIPE EPIHEL**

Disusun dan diajukan oleh :

**NAMIRA BACHTIAR**

Nomor Pokok : P1507213028

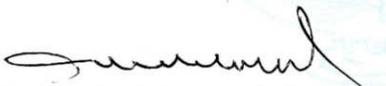
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 5 Maret 2018

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**MENYETUJUI**

**KOMISI PENASEHAT**

  
**Prof Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp. OG(K)**  
Ketua

  
**Dr. dr. Eddy R. Moeljono, Sp. OG(K)**  
Anggota

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik  
Universitas Hasanuddin

  
**Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc**

  
Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin  
  
**Prof. Dr. Ir. Jamaluddin, M.Sc**



## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : **Namira Bachtiar**

No. Pokok :C105213107

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Februari 2018

Yang menyatakan

**Namira Bachtiar**



## PRAKATA

Dengan memanjatkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmat serta inayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagaimana mestinya sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis 1 pada Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis bermaksud memberikan informasi ilmiah mengenai Akurasi Kadar Protein He4 Dan Vegf-A Dalam Mendiagnosis Karsinoma Ovarium Tipe Epitel yang dapat menjadi bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **Prof.Dr. dr.Syahrul rauf, SpOG(K)** sebagai pembimbing I dan **Dr. dr. Eddy R. Moeljono, SpOG(K)** sebagai pembimbing II atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada **Dr. dr. St. Maisuri T. Chalid, Sp. OG(K)** sebagai pembimbing statistik yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam bidang statistik dan pengolahan data dalam penelitian ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada **Prof.Dr. dr.Nusratuddin Abdullah, Sp.OG (K)** dan **Dr. dr. Efendi Lukas, Sp. OG(K)** sebagai penyanggah yang memberikan kritik dan saran dalam menyempurnakan penelitian ini.

Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kepala Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin **Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp.OG(K)** (periode Maret 2017 sampai sekarang); Ketua Program Studi **Dr. dr. Deviana Soraya Riu, Sp.OG(K)**; Sekretaris Program Studi, **dr.**



**Nugraha Utama Pelupessy, Sp.OG(K)**, seluruh staf pengajar beserta pegawai di Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang memberikan arahan, dukungan dan motivasi kepada penulis selama pendidikan.

2. Penasihat akademik penulis **dr. Ny. Josephine, L.TSp.OG(K)** (Periode Juli 2013 sampai Mei 2019 ) dan **Dr. dr.Deviana Soraya Riu, Sp.OG(K)**(Periode Juli 2013 sampai sekarang) yang telah mendidik dan memberikan arahan selama mengikuti proses pendidikan.
3. Teman sejawat peserta PPDS-1 Obstetri dan Ginekologi khususnya angkatan Juli 2013 atas bantuan dan kerjasamanya selama proses pendidikan
4. Paramedis dan staf Departemen Obstetri dan Ginekologi di seluruh rumah sakit jejaring atas kerjasamanya selama penulis mengikuti pendidikan.
5. Kedua orang tua tercinta **Drs.Bachtiar Saruddin, Apt SpFRS** dan **Dra.Rena Bachtiar,Apt**, suami **Muh. Praja Mukti, S.Rukka, S.STP** dan anak **A. M. Alrescha Mahareswara Pallawagau** yang telah setia menemani dan memberikan restu serta dukungan untuk penulis melanjutkan pendidikan, disertai dengan cinta, doa, kasih sayang dan kesabaran yang luar biasa selama penulis menjalani pendidikan.



Semoga tesis ini memberikan manfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya serta Ilmu Obstetri dan Ginekologi pada khususnya di masa yang akan datang.

Makassar, Februari 2018

**Namira Bachtiar**



## ABSTRAK

**NAMIRA BACHTIAR.** Akurasi Pemeriksaan Kadar Protein HE-4 dan VEGF-A dalam Mendiagnosis Karsinoma Ovarium Tipe Epitel (dibimbing oleh Syahrul Rauf dan Eddy R. Moeliono).

Penelitian ini bertujuan menilai akurasi pemeriksaan kadar protein HE-4 dan VEGF-A dalam mendiagnosis karsinoma ovarium tipe epitel.

Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik dengan rancangan potong lintang yang dilakukan sejak Januari sampai dengan Desember 2016. Sampel penelitian yang didapatkan sebanyak 37 penderita karsinoma ovarium tipe epitel dan 37 sampel penderita kista ovarium sebagai kelompok kontrol yang menjalani operasi diRS Wahidin Sudirohusondo dan beberapa rumah sakit lain di Makassar. Mereka memenuhi kriteria inklusi. Pemeriksaan kadar protein HE-4 menggunakan metode CMIA, sedangkan protein VEGF-A menggunakan uji Elisa.

Hasil penelitian menunjukkan penderita karsinoma ovarium tipe epitel tinggi pada usia nonreproduksi (<20 dan >35 tahun). Pada penelitian ini juga didapatkan peningkatan kadar protein HE-4 dan VEGF-A secara signifikan pada penderita karsinoma ovarium tipe epitel dibandingkan kelompok kontrol, yaitu kista ovarium. Nilai *cut of point* protein VEGF-A 242 pg/ml didapatkan sensitivitas 78,4% dan spesifisitas 43,2% dan nilai *cut of point* protein HE-4 70 pmol/L didapatkan sensitivitas 91,9% dan spesifisitas 43,2% pada karsinoma ovarium tipe epitel. ROC-AUC kadar protein VEGF-A dan HE-4 (0,832 vs 0,875).

Kata kunci: *vascular endothelial-A (VEGF-A)*, *human epididimis 4 (HE-4)*, karsinoma ovarium tipe epitel, kista ovarium



## ABSTRACT

**NAMIRA BACHTIAR.** *The Accuracy of Content Examination of Proteins HE4 and VEGF-A in Diagnosing Epithelia Type Ovary Carcinoma* (supervised by Syahrul Rauf and Eddy R. Moeljono).

The research aimed to assess the accuracy of the content examination of the proteins HE4 and VEGF-A in diagnosing the epithelia type ovary carcinoma.

This was the diagnostic test research with the cross sectional design conducted from January to December 2016. The research samples were 37 epithelia type ovary carcinoma patients and 37 samples of the ovary cyst patients as the control group undergoing the surgeries in Wahidin Sudirohusodo Hospital and several other hospitals in Makassar which fulfilled the inclusive criterion. The content examination of the protein HE4 used CMIA method and protein VEGF-A used ELISA test.

The research result indicates that the ovary carcinoma patients of the high epithelia type are in the non-productive ages (<20 and > 35 years old). The research also indicates that the contents of the proteins HE4 and VEGF-A increase significantly on the epithelia type ovary carcinoma patients compared with the control group namely the ovary cyst. The value of the cut of point of the protein VEGF-A is 242 pg/ml indicating the sensitivity of 78.4% and specificity of 43.2%. The value of the cut of point of the protein HE4 is 70 pmol/L indicating the sensitivity of 91.9% and specificity of 43.20 on the epithelia type ovary carcinoma. The contents of ROC-AUC of the proteins VEGF-A and HE4 are (0.832 Vs 0.875).

**Key words:** Vascular Endothelial-A (VEGF-A), Human Epididymis 4 (HE4), epithelia type ovary carcinoma, ovary cyst.



## DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAN KEASLIAN	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR ARTI LAMBANG / SINGKATAN	xviii
BAB I           PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II           TINJAUAN PUSTAKA	
A. Kanker Ovarium	5
1. Etiologi	5
2. Histopatologi Kanker ovarium tipe Epitel	12
3. Stadium Kanker Ovarium	17



	B. Human Epididimis 4 (HE4)	18
	C. Struktur dan Distribusi Human Epididimis 4 (HE4)	19
	D. Peranan HE4 Dalam Kanker ovarium	20
	E. Struktur Vascular Endotel Growth Factor (VEGF)	23
	F. Reseptor VEGF	25
	G. Sinyal Autokrin VEGF	28
	H. Peranan VEGF dalam Kanker Ovarium	32
	I. Kerangka Teori	34
	J. Kerangka Konsep	35
	K. Definisi Operasional	36
BAB III	METODE PENELITIAN	
	A. Rancangan Penelitian	39
	B. Tempat dan Waktu Penelitian	39
	C. Populasi dan Sampel Penelitian	39
	D. Kriteria Sampel	41
	E. Izin Penelitian dan Ethical Clearance	41
	F. Cara Kerja	42
	G. Alur Penelitian	47
	H. Pengolahan dan Analisis Data	48
	I. Anggaran Penelitian	48
	J. Waktu Penelitian	48
	K. Personalia Penelitian	49
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
	A. Hasil Penelitian	50
	B. Pembahasan	50
	V SIMPULAN DAN SARAN	63
	TAR PUSTAKA	64
	PIRAN	66



## DAFTAR TABEL

Nomor		halaman
1	Stadium kanker ovarium menurut FIGO tahun 2014	17
2	Distribusi Karakteristik Populasi Penelitian	50
3	Hubungan Peningkatan Kadar protein VEGF-A dan HE4 terhadap Kanker Ovarium tipe Epitel	51
4	Tabel Tabulasi silang Kadar Protein VEGF-A	53
5	Tabel Tabulasi silang Kadar Protein HE4	53
6	Kriteria diagnostik kadar protein VEGF-A dan HE4 pada kanker ovarium tipe epitel	54



**DAFTAR GAMBAR**

<b>Nomor</b>		<b>halaman</b>
1	Struktur kromosom	20
2	Mekanisme WAP dalam pertumbuhan tumor	22
3	ROC-Curve	52



