

**HUBUNGAN ANTARA KADAR *HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS-1 ALPHA*
(HIF-1 α) DENGAN KARSINOMA OVARIUM TIPE EPITELIAL
*ASSOCIATION OF HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR-1ALPHA (HIF-1 α)
GENE WITH EPITHELIAL OVARIAN CARCINOMA***



Oleh :

Asmuliadi Asis

Pembimbing :

**Dr. dr. Nugraha Utama Pelupessy, Sp.OG (K)
dr. Johnsen Mailoa, Sp.OG (K)**

Pembimbing Statistik :

Dr. dr. St. Maisuri T.Chalid, Sp.OG (K)

Pembimbing Patologi Anatomi :

dr. Husni, Sp.PA

Penyanggah :

**Dr. dr. Sharvianty Arifuddin, Sp.OG (K)
dr. Rudy B Leonardy, SP.OG (K)**

**PROGRAM STUDI ILMU OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**HUBUNGAN ANTARA *KADAR HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS-1 ALPHA*
DENGAN KARSINOMA OVARIUM TIPE EPITELIAL**

TESIS

Sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Pendidikan Dokter
Spesialis-1 dan mencapai gelar Spesialis Obstetri dan Ginekologi

Disusun dan diajukan oleh :

ASMULIADI ASIS

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
PROGRAM STUDI ILMU OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

TESIS**HUBUNGAN ANTARA KADAR HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS-1 ALPHA
DENGANKARSINOMA OVARIUM TIPE EPITELIAL**

Disusun dan diajukan oleh :

ASMULIADI ASIS

055 171 014

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

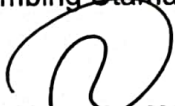
Pada tanggal Maret 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

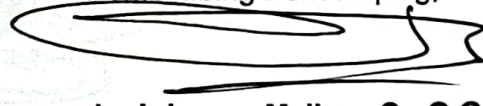
Komisi Penasihat,

Pembimbing Utama



Dr. dr. Nugraha Utama P., Sp. OG.
Subsp. Onk
NIP. 197406242006041009

Pembimbing Pendamping,



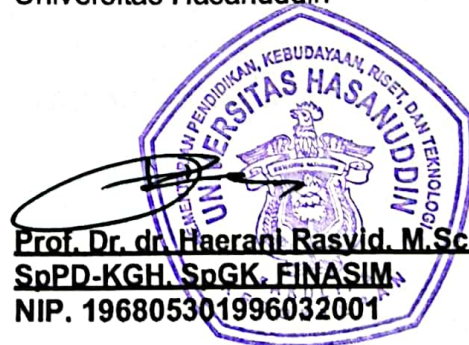
dr. Johnsen Malloa, Sp. O. G.
Subsp. Obginsos
NIP. 19580131 198703 1 006

Ketua Program Studi



Dr. dr. Nugraha Utama P., Sp. OG.
Subsp. Onk
NIP. 197406242006041009

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Sc.
SpPD-KGH, SpGK, FINASIM
NIP. 196805301996032001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : **Asmuliadi Asis**

No. Pokok : **C055171014**

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 2022

Yang menyatakan,



Asmuliadi Asis

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : **Asmuliadi Asis**

No. Pokok : C055171014

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 2022

Yang menyatakan,

Asmuliadi Asis

PRAKATA

Dengan memanjatkan puji syukur kepada Allah SWT atas segala berkat, rahmat, dan karunia, serta perlindungan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Dokter Spesialis pada Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis bertujuan untuk memberikan informasi ilmiah tentang Hubungan antara *Kadar Hypoxia Inducible Factors-1 Alpha* dengan Karsinoma Ovarium Tipe Epitelial yang dapat menjadi bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan penanganan pasien khususnya dalam bidang Obstetri dan Ginekologi. Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, baik isi maupun tata bahasanya, dengan demikian segala kritik yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan tesis ini.

Penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih kepada Dr.dr. Nugraha Up, Sp.OG(K) sebagai pembimbing, dr. Johnsen Malloa, Sp.OG(K) sebagai pembimbing II dan Dr.dr. St. Maisuri T.Chalid, Sp.OG (K) sebagai pembimbing statistik atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih penulis juga sampaikan kepada Dr.dr. Sharvianty Arifuddin, Sp.OG (K) dan Dr. Rudy B Leonardy,

Sp.OG (K), sebagai penyanggah yang memberikan kritik dan saran dalam penelitian ini.

Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ketua Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas kedokteran Universitas Hasanuddin Prof. Dr. dr. Syahrul Rauf, Sp.OG(K); Ketua Program Studi Dr. dr. Nugraha U.P, Sp.OG(K), Sekretaris Program studi Dr. dr. Imam Ahmadi Farid, Sp.OG(K) dan seluruh staf pengajar beserta pegawai di bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNHAS yang memberikan arahan, dukungan, dan motivasi selama pendidikan.
2. Penasehat Akademik dr. Nurbani Bangsawan, Sp.OG (K) yang telah mendidik dan memberikan arahan selama mengikuti proses pendidikan.
3. Teman sejawat peserta PPDS-1 Obstetri dan Ginekologi atas bantuan dan kerjasamanya selama proses pendidikan.
4. Paramedis Departemen Obstetri dan Ginekologi di seluruh rumah sakit pendidikan dan jejaring atas kerjasamanya selama penulis mengikuti pendidikan.
5. Pasien dan keluarga pasien yang telah bersedia mengikuti penelitian ini sehingga penelitian dapat berjalan sebagaimana mestinya.

6. Kedua orang tua saya yang tercinta Asis Sulaiman dan Astaty, serta keluarga besar yang telah memberikan kasih sayang yang tulus, dukungan, doa serta pengertiannya selama penulis mengikuti pendidikan.

7. Semua pihak yang namanya tidak tercantum, namun telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Akhir kata, Semoga tesis ini bermanfaat dalam perkembangan ilmu Obstetri dan Ginekologi di masa mendatang.

Makassar, 07 Februari 2022

ABSTRAK

HUBUNGAN ANTARA KADAR *HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS-1 ALPHA* (HIF-1 α) DENGAN KARSINOMA OVARIUM TIPE EPITELIAL

Asmuliadi Asis, Sriwijaya, Nugraha Utama P., Johnsen Mailoa
Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar,
Indonesia

Latar Belakang: Kanker ovarium termasuk satu dari sepuluh kanker yang paling sering diderita oleh wanita di Indonesia. Keterlambatan diagnosis umumnya disebabkan oleh tidak khasnya gejala awal, resistensi obat, serta tidak tersedianya alat skrining dengan spesifisitas, sensitivitas, dan harga yang sesuai. Studi sebelumnya menunjukkan *Hypoxia Inducible Factor 1 alpha* (HIF-1 α) merupakan penanda tumor hipoksia potensial di berbagai tumor padat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar HIF-1 α dengan karsinoma ovarium tipe epithelial

Metode: Penelitian ini menggunakan desain *case-control* pada 72 perempuan dengan karsinoma ovarium tipe epithelial yang telah menjalani *surgical staging* selama tahun 2017 hingga 2019 di RS Wahidin Sudirohusodo. Peneliti mengukur kadar HIF-1 α dan dikategorikan dalam negatif, lemah, sedang, dan kuat serta menilai hubungannya dengan usia, paritas, riwayat abortus, ascites, jenis histologi, stadium kanker ovarium, dan kadar CA-125.

Hasil: Tidak terdapat perbedaan hubungan antara usia, paritas, riwayat abortus, ascites, kadar CA-125, dan jenis histologi kanker ovarium dengan ekspresi HIF-1 α ($p > 0.05$). Namun, terdapat hubungan antara stadium dengan ekspresi HIF-1 α ($p < 0.05$). HIF-1 α dengan ekspresi sedang didapatkan paling banyak yaitu 32 (44.4%) orang. Lebih banyak ditemukan ekspresi HIF-1 α sedang-kuat pada pasien karsinoma ovarium tipe epithelial dibandingkan ekspresi HIF-1 α negatif-lemah. Pasien karsinoma ovarium stadium III-IV lebih banyak ditemukan dengan ekspresi HIF-1 α sedang-kuat (51 orang). Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar platelet dan hemoglobin dengan ekspresi HIF-1 α ($p > 0.05$)

Kesimpulan: Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi HIF-1 α dengan stadium kanker ovarium tipe epithelial dimana ekspresi positif HIF-1 α lebih banyak ditemukan pada pasien dengan stadium III/IV dibandingkan stadium I/II.

Kata kunci: Karsinoma ovarium tipe epithelial, *Hypoxia Inducible Factor 1 alpha* (HIF-1 α), stadium kanker

ABSTRACT

ASSOCIATION OF HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS-1 ALPHA LEVELS WITH EPITHELIAL OVARIAN CARCINOMA

Asmuliadi Asis, Sriwijaya, Nugraha Utama P., Johnsen Mailoa
Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Hasanuddin
University, Makassar, Indonesia

Objective: Ovarian cancer is included in the top ten cancers diagnosed in Indonesian women. Delays in cancer diagnosis are generally caused by atypical early symptoms, drug resistance, and the unavailability of screening tools with appropriate specificity, sensitivity, and price. Previous studies have shown that Hypoxia Inducible Factor-1 alpha (HIF-1 α) is a potential hypoxic tumor marker in different types of solid tumors. This study aims to determine the relationship between HIF-1 α levels with epithelial ovarian carcinoma.