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		halaman
1	Naskah Penjelasan Untuk Responden	69
2	Surat Persetujuan Mengikuti Penelitian	71
3	Formulir penelitian	73
4	Analisis penelitian	75
5	Rekomendasi Persetujuan Etik	79



## DAFTAR ARTI LAMBANG / SINGKATAN

Lambang / singkatan	Arti dan keterangan
Ca - 125	<i>Cancer Antigen - 125</i>
HE4	<i>Human pididymis protein-4</i>
WFDC	<i>Whey acidic four-disulfide core</i>
VEGF- A	Vascular endothelial growth factor
BOT	<i>Bordeline ovarium tumor</i>
EOC	<i>Epitelial ovarium cancer</i>
STICs	<i>Serous Tubal Intraapithelial Carcinomas</i>
TICs	<i>Tubal Intraepithelial Carcinomas</i>
BRCA	<i>Breast cancer susceptibility gene</i>
MHT	<i>Menopausal Hormone Therapy</i>
FSH	<i>Follicle stimulating hormone</i>
LH	<i>Luteinizing hormone</i>
HNPCC	<i>Hereditary nonpoliposus colorectal cancer</i>
BRCA-1	<i>Breast Cancer gene-1</i>
FIGO	<i>Federation Internationale de Gynecologie et de Obstetrique</i>
TSV	Ultrasonografi transvaginal
NF <sub>κ</sub> B	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
VEGF	Vascular Endotel Growth Factor
MMP	Matriks Metalloproteinase
uPA	urokinase-type plasminogen actifator
TKRs	reseptor tirosin kinase
	<i>Predictive value of positif</i>
	<i>Proteoglikan sulfat heparin</i>
	<i>enzim-linked immunosorbent assay</i>



Gs  
A

SST

*Serum separator*

PV

*Predictive value of positif*



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kanker ovarium merupakan penyebab tersering kematian yang disebabkan kanker pada organ reproduksi, dan menduduki peringkat keempat penyebab kematian dari segala jenis keganasan di Eropa dan Amerika. Di Indonesia, kanker ovarium menduduki peringkat keenam setelah kanker serviks uteri, payudara, kolorektal, kulit dan limfoma. Penelitian di RS Cipto Mangunkusumo ( tahun 1989- 1995) ditemukan kanker ovarium jenis epitel pada 55,98% kasus sedangkan kanker ovarium nonepitel mencakup 44,02%. Diagnosis penderita kanker ovarium umumnya terlambat ditegakkan dan hanya sekitar 20-35% yang dapat didiagnosis pada stadium awal, hal ini disebabkan pada stadium awal kanker ovarium bersifat asimtomatik dan biasanya kanker ovarium akan dapat dideteksi pada stadium lanjut sekitar 75% dimana didapatkan adanya pembesaran perut disertai asites, obstruksi parsial pada kolon dan didapatkan pula adanya penyebaran (metastasis) baik pada organ sekitar, kelenjar limfe maupun penyebaran (metastasis) jauh. Hal ini menyebabkan prognosis dari kanker ovarium buruk, karena tindakan pembedahan dan terapi pada stadium ini memiliki angka harapan hidup yang (RIMAN 2004; COLOMBO 2006; SARWONO 2016).



Angka harapan hidup 5 tahun (*5 years survival rate*) pada kanker ovarium tergantung dari stadiumnya, pada stadium awal sekitar 80-90 % sedangkan pada stadium lanjut hanya berkisar 30%(Jacobs. 2004; Colombo N 2006; Rein 2011).

Saat ini biomarker ca125 yang paling sering digunakan untuk mendiagnosis kanker ovarium dimana biomarker ini merupakan suatu glikoprotein dengan berat molekul yang tinggi. Namun kadar biomarker ini juga tinggi pada keadaan yang jinak seperti endometriosis dan fibroid (Rein 2011)

Oleh karena itu dikembangkan penanda tumor yang dapat digunakan sebagai tambahan pemeriksaan penunjang dalam mendiagnosis kanker ovarium tipe epitel. Sebuah penanda tumor baru yaitu serum HE4 (*Human epididymis protein-4*) dikembangkan oleh Fujirebio Diagnostic Inc pada tahun 2007 untuk mendeteksi kanker ovarium terutama pada stadium awal. *Human epididymis protein-4*(HE4) adalah protein yang secara ekspresinya meningkat di dalam serum penderita kanker ovarium(Huhtinen 2009; Kalapotharakos 2012; O Hamed 2013).

*Human Epididymis 4* (HE4) merupakan protein yang terdiri dari gugus asam dengan inti 4-disulfida (*whey acidic four-disulfide core/WFDC*) yang diduga bersifat penghambat tripsin. Penelitian secara in vitro dengan pengembangan WAP cDNA menunjukkan fungsi yang bervariasi, masuk efek terhadap pertumbuhan sel dan differensiasi sel. *Human Epididymis 4* (HE4) merupakan satu dari beberapa protein WAP yang



berlokalisasi pada kromosom manusia 20q12-13.1. Hasil dari beberapa perbandingan assay hibridisasi genetik menunjukkan bahwa lokus 20q13 sering menunjukkan variasi kromosom pada tipe kanker, termasuk diantaranya keganasan pada rongga mulut, mammae, ovarium, kolon, pankreas, lambung dan uterus(Bouchard 2006; Li 2009; Speeckaert 2013).

Pada keganasan ovarium terjadi proses angiogenesis akibat ketidakseimbangan antara faktor proangiogenik dan antiangiogenik. Salah satu faktor proangiogenik yang meningkat adalah VEGF(Vascular endothelial growth factor), VEGF-A. VEGF yang dihasilkan menyebabkan proliferasi, migrasi, stabilisasi dan mobilisasi sel-sel progenitor endotel dari sumsum tulang(Yamamoto, Konishil Et Al. 1997; Cooper, Ritchie Et Al. 2002; Deanna G.K. Teoh And Angeles Alvarez Secord 2011).

Selain itu pada kanker ovarium ditemukan meningkatnya ekspresi VEGF-A dan KDR yang memungkinkan aktivasi lingkaran autokrin pada sel-sel kanker yang berperan dalam melindungi sel-sel kanker dalam proses anoikis. Kami menemukan bahwa reseptor KDR dan ligan VEGF-A meningkat pada sel-sel kanker(SIRIN A ADHAM. FEBRUARY 2009).



## B. Rumusan Masalah

1. Apakah Kadar Protein HE4 dan VEGF-A akurat dalam mendiagnosis kanker ovarium tipe epitel
2. Bagaimana perbedaan akurasi antara kedua kadar protein tersebut.

## C. Tujuan Penelitian

### 1. Tujuan Umum

Mengetahui keakuratan protein HE4 dan VEGF-A dalam menentukan kanker ovarium tipe epitel

### 2. Tujuan Khusus

- a. Mengukur sensitifitas dan spesifisitas protein HE4
- b. Mengukur sensitifitas dan spesifisitas pemeriksaan protein VEGF-A
- c. Membandingkan sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan protein HE4 dan VEGF-A dalam mendiagnosis kanker ovarium tipe epitel

## D. Manfaat Penelitian

Setelah penelitian ini, diharapkan dapat bermanfaat antara lain :

1. Hasil penelitian ini dapat menambah ilmu pengetahuan tentang kadar protein HE4 dan VEGF-A
2. Kadar protein HE4 dan VEGF-A dapat menjadi alternatif pemeriksaan penunjang yang sudah ada sebelumnya.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. KankerOvarium

##### 1.Etiologi

Kanker ovarium termasuk dalam lima kanker yang terbanyak pada wanita atau 5% dari semua kanker pada wanita dan menduduki urutan kelima penyebab kematian pada wanita karena kanker. Pada tahun 2007 di Amerika Serikat terdapat 22.430 kasus baru kanker ovarium dengan angka kematian yang mencapai kurang lebih 15.280 wanita setiap tahun (COLOMBO N 2006).

Gejala klinis dari kanker ovarium tidak spesifik, pada kanker ovarium tipe epitelial biasanya tanpa gejala untuk waktu yang lama dan bila menimbulkan gejala biasanya tidak jelas dan tidak spesifik sehingga 75% kanker ovarium pada saat didiagnosis telah berada pada stadium lanjut dan telah menyebar di luar ovarium atau telah mengalami penyebaran (metastase) jauh. Angka harapan hidup lima tahun pada stadium awal 80-90% dan 25% pada stadium lanjut (BEREK 2002; RIMAN 2004).

Kanker ovarium merupakan kumpulan tumor dengan histogenesis yang beraneka ragam dapat berasal dari epitelial, sel, sel stroma sex cord. Pada kanker ovarium 90% merupakan tipe epitelial, ± 15% nya merupakan tipe *bordeline ovarian tumor* (BOT) dan



85% adalah tipe *invasive epithelial ovarium cancer* (EOC). Pada stroma ovarium BOC dan EOC mempunyai sifat yang berlawanan, dimana pada BOT terjadi pada wanita yang lebih muda, gejala akan tampak pada stadium yang lebih dini dan kemampuan untuk metastase kurang bila dibandingkan dengan EOC, sehingga mempunyai prognosis lebih baik bila dibandingkan dengan EOC (BEREK 2002; RIMAN 2004).

Kanker ovarium jenis epitelial merupakan jenis kanker ovarium yang paling sering ditemukan dan berkembang dari sel epitel permukaan yang multifaktorial, dari beberapa laporan penelitian diduga adanya keterkaitan beberapa faktor yang berhubungan dengan kanker ovarium, diantaranya adalah faktor lingkungan, diet, reproduksi, endokrin dan faktor herediter (BEREK 2002b; KRAMER and GRENEE 2004b; BUSMAR 2006b).

Penelitian untuk mengungkap patogenesis kanker ovarium semakin berkembang. Banyak teori yang diusulkan untuk menjelaskan terjadinya kanker ovarium yaitu:

a. STICs (Serous tubal intraepithelial carcinomas)

Kanker ovarium tipe serosa merupakan kanker ovarium yang paling sering ditemukan diantara jenis kanker ovarium tipe lain. Pada tahun 2001, Peneliti dari Belanda menggambarkan tubal intraepithelial carcinomas (TICs) yang kemudian disebut dengan Serous tubal intraepithelial carcinomas (STICs) pada tuba fallopi yang menyerupai kanker ovarium tipe serosa pada wanita yang memiliki faktor



predisposisi genetik terjadinya kanker ovarium. Kegagalan mengidentifikasi kanker tuba di masa lalu dikarenakan ada asumsi bahwa prekursor terjadinya kanker ovarium berasal dari ovarium sehingga tuba fallopi tidak diperiksa secara seksama. Tambahan penelitian dimana tuba fallopi diperiksa menyatakan bahwa invasi awal karsinoma tuba tidakhanya terdapat pada wanita yang memiliki faktor genetik terjadinya kanker ovarium tetapi juga dapat terjadi pada wanita tanpa mutasi BRCA dengan insiden 50-60%. Bukti lain yang menunjang teori STICs adalah ekspresi gen kanker ovarium tipe serosa lebih berhubungan dengan epitel tuba fallopi dibanding epitel ovarium dan penelitian imunohistokimia menunjukkan kanker ovarium tipe serosa mengekspresikan PAX8, marker mulleri, tetapi bukan kalretinin, marker mesotel (permukaan epitel ovarium memiliki fenotip morfologi mesotel dan bukan fenotip mulleri). Baik STICs maupun kanker ovarium tipe serosa mengekspresikan co-ekspres P53 p16, FAS, Rsf-1, dan siklin E1 (PAGE, HUNTSMAN ET AL. 2010).

b. Hipotesis Incessant Ovulation

Teori ini pertama kali diperkenalkan oleh Fathalla pada tahun 1972. Perusakan dan perlukaan sel pada epitel ovarium yang terjadi pada setiap ovulasi memerlukan waktu untuk memperbaiki bentuk supaya dapat kembali seperti semula, tanpa periode istirahat yang adekuat proses perbaikan akan menjadi terganggu, hal ini dapat mencetuskan perubahan bentuk menjadi ganas. Setiap siklus haid perlukaan dan



perbaikan sel dapat meningkatkan kemungkinan salah fungsi dari DNA repair. Proses ini mendasari kemungkinan terjadinya mutasi spontan. Biologi molekuler menyatakan bahwa kanker ovarium terjadi akibat mutasi genetik berulang yang dapat mentransformasi sel normal menjadi sel ganas, perubahan yang terjadi dapat diakibatkan oleh adanya aktivitas onkogen seluler, amplifikasi gen, *point mutation*, mutasi atau kehilangan materi kromosom (BEREK 2002; KRAMER and GRENEE 2004; BUSMAR 2006a).

c. Hipotesis Gonadotropin

Peningkatan level gonadotropin dalam sirkulasi, meningkatkan risiko untuk terjadinya kanker ovarium. Menurut teori Cramer dan Welch bahwa peningkatan kadar gonadotropin menyebabkan ovarium mensekresi estrogen yang mana dapat menyebabkan proliferasi dan transformasi dari sel epitel ovarium. Keadaan ini dipercaya banyak terjadi pada awal postmenopause, dimana kanker ovarium juga banyak terjadi pada wanita dengan usia postmenopause (BEREK 2002; KRAMER and GRENEE 2004; BUSMAR 2006a).

d. Hipotesis Androgen

Teori ini pertama kali ditemukan oleh Risch 1998, berdasarkan pada sel epitel ovarium mengandung reseptor androgen yang dapat memberikan respon dari sinyal androgenik. Penelitian invitro mengatakan bahwa androgen dapat menstimulasi pertumbuhan dari sel epitel ovarium normal sama baiknya dengan pertumbuhan dari sel



kanker ovarium, hal ini didukung oleh penelitian kasus kontrol, didapatkan kadar androgen yang tinggi (*androstenedion* dan *dehydroepiandrosterone*) pada wanita yang menderita kanker ovarium dibandingkan dengan kontrol. *Polycystic ovary syndrome* juga terdapat peningkatan kadar androgen yang diikuti dengan peningkatan risiko kanker ovarium (BEREK 2002; KRAMER and GRENEE 2004; BUSMAR 2006a).

e. Hipotesis Progesteron

Progesteron mempunyai peran protektif terhadap terjadinya kanker ovarium. Progesteron menginduksi terjadinya apoptosis sel epitel ovarium, sedangkan estrogen menghambatnya (BUSMAR 2006b).

f. Paritas

Penelitian menunjukkan bahwa wanita dengan paritas yang tinggi memiliki risiko terjadinya kanker ovarium yang lebih rendah dari pada *nullipara*, pada wanita yang mengalami 4 atau lebih kehamilan aterm, risiko terjadinya kanker ovarium berkurang sebesar 40% jika dibanding *nulipara* (BUSMAR 2006a)

g. Pil kontrasepsi

Penelitian dari *center for disease control* menemukan penurunan risiko kanker ovarium sebesar 40% pada wanita usia 20-54 tahun, dimana efek protektif ini makin baik dengan makin lama wanita menggunakan pil kontrasepsi, bahkan efek protektif ini terus



berlangsung hingga 10 tahun setelah pil dihentikan (BAZIAD 2002; BUSMAR 2006a).

h. Talk

Pemakaian talk (*hydrous magnesium silicate*) pada daerah perineum dilaporkan meningkatkan risiko terjadinya kanker ovarium dengan risiko relatif 1.9 %; akan tetapi penelitian prospektif yang mencakup kohort 78.000 wanita ternyata tidak mendukung teori di atas (BUSMAR 2006b).

i. Ligasi Tuba

Dengan pengikatan tuba akan menurunkan risiko terjadinya kanker ovarium dengan terputusnya akses talk atau karsinogen lainnya dengan ovarium (BUSMAR 2006b).

j. Terapi Hormon Pengganti pada Masa Menopause

Pemakaian terapi hormon pengganti pada masa menopause (*Menopausal Hormone Therapy = MHT*) dengan estrogen saja selama 10 tahun meningkatkan risiko relatif 2.2; sementara itu, jika masa pemakaian MHT selama 20 tahun atau lebih, risiko relatif meningkat menjadi 3.2. Pemakaian MHT dengan estrogen yang kemudian diikuti dengan pemberian progestin, ternyata masih menunjukkan meningkatnya risiko relatif menjadi 1.5 (COLOMBO N 2006; BUSMAR 2006b).

bat-obat yang Meningkatkan Kesuburan



Obat-obat yang meningkatkan fertilitas seperti klomifen sitrat, yang diberikan secara oral, dan obat – obat gonadotropin yang diberikan dengan suntikan seperti *Follicle stimulating hormone* (FSH), kombinasi FSH dengan *Luteinizing hormone* (LH), akan menginduksi terjadinya ovulasi atau multipel ovulasi(BUSMAR 2006b).

#### I. Faktor Herediter

Berdasarkan Studi kanker ovariumgenetik, faktor herediter memegang peranan  $\pm$  5-10%, dikaitkan dengan *The breast-ovarian syndrome* dan *hereditary nonpoliposus colorectal cancer* (HNPCC) atau sindroma Lynch II. Sebagian besar disebabkan oleh mutasi BRCA-1 (*Breast Cancer gene-1*)  $\pm$  90-95% Mutasi gen BRCA1 (*carier*), bersifat autosomal dominan, mempunyai risiko (40-60%) yang akan berkembang menjadi kanker ovarium selama masa hidupnya. HNPCC merupakan suatu autosomal dominan yang dihubungkan dengan DNA *missmatch repair*(PALEY 2001; KRAMER and GRENEE 2004b; COLOMBO N 2006).

### 1. Gejala dan Tanda Kanker Ovarium

Pada stadium dini gejala-gejala kanker ovarium tidak khas sehingga lebih dari 70% penderita ditemukan sudah dalam stadium lanjut.

Bila penderita dalam usia perimenopause, keluhan mereka adalah haid yang tidak teratur. Bila massa tumor telah menekan kandung kemih atau ureter, keluhan sering berkemih dan konstipasi akan muncul. Kadang-kadang gejala seperti distensi perut sebelah bawah, rasa tertekan, dan



nyeri dapat pula ditemukan. Pada stadium lanjut ini gejala-gejala yang ditemukan umumnya berkaitan dengan adanya asites, metastasis ke omentum atau metastasis ke usus(BUSMAR, 2006a; BEREK, 2007).

Tanda paling penting adanya karsinoma ovarium adalah ditemukannya massa tumor di pelvis. Bila tumor tersebut padat, bentuknya irreguler dan terfiksir ke dinding panggul, keganasan perlu dicurigai. Bila di bagian atas abdomen ditemukan juga massa dan disertai asites, keganasan hampir dapat dipastikan(BEREK,2007).

Menurut Piver perhatian khusus harus diberikan jika ditemukan kista ovarium berdiameter>5cm karena pada 95% kasus kanker ovarium, tumornya berdiameter>5cm(BUSMAR). Berek mengambil batasan ukuran kista 8 cm. Jika kista tersebut berukuran>8cm, sangat mungkin kista tersebut suatu neoplasma, bukan kista fungsional(BEREK, 2002b).