Methods: This study used a case-control design on 72 women with epithelial ovarian carcinoma who had undergone surgical staging from 2017 to 2019 at Wahidin Sudirohusodo Hospital. Researchers measured HIF-1 α levels and categorized them into negative, weak, moderate, and strong and assessed their relationship with age, parity, history of abortion, ascites, histological type, ovarian cancer stage, and CA-125 levels.

Results: There was no significant difference between age, parity, history of abortion, ascites, CA-125 levels, and histology of ovarian cancer with HIF-1 α expression ($p>0.05$). However, there was a relationship between stage and HIF-1 α expression ($p<0.05$). HIF-1 α with moderate expression obtained the most, namely 32 (44.4%) people. More moderate-strong HIF-1 α expression was found in epithelial ovarian carcinoma patients than weak-negative HIF-1 α expression. More patients with stage III-IV ovarian carcinoma were found with moderate-strong HIF-1 α expression (51 women). There was no significant difference between platelet and haemoglobin levels with HIF-1 α expression ($p>0.05$)

Conclusions: There is a significant relationship between HIF-1 α expression and the stage of epithelial ovarian cancer, where positive HIF-1 α expression is more commonly found in patients with stage III/IV compared to stage I/II.

Keywords: Epithelial ovarian carcinoma, Hypoxia Inducible Factor 1 alpha (HIF-1 α), Cancer staging

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| Halaman Judul | i |
| Disusun dan diajukan oleh | ii |
| Lembar pengesahan | iii |
| Pernyataan keaslian tesis | iv |
| Prakata | v |
| Abstrak | viii |
| Abstract | ix |
| Daftar isi | x |
| Daftar Gambar dan Lampiran | xii |
| Daftar Singkatan | xiii |
| BAB I Pendahuluan | 1 |
| 1.1 Latar belakang` | 1 |
| 1.2 Rumusan masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat penelitian | 5 |
| BAB II Tinjauan Pustaka | 7 |
| 2.1 Kanker Ovarium | 7 |
| 2.2 Kondisi Hipoksia Sel Tumor | 8 |
| 2.3 Jalur HIF | 15 |
| 2.4 Peran hipoksia pada progresi dan metastasis kanker | 17 |
| BAB III Kerangka teori, konsep dan definisi operasional | 22 |
| 3.1 Kerangka teori | 22 |
| 3.2 Kerangka konsep | 23 |
| 3.3 Definisi operasional | 24 |
| 3.4 Hipotesis penelitian | 25 |
| BAB IV Metode penelitian | 26 |
| 4.1 Desain Penelitian | 26 |
| 4.2 Waktu dan tempat penelitian | 26 |

| | |
|--|----|
| 4.3 Populasi dan sampel penelitian | 26 |
| 4.4 Kriteria pemilihan subjek penelitian | 27 |
| 4.5 Jumlah subjek penelitian | 28 |
| 4.6 Cara pengambilan subjek penelitian | 29 |
| 4.7 Alur penelitian | 29 |
| 4.8 Cara kerja penelitian | 30 |
| 4.9 Analisis | 31 |
| 4.10 Etika | 33 |
| 4.11 Jadwal Penelitian | 34 |
| 4.12 Personalia Penelitian | 34 |
| BAB V Hasil Penelitian | 35 |
| BAB VI Pembahasan | 42 |
| 6.1 Gambaran demografi & karakteristik populasi penelitian | 42 |
| 6.2 Analisis faktor yang berhubungan dengan ekspresi HIF-1 α pada pasien karsinoma ovarium tipe epitelial | 44 |
| 6.3 Kelebihan Penelitian | 50 |
| 6.4 Keterbatasan Penelitian | 50 |
| BAB VII Kesimpulan dan saran | 52 |
| 7.1 Kesimpulan | 52 |
| 7.2 Saran | 52 |
| DAFTAR PUSTAKA | 53 |
| LAMPIRAN | 57 |

DAFTAR TABEL

| No | Tabel | Halaman |
|----|---|---------|
| 1. | Stadium Kanker Ovarium Menurut Kriteria FIGO | 7 |
| 2. | Karakteristik Sampel Penelitian | 37 |
| 3. | Analisis Faktor yang Berhubungan dengan Ekspresi HIF-1 α pada Karsinoma Ovarium Tipe Epitelial | 39 |
| 4. | Perbedaan Kadar Platelet dan Hemoglobin dengan Ekspresi HIF-1 α | 40 |