## **2. Histopatologi Kanker ovarium tipe Epitel**

Kanker ovarium dibagi atas kanker ovarium tipe epitelial, selgerminativum, sel stromal dan sex cord, sel lipid, sarkoma dan tumor metastasis. Secara histopatologi kanker ovarium terdiri dari beberapa klasifikasi yaitu kanker ovarium tipe epitelial merupakan kanker ovarium yang terbanyak 65%(BEREK 2002).

### **Kanker Ovarium Epitel**

Kanker ovarium epitelial tumbuh dari serosa ovarium, kavum celomic untuk selama masa embrionik yang dibatasi oleh mesotelium yang asal dari mesoderm. Bagian mesotelium akan membentuk epitel



serosa yang menutupi daerah gonad. Selama pertumbuhan ovarium, permukaan epitel akan meluas ke dalam stroma ovarium dan membentuk kelenjar dan kista, jika terjadi perubahan menjadi ganas, maka dapat terlihat berbagai macam diferensiasi Mullerian. Tipe dari epitel ini seperti lesi tipe serosa, musinosa, endometroid, *clear cell*, sel transisional, dan epitel campuran. Tipe sel ini dapat jinak, borderlinedan lesi yang ganas. Kanker ovarium epitelial ditemukan lebih dari 80% pada wanita pascamenopause. Usia 62 tahun adalah usia rata-rata dimana kanker ovarium epitelial paling sering ditemukan. Pada usia kurang dari 21 tahun kanker ini sangat jarang ditemukan, sedangkan kanker ovarium jenis sel germinal lebih sering ditemukan, yaitu pada lebih dari dua pertiga kasus (BEREK 2002).

### 1. Tumor ovarium epitel serosa

Hampir setengah dari semua tumor epitelial adalah neoplasma serosa. Setengah dari tumor tersebut adalah jinak, seperenam borderline, dan sepertiganya adalah ganas. Pasien pada usia muda cenderung menunjukkan suatu lesi yang jinak dan borderline (BEREK 2002; JACOBS. 2004).

Kanker epitel jenis serosa sekitar 40-50% dari kanker ovarium, hampir 60% bilateral, terjadi pada usia 50-60 tahun. Secara mikroskopis berupa kistik padat atau dominan padat dan ditutupi bagian papiler. Kasus papiler yang mempunyai diferensiasi baik, sedangkan yang dominan padat seringkali mempunyai diferensiasi buruk (PERRY 2003; JACOBS. 2004).



## 2. Tumor ovarium epitel musinosa

Kira-kira sepertiga (36%) tumor epitel ovarium adalah musinosa, 81 % dari tumor ini adalah jinak dan kira-kira seperenam yang borderline. Hanya 5% tumor epitel musinosa yang ganas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tumor tersebut kemungkinan berasal dari apendiks yang metastase ke ovarium, atau mungkin bersama-sama dengan tumor primer. Berdasarkan alasan ini, maka apabila secara histologi tipe musinosa ditemukan sebagai tumor ovarium *borderline* atau ganas, appendektomi dilakukan sebagai bagian dari prosedur bedah. Tumor musinosa dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu : 1) tipe intestinal (Goblet sel, neuroendokrin), 2) tipe endoservik (mulleri) ditandai dengan serosalining yang menyerupai endoservi(JACOBS 2001; PERRY 2003).

Tumor musinosa jinak pada umumnya terjadi pada usia 30-50 tahun, jarang bilateral, ukurannya besar dan sering mengalami putaran tangkai. Secara makroskopis multilokuler, berisi cairan kental dan mikroskopis tumor serosa dilapisi satulapis epitel kolumnar dengan sitoplasma mengandung musin, kecil dan inti terletak di dasar(JACOBS 2001).

## 3. Tumor ovarium endometrioid

Tumor endometrioid sekitar 8% dari seluruh tumor jenis epitelial. Jarang tumor endometrioid yang bersifat jinak. Sebagian besar tumor tersebut adalah ganas, dan seperlima *borderline*. Secara histologi, tumor tersebut menyerupai adenokarsinoma endometrium. Kriteria tumor endometrioid borderline belum jelas, hanya bila ditemukan lebih banyak



kelenjar yang terlibat dengan derajat kompleksitas lebih besar dibanding yang tampak pada adenofibroma. Tumor ovarium endometroid disertai dengan karsinoma endometrium sekitar 25 % kasus dan 10% kasus disertai dengan endometriosis(JACOBS 2001).

### **3.Tumor ovarium sel jernih (*Clear cell*)**

Tumor sel jernih (*clear cell*) jarang ditemukan dan merupakan 3% dari tumor epitelial dan biasanya terjadi sekitar perimenopause dan pascamenopause. Tumor tersebut hampir seluruhnya ganas, dan kira-kira 50% kasus disertai dengan endometriosis. Secara makroskopis mempunyai konsistensi kistik padat atau padat dan sekitar 40% terjadi bilateral. Secara histologi tumor khas dengan “*sel hobnail*” dan sel *clear* ini menunjukkan bahwa tumor tersebut sifatnya lebih agresif dibanding sub tipe histologi lain, namun hal ini masih kontroversial(JACOBS 2001).

### **4.Tumor Ovarium Sel Transisional (Brenner)**

Tumor sel transisional hanya sebagian kecil dari tumor epitelial (2%). Tumor diduga berasal dari metaplasia sel transisional dan sering terjadi pada usia 50-60 tahun. Karsinoma sel transisional dianggap berdiri sendiri. Tumor ini berbeda dengan tumor Brenner yang ganas yang berasal dari tumor Brenner yang sebelumnya jinak atau proliferasif. Karsinoma sel transisional cenderung lebih agresif dibanding tumor Brenner yang ganas dan terutama tampak pada stadium lanjut(BEREK 2002).



#### **4. Tumor Ovarium Campuran dan *Undifferentiated***

Kanker campuran adalah gabungan antara dua atau lebih kanker yang berbeda dan masing-masing komponen paling sedikit 10% bagian (BEREK 2002).

Berdasarkan klasifikasi WHO tumor tidak terdiferensiasi adalah tumor yang tanpa diferensiasi atau mengalami sedikit diferensiasi dan dikelompokkan dalam tumor epitel tidak terdeferensiasi. Kejadiannya sekitar 14% tumor ovarium yang tergolong sebagai tumor yang tidak mempunyai diferensiasi dan seperlimanya bilateral (BEREK 2002).



### 3. Stadium Kanker Ovarium

Stadium kanker ovarium dibagi berdasarkan kriteria FIGO (*Federation Internationale de Gynecologie et de Obstetrique*).

**Tabel 1. Stadium kanker ovarium menurut FIGO tahun 2014**

<p><b>Stadium I :</b>          Pertumbuhan terbatas pada ovarium          I a : Pertumbuhan terbatas pada 1 ovarium. Tidak ada asites yang berisi sel ganas atau dengan bilasan peritoneum, tidak ada pertumbuhan di permukaan luar, kapsul utuh.          I b : Pertumbuhan terbatas pada kedua ovarium, tidak ada asites berisi sel ganas, tidak ada tumor dipermukaan luar, kapsul utuh.          I c : Tumor terbatas pada satu atau kedua ovarium diikuti          Ic1: kapsul pecah intraoperasi          Ic2:kapsul pecah sebelum operasi atau tumor tumbuh pada permukaan ovarium          Ic3: Asites atau bilasan peritoneum berisi sel-sel ganas</p> <p><b>Stadium II</b>          Pertumbuhan pada satu atau kedua ovarium dengan perluasan ke panggul          IIa: Perluasan dan atau metastasis ke uterus dan atau ketuba          II b: Perluasan ke jaringan intraperitoneal panggul</p> <p><b>Stadium III</b>          Tumor mengenai satu atau kedua ovarium dengan konfirmasi secara mikroskopik terdapat di peritoneum di luar pelvis dan atau metastasis ke kelenjar getah bening regional.          IIIa: Secara mikroskopik tumor terbatas di pelvis          III a1(i) : Metastasis Kelenjar getah bening retroperitoneal, metastasis <math>\leq 10\text{mm}</math>          III a1(ii) : Metastasis Kelenjar getah bening retroperitoneal, metastasis <math>\leq 10\text{mm}</math>          III a : Mikroskopik, metastasis kelenjar getah bening regional diluar rongga pelvik          III b : Makroskopik, di luar rongga pelvik, metastasis kelnjer getah bening retroperitoneal <math>\leq 2\text{cm}</math>. Termasuk metastasis ke kapsul hepar/Limfe.          III c : Makroskopik, di luar rongga pelvik, metastasis kelnjer getah bening retroperitoneal <math>&gt; 2\text{cm}</math>. Termasuk metastasis ke kapsul hepar/Limfe</p> <p><b>Stadium IV:</b>Metastasis jauh (selain rongga peritoneum)          / a : Cairan pleura positif          / b: Metastasis ke organ-organ ekstraabdominal(Parenkim hepar/Limfe)</p>
--



*Grade 1,2,3* adalah didasarkan pada bagaimana sel-sel tampak dibawah mikroskop. Kanker ovarium epitelial grade 1 tampak lebih mirip dengan jaringan normal dan tumbuh lebih lambat. Pasien dengan *grade2* cenderung memiliki prognosis lebih baik. Kanker ovarium epitelial *grade 3* tampak kurang mirip dengan jaringan normal, tumbuh lebih agresif dan biasanya lebih buruk penampakannya(ANDRIJONO, AZIZ MF ET AL. 2006).

Skrining dianjurkan pada kelompok risiko tinggi yang sifatnya individual, yaitu wanita dengan keluarga yang menderita kanker (ovarium, payudara, endometrium dan kolon), biasanya dilakukan pada usia 25-35 tahun. Skrining dilakukan bersamaan dengan Pap smear. Adapun Pemeriksaan penunjang lain yang digunakan untuk skrining yaitu ultrasonografi transvaginal (TSV) dan MUC16/CA-125 serta total inhibin. Pemeriksaan TSV untuk menilai morfologi tumor ovarium yaitu: volume tumor, struktur dinding tumor, dan struktur septum tumor. (ANDRIJONO, AZIZ MF ET AL. 2006)

## **B. Human Epididimis 4 (HE4)**

*Human Epididimis 4*(HE4) merupakan protein yang terdiri dari gugus asam dengan inti 4-disulfida (*whey acidic four-disulfide core/WFDC*) yang diduga bersifat penghambat tripsin. *Human Epididimis 4*(HE-4) pertama

diidentifikasi dari epitel epididimis distal dan diduga sebagai *protease inhibitor* yang terlibat dalam proses pematangan sperma(DRAPKIN 2005; CHARD 2006;SPEECKAERT 2013).



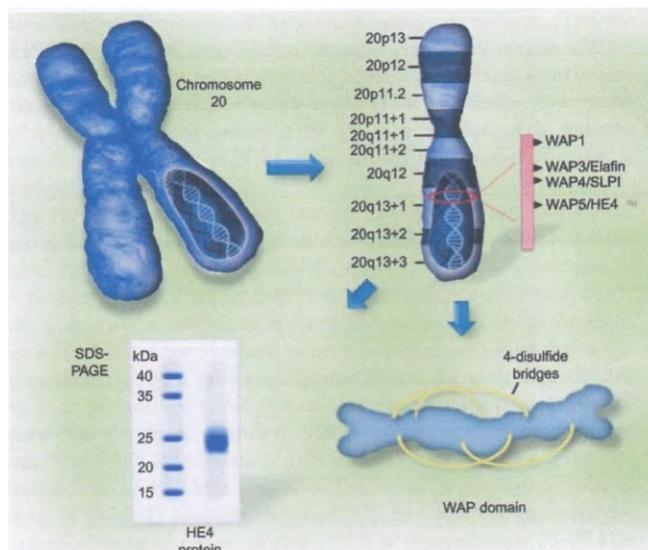
### C. Struktur dan Distribusi Human Epididimis 4 (HE4)

*Human Epididimis 4* (HE4) adalah salah satu dari 14 gen homolog pada kromosom 20q12-13.1 yang mengkode protein dengan WFDC. Dimana WFDC terdiri dari 50 sekuens asam amino dengan delapan *cysteine* residu yang membentuk empat ikatan *disulfide*. Gen HE4 mengkode 13kD protein, walaupun di dalam proses maturasi *glycosylated* membentuk protein kira-kira 20-25 kD. Gen HE4 terletak lebih dari 8kb DNA dan berisi lima *ekson*, dalam struktur ini, panjang intron ketiga adalah lebih dari 8 kb. Domain WAP dikodekan pada *ekson* tunggal, dibentuk 2 dan 4, keseluruhan lengan HE4 adalah hasil penyambungan ekson 1, 2, 4, dan 5. Ekson 3 dan 4 bisa eksis dalam tiga bentuk, dua di antaranya dapat disambung. Gen pada lokus WFDC yang bervariasi didapatkan di seluruh spesies dan mungkin memainkan peran dalam kekebalan alami baik aktivitas sebagai antimikroba dan anti-inflamasi. Protein HE4 mengalami penyambungan alternatif yang kompleks untuk menghasilkan setidaknya lima *isoform*. Pada protein HE4 berisi dua domain WAP, semua isoform protein tambahan ditandai dengan hanya domain WAP tunggal. Kedua WAP protein domain yang mengandung N-terminal, HE4-V1 dan HE4-V4, memiliki urutan C-terminal yang berbeda. Satu C-terminal WAP isoform (HE4-V2) adalah hasil dari penyambungan *ekson* 1 ke *ekson* 4 dan

pertahankan signal peptida yg sama sebagai lengan lengkap HE4, lanjut *C-terminal* WAP domain yang mengandung isoform (HE4-V3)



adalah produk dari *putative alternatif promotor region 5'ekson 4b* dan memiliki urutan baru N-terminal (BOUCHARD,2006).



Gambar 1. Struktur kromosom 20 (dikutip dari Marijim M et al,2013)

Lokus kromosom 20q13 menunjukkan variasi kromosom pada beberapa tipe kanker, seperti keganasan pada rongga mulut, payudara, ovarium, kolon, pankreas, lambung dan uterus. Pada lokus kromosom ini juga mempunyai beberapa protein WAP lain, seperti elafin dan SLPI yang telah digunakan sebagai penanda tumor untuk penyakit keganasan(BOUCHARD 2006; LI 2009; 2012; PARK 2012; SPEECKAERT 2013).

#### D. Peranan HE4 Dalam Kanker ovarium

Semua subtipe sel kanker ovarium mengekspresikan protein WAP,

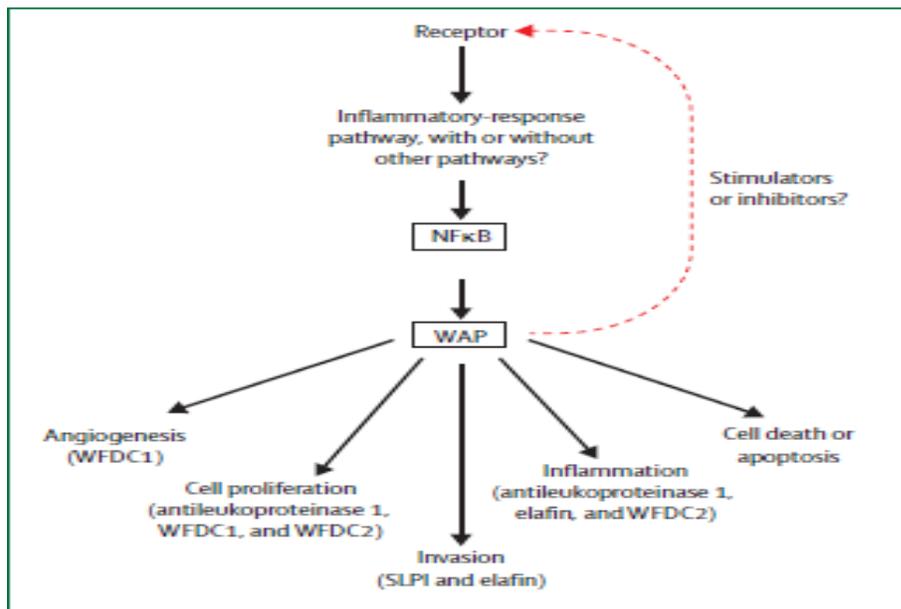
di mana ekspresi SLPI tertinggi pada kanker ovarium tipe clear cell, ekspresinya terjadi untuk WFDC2, selain itu, mungkin WFDC1 menjadi penanda yang berguna untuk pemantauan perkembangan kanker prostat,



regulasi yg rendah dalam stroma berhubungan erat dengan ekspresi dalam epitel dan perkembangan tumor yg lebih agresif;atas dasar bukti saat ini, kami menyimpulkan bahwa protein WAP terlibat dalam proses fisiologis yang sama(BOUCHARD, MORISSET ET AL. 2006).

Peran proangiogenik dari WFDC16 sangat menunjukkan bahwa protein ini, seperti antileukoproteinase 1 dan elafin, juga memiliki peran dalam perbaikan jaringan dan proses perbaikan yang berhubungan dengan respon inflamasi, perkembangan kanker dan invasi oleh sel-sel tumor. Pertumbuhan tumor dan penyembuhan luka yang ditandai dengan proliferasi sel dan motilitas, dan karena itu deregulasi atau aktivasi penyembuhan luka yang tidak sesuai dapat menyebabkan terpicunya pertumbuhan sel tumor. Angiogenesis dan inflamasi juga berkontribusi terhadap perkembangan kanker, peradangan dibutuhkan untuk penyebaran sel tumor, dan neovaskularisasi untuk mempertahankan pertumbuhan tumor(BOUCHARD 2006; LI 2009; SPEECKAERT 2013).





Gambar 2. Mekanisme WAP dalam pertumbuhan tumor (dikutip dari Dominique B et al.2006).

Faktor kunci dalam *angiogenesis*, respon inflamasi, dan karsinogenesis adalah aktivasi NF $\kappa$ B yang merupakan superfamili faktor transkripsi. Jalur signal NF $\kappa$ B memiliki peran dalam beberapa kejadian: Rangsangan negatif dalam regulasi kematian sel, *apoptosis* dan terjadi peningkatan regulasi proliferasi sel, angiogenesis dan invasi sel tumor. Diperkirakan bahwa protein WAP mungkin diatur oleh jalur sinyal yang sangat kompleks dan bercabang, protein ini mungkin juga berkontribusi dalam *downregulation* dan *upregulation* (gambar 2). Promotor PI3 merupakan target langsung dari NF $\kappa$ B. Pengikatan NF $\kappa$ B juga telah diidentifikasi pada promotor WFDC2. Dengan menggunakan algoritma

inspector, kami menemukan ikatan NF $\kappa$ B pada WFDC1, SLPI, dan promotor gen lain yang menyandi protein WAP (yaitu WFDC5, WFDC6, C8, dan WFDC12). Data ini menunjukkan bahwa regulasi positif



transkripsi gen WAP tergantung pada NF $\kappa$ B. *Nuclear factor kappa beta* (NF $\kappa$ B) menginduksi beberapa gen yang terlibat dalam perkembangan siklus sel seperti siklin D1, D2, D3, dan E; hal ini bisa menjelaskan korelasi positif antara ekspresi SLPI dan cyclin D1 pada kanker endometrium. Peningkatan ekspresi cyclin D1 pertama kali dianggap mencerminkan peran *antileukoproteinase 1* dalam melindungi cyclin ini terhadap *proteolitik degradation* (DRAPKIN 2005; BOUCHARD 2006; SPEECKAERT 2013).

#### E. Struktur Vascular Endotel Growth Factor(VEGF)

VEGF mempunyai anggota yaitu VEGF A, VEGF B, VEGF C, VEGF D, VEGF E, PIGF 1, PIGF 2, yang bertindak sebagai ligan dan berikatan dengan reseptor kinase reseptor yang ada di permukaan sel yaitu VEGFR1, VEGFR2, dan VEGFR3. VEGF-A(VEGF), VEGF-B, dan PIGF berikatan dengan VEGFR-1, VEGF-A(VEGF) berikatan dengan VEGFR-2, VEGF-C dan VEGF-D hanya berikatan dengan VEGFR-3 (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

VEGF diproduksi oleh berbagai tipe sel termasuk sel endotel, hematopoiesis, dan sel stroma. VEGF merupakan glikoprotein 45-kDa heparin-binding homodimerik dan dikode oleh gen yang terletak di kromosom 6p21.3, diatur oleh 8 exon, dipisahkan oleh 7 intron. Secara alternatif, gen terbagi menjadi 5 isoform yaitu 121(VEGF<sub>121</sub>), 145(VEGF<sub>145</sub>), 165(VEGF<sub>165</sub>), 189(VEGF<sub>189</sub>), dan 206(VEGF<sub>206</sub>). Adanya perbedaan isoform memberikan perbedaan kemampuan dalam mengikat



heparin yang berperan dalam kecepatan difusi. VEGF<sub>206</sub> merupakan isoform yang paling kuat berikatan dengan heparin, sebaliknya pada isoform VEGF<sub>121</sub>. VEGF<sub>165</sub> merupakan isoform protein yang paling banyak dan mitogen yang terdiri dari matriks ekstraseluler dan protein difus yang bebas, VEGF<sub>189</sub> dan VEGF<sub>206</sub> adalah isoform yang mengikat heparin yang mungkin juga dapat mengalami proteolisis ekstraseluler dan menghasilkan fragmen yang difus sehingga protein-protein VEGF dapat berperan dalam pembentukan sel-sel endotel melalui mekanisme pembelahan proteolisis (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Secara In vitro, VEGF mencegah terjadinya apoptosis dengan aktivasi jalur fosfatidylinositol (PI)3 kinase(K)/Akt dan induksi ekspresi protein anti apoptosis Bcl-2 dan A1 pada sel-sel endotel (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

VEGF juga dapat menyebabkan permeabilitas vaskuler meningkat yang dimediasi oleh pembentukan organel-organel vesikuler-vakuolar pada sel-sel endotel, yang akhirnya melebur menjadi membran sel, membentuk lumen pembuluh darah (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

VEGF juga terlibat dalam degradasi matriks ekstraseluler (ECM), menyebabkan proliferasi dan migrasi sel-sel endotel yang pada akhirnya membentuk pembuluh-pembuluh darah baru. Proses ini melibatkan faktor Metalloproteinase (MMP) dan urokinase-type plasminogen activator (uPA). VEGF berperan sebagai salah satu inducer utama dalam



mengekspresikan enzim-enzim proteolitik. VEGF dan reseptor-reseptornya diproduksi oleh sel-sel tumor(sinyal autokrin), mencetuskan respon sinyal yang berfungsi untuk pertahanan hidup dan bermetastasis (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

#### **F. Reseptor VEGF**

Fungsi biologi dari VEGF diatur oleh reseptor tirosin kinase (TKRs) VEGFR-1(FLT-1), dan VEGFR-3. (CEBE-SUAREZ ET AL., 2006; FERRARA ET AL., 2003; VIEIRA ET AL., 2010; DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Seperti TKRs lainnya, sinyal yang dikeluarkan oleh VEGFRs diawali dengan ikatan dimer ligan yang kovalen dengan domain reseptor ekstraseluler pada TKR. Interaksi ini menyebabkan adanya reseptor homo dan heterodimerisasi yang diikuti oleh fosforilasi dari residu tirosin spesifik pada domain jukstamembran interseluler, domain kinase, dan ujung dari reseptor karboksiterminal. Macam-macam sinyal dari molekul kemudian dibawa ke dimer VEGFR dimana berkumpul molekul-molekul kompleks yang besar sehingga dapat mengaktifkan jalur-jalur seluler yang berbeda-beda (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

VEGFR-1 dan VEGFR-2 merupakan glikoprotein 180kDa dan 200kDa. TKRs ini terdiri dari 7 immunoglobulin-like-domain pada domain ekstraseluler, suatu daerah transmembran tunggal dan suatu rangkaian domain kinase interseluler yang terpisah-pisah oleh tirosin insert



domain(FERRARA ET AL., 2003 SHIBUYA ET AL., 1990; TERMAN ET AL., 1991) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Walaupun keduanya mempunyai afinitas yang tinggi terhadap VEGF, namun ikatan VEGF lebih kuat terhadap VEGFR-1 dibanding VEGFR-2. Hal menarik lainnya pada kedua TKRs ini adalah perbedaan respon aktifitas tirosin kinase terhadap ikatan ligan. VEGFR-2 merupakan kinase yang lebih kuat. Perbedaan molekul ini dapat menjelaskan perbedaan aktifitas biologi dari keduanya (SHIBUYA DAN CLAISON-WELSH, 2006) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

VEGFR-2 dianggap reseptor VEGF utama dalam memberikan sinyal VEGF pada sel-sel endotel, termasuk mitogenesis, migrasi pertahanan hidup dan permeabilitas vaskuler ( CEBE-SUAREZ ET AL., 2006; SHIBUYA DAN CLAESON-WELSH, 2006).

VEGFR-2 juga terlibat pada peran yang berbeda dalam mengaktifkan jalur P13K-Akt, jalur penting pada proses pertahanan hidup sel-sel kanker yang diinduksi oleh VEGF. VEGFR-2 juga terlibat pada hematopoiesis (GERBER&FERRARA, 2003) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Fungsi VEGFR-1 dalam mediasi respon biologi yang efektif sukar dipahami. Sesungguhnya pada sel-sel endotel, VEGFR-1 mungkin berfungsi sebagai regulator negatif VEGFR-2, setidaknya selama proses embriogenesis, dengan cara menyita VEGF dan karenanya meng berikatan dengan VEGFR-2, sebagaimana telah dituliskan pada



penelitian ini dimana VEGFR-1<sup>-/-</sup> pada tikus menunjukkan pertumbuhan sel-sel endotel yang berlebihan dan alur pembuluh-pembuluh darah yang tidak teratur. Bahkan sinyal VEGFR-1 mungkin juga berperan dalam hematopoiesis dan perekrutan dan sel-sel endotel progenitor (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

VEGF dipengaruhi oleh interaksi dengan koreseptor, yaitu neurofilin (Neurofilin 1 dan 2) dan proteoglikan sulfat heparin (HSPGs), integrin dan kaderin (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Neurofilin secara luas diekspresikan sebagai molekul-molekul transmembran, sebelumnya diketahui terlibat dalam tuntunan axonal, telah diidentifikasi sebagai VEGF-protein-protein yang saling berikatan dan merupakan bagian dari sinyal VEGF-VEGFR kompleks (ELLIS, 2006; ROBINSON & STRANGER 2001, VIEIRA ET AL., 2010; DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

NRP-1 dan NRP-2 merupakan reseptor 120-130 Kda non tirosin kinase yang mempunyai struktur yang identik, terdiri dari domain ekstraseluler N-terminal, membran pendek yang mencakup domain dan domain sitoplasma kecil (ELLIS, 2006; SOKER ET AL., 1996; VIEIRA ET AL., 2010).

Perananannya menjadi lebih luas, selain berperan pada perkembangan sistem saraf juga pada sel-sel endotel dan sel-sel tumor

(E-SUAREZ ET AL., 2006; ELLIS, 2006; SIBUYA & CLAESSENS, 2006; DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).



NRP-1 dan NRP-2 yang berperan sebagai perantara sinyal VEGF tampaknya berlangsung terutama berhubungan dengan VEGFR-2 dan VEGFR-1, stimulasi sinyal melalui TKRs.(CEBE-SUAREZ ET AL., 2006;DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

HSPGs merupakan komponen-komponen yang besar pada permukaan sel dan ECM, berperan penting pada pembentukan dan modulasi gradien faktor-faktor pertumbuhan yang berikatan dengan heparin, seperti VEGF, dan faktor-faktor tersebut menunjukkan keterlibatan sebagai modulator-modulator pemberi sinyal VEGF dengan cara berinteraksi dengan VEGFR-1 dan VEGFR-2. (GITAY-GOREN ET AL., 1996; ROBINSON & STRINGER 2001) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

### **G. Sinyal Autokrin VEGF**

Lingkungan tumor yang kompleks menyiratkan bahwa sel-sel kanker menerima sinyal dari berbagai sumber sehingga dapat mempengaruhi fungsi sel lainnya. Hal ini menggambarkan sinyal parakrin. Namun hal tersebut menjadi lebih terbukti oleh adanya sel-sel kanker-sinyal autokrin-yang berpotensi untuk mengembangkan sel-sel kanker. Dengan adanya sinyal autokrin tersebut, sekresi faktor-faktor pertumbuhan yang mungkin bereaksi pada sel-sel disekitarnya sebaik dengan sel-sel sekretor. Lingkungan autokrin ini memberikan keuntungan sel-sel untuk tumbuh bahkan pada kondisi yang terbatas (DOMINGUES,2012).



Selanjutnya, masih ada bukti bahwa pada kondisi yang terbatas, jalur sinyal, seperti jalur VEGF dapat ditransduksi walaupun tanpa sekresi faktor-faktor pertumbuhan-autokrin internal/sinyal intrakrin (GERBER&FERRARA, 2003; GERBER ET AL., 2002) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Beberapa peneliti melaporkan adanya VEGFR2, yang juga sebagai KDR, pada sel-sel kanker ovarium. Secara in vitro, peneliti menyatakan adanya fungsi faktor pertumbuhan VEGF-A /VEGFR2 secara autokrin pada pembuluh darah untuk melindungi sel-sel kanker dari anoikis sehingga sel-sel kanker tetap bertahan hidup dan bahkan bermetastasis(DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Pada keganasan hematologi, aturan lingkaran autokrin VEGF/VEGFR terjadi dan ekspresi VEGF serta reseptornya sering ditemukan. Pada leukimia akut, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa VEGF:lingkaran autokrin VEGFR berjalan secara internal dan eksternal. Pada penelitian sebelumnya, ditunjukkan bahwa VEGFR-2 secara konstitutif mengalami fosforilasi dan berlokasi di nukleus VEGF sehingga memproduksi sel-sel leukimia. Pada limfoma non-hodgkins sel B, peningkatan ekspresi VEGF dan VEGFR-2 yang terfosforilasi dilaporkan berhubungan dengan ekspresi Hipoksia inducible factor- $\alpha$ (HIF $\alpha$ ) (GIATROMANOLAKI ET AL., 2008).

Pada Hemangioma infantil, tampaknya sel-sel bertahan hidup berhubungan dengan rendahnya ekspresi VEGFR-1 menyebabkan



aktifasi dependen VEGF konstitutif dari VEGFR-2 (Jinnin et al., 2008). Pada pasien dengan multipel mieloma, ditunjukkan bahwa sel-sel endotel sumsum tulang (MMEC) diekspresikan secara meningkat VEGF dan VEGFR-2 pada mRNA dan level protein. Sel-sel endotel sumsum tulang (MMEC) menunjukkan autofosforilasi konstitutif pada VEGFR-2 dan ERK2. Autofosforilasi, proliferasi dan pembentukan kapiler dapat dicegah dengan cara antibodi penetral yang melawan VEGF dan VEGFR-2. Penemuan ini menyatakan adanya lingkaran autokrin pada MMEC. Pada penelitian lain yang fokus pada keganasan hematologi, ekspresi VEGFR-1 dideteksi di sitoplasma dan nukleus sel-sel multipel mieloma yang berproliferasi. Jika reseptor ini dihambat, maka proliferasi menjadi terhenti. Hasil ini memberikan kontribusi VEGF intrakrin : VEGFR-1 memberikan sinyal sel-sel multipel mieloma untuk tumbuh (VINCENT ET AL., 2005) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Aturan VEGF pada tumor-tumor solid : lingkaran autokrin VEGF kurang jelas. Pada keganasan payudara, Weigand dan asistennya (Weigand et al., 2005) mendeteksi level VEGF meningkat pada aktifitas biologi yang dikultur pada media serta diverifikasi pada beberapa kasus, VEGFR-2 diekspresikan permukaan sel yang terfosforilasi, mengindikasikan VEGF sedang aktif. Sebaliknya, penulis-penulis lain menyatakan VEGFR-2 pada kanker payudara tidak diekspresikan dan reseptor VEGF yang bertanggung jawab terhadap lingkaran autokrin adalah NRP-1. Sinyal intrakrin juga dapat dideteksi pada sel-sel



kanker payudara melalui VEGF yang berikatan dengan VEGFR-1 (LEE ET AL., 2007) (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Pada kanker ovarium, lingkaran autokrin VEGF:VEGFR-2 menggambarkan sel-sel kanker terlindung dari anoikis dan berperan dalam pembentukan asites (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Pada penelitian yang terakhir oleh Balzquez et al.<sup>65</sup> menunjukkan akumulasi KDR yang terfosforilasi pada nukleus sel-sel neoplasia yang berbeda dan akumulasi ini meningkatkan stimulasi VEGF. Selain itu penelitian tentang sel stem hematopoietik dan sel-sel leukemia akut menyatakan bahwa lokasi KDR di nukleus menyebabkan lingkaran autokrin menjadi aktif dan terlibat dalam pertahanan sel-sel agar tetap hidup (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

Akumulasi bukti menyatakan jalur P13K/AKT berperan dalam resistensi anoikis pada sel-sel kanker ovarium. Beberapa komponen jalur P13K/AKT diperkuat atau mengalami mutasi pada sel-sel kanker ovarium dan AKT secara konstitutif aktif pada pasien dengan kanker ovarium. Pada sel-sel penyokong HUVEC, sel-sel dapat bertahan hidup diperantai oleh jalur P13K/AKT, mengikuti fosforilasi KDR pada residu Tyr1175. Masih perlu penjelasan tentang P13K/AKT yang diperantari oleh VEGF-A/KDR dapat menyebabkan resistensi anoikis pada sel-sel kanker (DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).



## H. Peranan VEGF dalam Kanker Ovarium

Dalam rangka mempertahankan diri dan meningkatkan ukuran tumor, sel-sel neoplasia baru harus menginduksi angiogenesis karena angiogenesis ini berperan dalam memasok nutrisi, oksigen, dan sel-sel imun sehingga sel-sel neoplasia dapat tumbuh dan berkembang. Sebagai tambahan dan sangat penting bahwa dengan angiogenesis, sel-sel neoplasia dapat menginvasi jaringan yang berdekatan serta memasuki sirkulasi darah sehingga dapat bermetastasis jauh dan membentuk tumor sekunder (DOMINGUES,2012).

Selama terjadi proses keganasan, sel-sel endotel tumor mampu menggandakan diri hingga 50 kali lebih cepat dari sel-sel endotel tumor. Adapun struktur permukaan dari pembuluh-pembuluh darah sel kanker berbeda dengan sel-sel yang normal. Pembuluh-pembuluh darah sel kanker menunjukkan permeabilitas pembuluh-pembuluh darah, aliran darah menurun, dan permukaan pembuluh yang tidak rata(DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012).

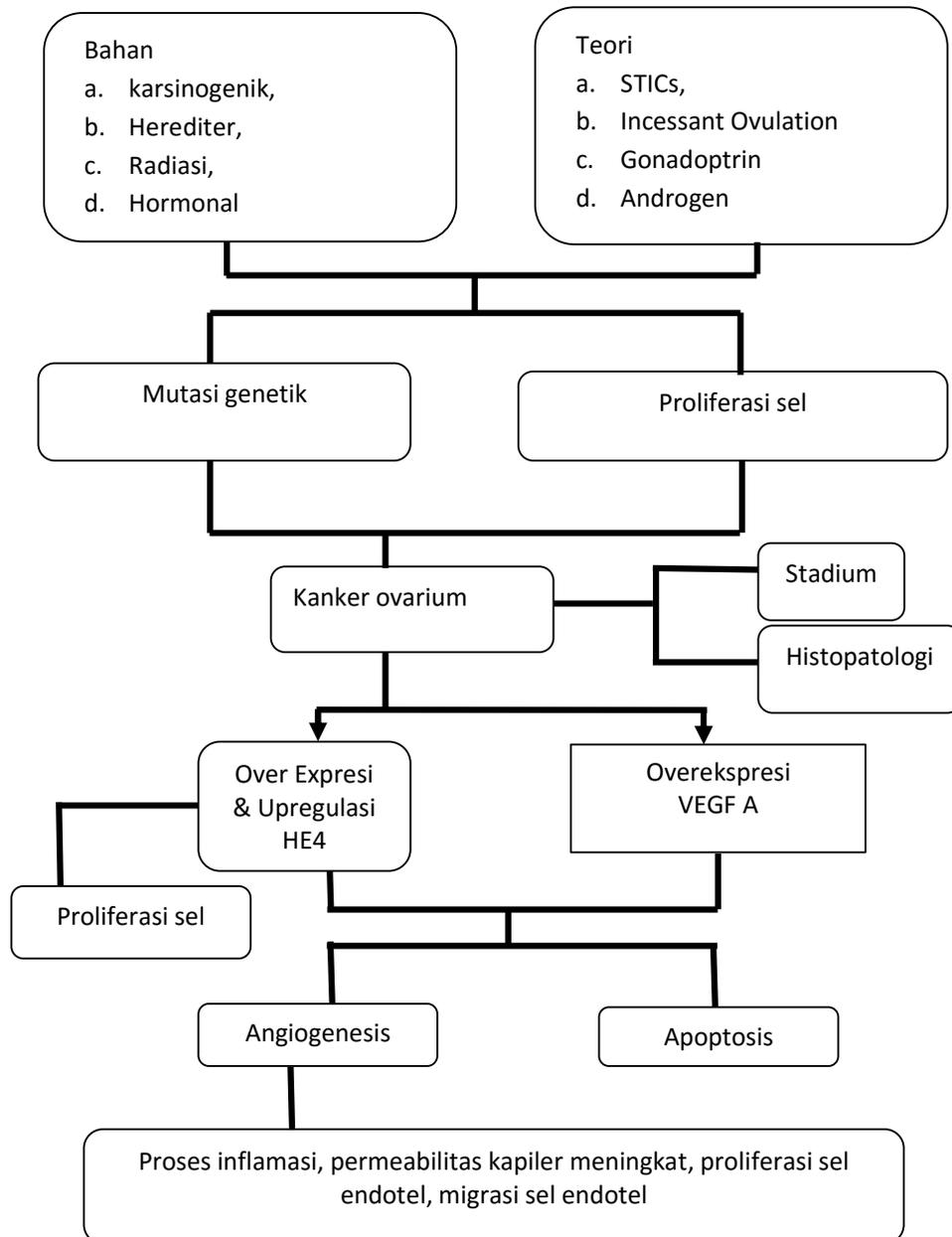
Secara umum munculnya sel-sel kanker dikarenakan adanya ketidakseimbangan antar faktor-faktor proangiogenik seperti VEGF, FGF, PDGFs, TNF-a, angiopoietin, dan IL-6 dengan faktor-faktor antiangiogenik seperti angiostatin dan endostatin. Diantara faktor angiogenik, VEGF, terutama VEGF A(VEGF) dan reseptornya



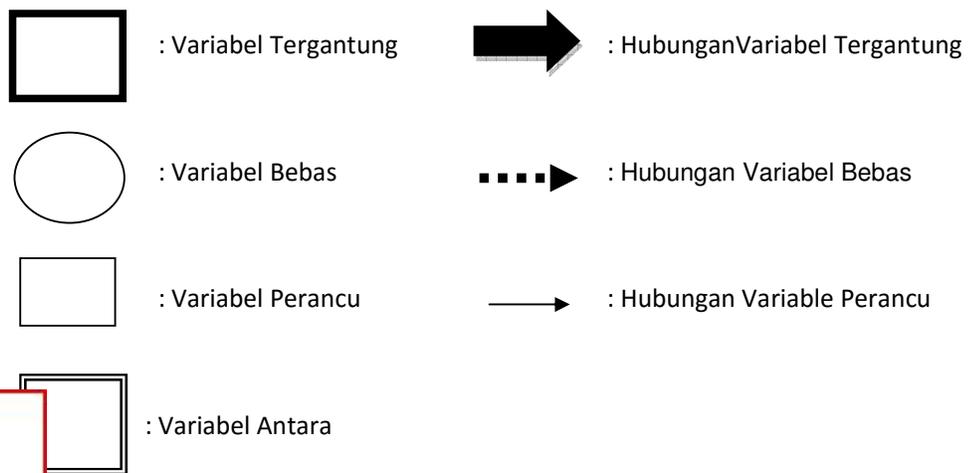
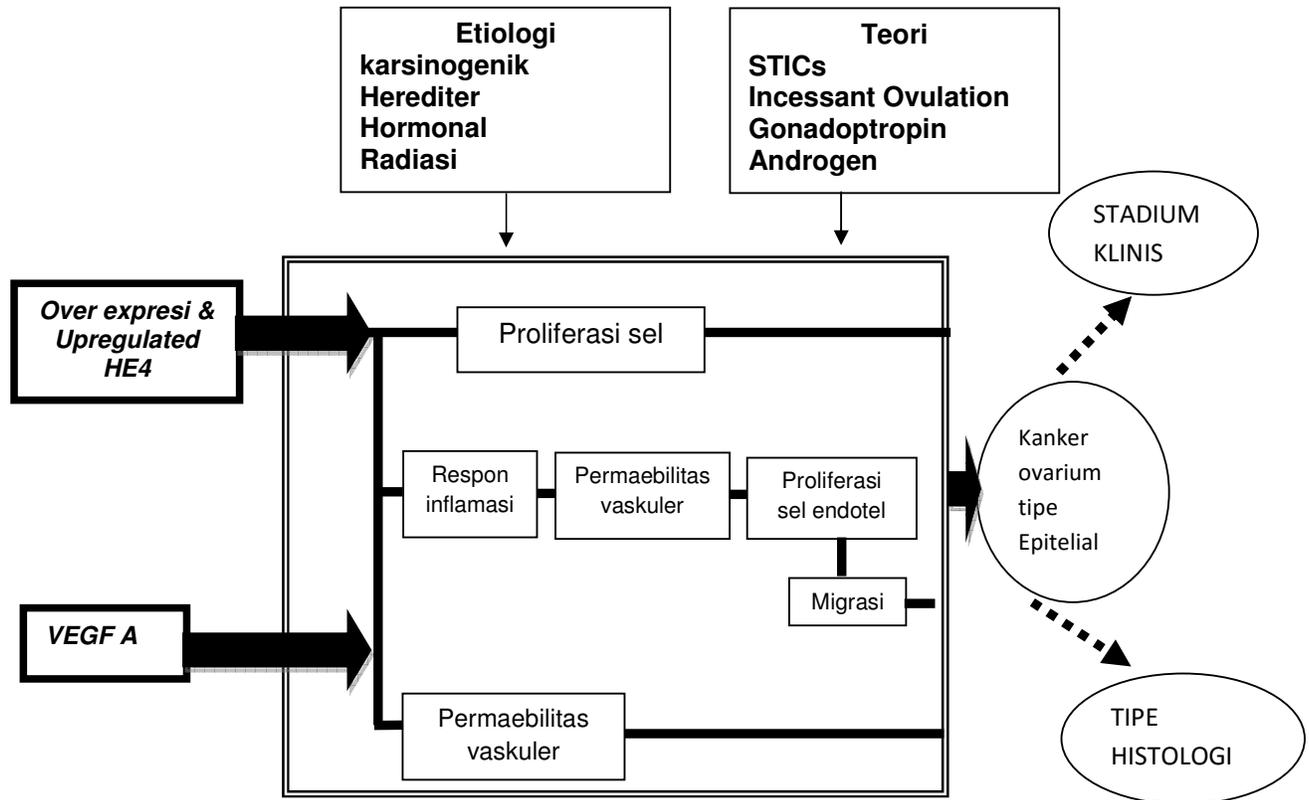
merupakan sitokin yang berperan dalam proses fisiologi dan patofisiologi angiogenesis.(DOMINGUES, FERNANDES ET AL. 2012)



## I. Kerangka Teori



**J. Kerangka Konsep**



## K. Definisi Operasional

### 1. Kanker ovarium Epitelial

Sel kanker asal sel epitel ovarium pada pemeriksaan histopatologik rutin oleh ahli Patologi pada laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

### 2. Human Epididimis 4 (HE4)

Human Epididimis 4 (HE4) adalah suatu protein Human Epididimis 4 (HE4) yang didapatkan didalam serum manusia yang didiagnosis kanker ovarium.

### 3. Pemeriksaan HE4

Pemeriksaan protein Human Epididimis 4 pada penelitian ini menggunakan chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA). Dalam penelitian ini didapatkan titik potong 79 pmol/L.

### 4. Pemeriksaan VEGF-A

Glikoprotein yang merupakan faktor proangiogenik yang berperan dalam angiogenesis kanker ovarium.

### 5. Pemeriksaan VEGF-A

Pemeriksaan protein VEGF-A pada penelitian ini menggunakan enzim-linked immunosorbent assay (ELISA). Dalam penelitian ini didapatkan titik potong 255 pg/ml.

### 6. Histopatologik

Gambaran dari sel kanker ovarium epitelial yang berdasarkan jenis histopatologik dibagi menjadi :



a. **Jenis Mucinosum**

Gambaran tumor yang dilapisi oleh epitel kolumnar tinggi yang mensekresi musin intrasel atau menunjukkan vakuolisasi musinosa apikal.

b. **Jenis Serosum**

Gambaran tumor yang dilapisi oleh sel epitel kolumnar rendah atau kuboid, tidak bersilia dan berisi cairan serosum.

c. **Jenis Endometrioid**

Gambaran tumor yang terdiri dari sel-sel kuboid yang membentuk kelenjar tubular mirip dengan kelenjar endometrium, bentuk dan ukuran yang tidak teratur, secara histologis tumor ini tidak dapat dibedakan dengan adeno-kanker uterus.

d. **Tipe Clear Cell**

Gambaran tumor dengan sel-sel yang memiliki sitoplasma jernih dan tersusun dalam sarang-sarang padat atau kelenjar abortif.

## 7. Stadium Kanker

Adalah perluasan anatomi tumor yang berdasarkan pemeriksaanklinis dan pembedahan eksplorasi oleh dokter ahli onkoginekologi departemen Obgin Fakultas Kedokteran UNHAS, dinyatakan dalam Stadium klinis berdasarkan pembagian menurut FIGO 2014 yaitu :

**Stadium Klinis I** adalah tumor terbatas pada satu atau kedua ovarium



- b. **Stadium Klinis II** adalah tumor dengan perluasan ke pelvis
- c. **Stadium Klinis III** adalah tumor meliputi stadium I atau II tapi terdapat metastasis pada daerah diluar pelvis atau dengan limfonodus retroperitoneal positif.
- d. **Stadium Klinis IV** adalah metastasis jauh (meliputi parenkim hepar/ sitologi cairan pleura positif).

Adapun pembagian stadium klinis pada penelitian kamiterbagi atas stadium awal (I dan II) dan stadium akhir (III dan IV) (Benedet 2000).