DAFTAR GAMBAR

| No | Judul Gambar | Halaman |
|----|--|---------|
| 1. | Ekspresi kadar Hipoksia Jaringan Tumor | 10 |
| 2. | Mekanisme Hipoksia dalam DNA sebagai <i>cell killing</i> | 12 |
| 3. | Jalur HIF-1 α | 16 |
| 4. | Ekspresi HIF-1 α sebagai regulator Hipoksik utama | 20 |

DAFTAR LAMPIRAN

| No | Judul Lampiran | Halaman |
|----|---|---------|
| 1 | Lembar penjelasan sebelum tindakan | 57 |
| 2 | Lembar Persetujuan responden | 59 |
| 3 | Formulir Pernyataan Peneliti dan Bukti Jaminan | 60 |
| 4 | Formulir Persetujuan Setelah Penjelasan (<i>Informed Consent</i>) | 61 |
| 5 | Permohonan Surat Kelaikan Etik (<i>Ethical Clearence</i>) | 63 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|----------|--|
| α | Alfa |
| AUC | <i>Area under curve / area di bawah kurva</i> |
| CA9 | Carbonic Anhydrase 9 |
| COX-2 | Cyclooxygenase-2 |
| CT-Scan | <i>Computerized tomography scanning</i> |
| EGF | <i>Epidermal growth factor</i> |
| EMT | <i>Epithelial-Mesenchymal Transition</i> |
| FIGO | Federasi Internasional Ginekologi dan Obstetri |
| FK | Fakultas Kedokteran |
| GDEPT | <i>Gene-directed enzyme prodrug therapy</i> |
| HIF-1 | <i>Hypoxia inducible factor 1</i> |
| HRE | <i>Hypoxia-responsive element</i> |
| HSREs | <i>Hypoxia-responsive elements</i> |
| IGF-2 | <i>Insulin-like growth factor 2</i> |
| ING4 | <i>Inhibitor of Growth Family Member 4</i> |
| iNOS | <i>Inducible nitric oxide synthase</i> |
| NFKB | Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B |
| NO | Nitrit oksida |
| OR | <i>Odds ratio</i> |

| | |
|----------------|---|
| O ₂ | Oksigen |
| PDGF | <i>Platelet-derived growth factor</i> |
| PTEN | <i>Phosphatase and tensin</i> |
| p53 | Protein 53 |
| P450R | <i>Cytochrome c (P450) reductase</i> |
| ROC | <i>Receiver operating characteristic</i> |
| ROS | <i>Reactive oxygen species</i> |
| SD | Standar Deviasi |
| SLC2A1 | <i>Solute Carrier Family 2 Member 1</i> |
| TGF- β | <i>Transforming growth factor beta</i> |
| USG | Ultrasonografi |
| VEGF | <i>Vascular endothelial growth factor</i> |
| WHO | World Health Organization |
| μ M | mikro meter |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sekitar 4% dari seluruh kasus kanker yang baru didiagnosa pada perempuan adalah kanker ovarium. Kanker ovarium termasuk satu dari sepuluh kanker yang paling sering diderita oleh perempuan di Indonesia. Meskipun perkembangan dalam diagnosis dan penanganan kanker ovarium sudah banyak mengalami kemajuan, kanker ovarium merupakan penyebab 5% kematian pada perempuan yang disebabkan oleh keganasan. Tingkat ketahanan hidup 5 tahun pasca pembedahan yang diikuti dengan kemoterapi di bawah 50%. Menurut data dari *Center for Disease Control and Prevention*, kanker ovarium merupakan kanker ginekologi dengan tingkat *five year survival rate* terendah dari kanker ginekologi di dunia, yaitu sebesar 43%. (Alabiad, M.,2021)

Prognosis buruk ini terutama disebabkan oleh keterlambatan diagnosis, pasien kanker ovarium umumnya terdiagnosis pada stadium lanjut (stadium klinis III/IV). Semakin cepat suatu kanker ovarium terdiagnosis secara dini yaitu stadium I atau II, angka mortalitasnya diperkirakan akan turun sebanyak 50%. Keterlambatan diagnosis umumnya disebabkan oleh tidak khasnya gejala awal, resistensi obat yang menyebabkan tingkat kekambuhan yang cukup tinggi, serta tidak tersedianya alat skrining dengan

spesifisitas, sensitivitas, dan harga yang sesuai. (Gajjar, K., 2012)

Kanker ovarium umumnya baru menimbulkan keluhan apabila telah menyebar ke rongga peritoneum, atau organ visera lainnya. Penyakit telah mencapai stadium lanjut pada tingkat ini sehingga tindakan pembedahan dan terapi adjuvan seringkali tidak menolong. Upaya pengenalan dini kanker ovarium stadium awal berdasarkan pemeriksaan fisik saja tidak cukup sehingga perlu dilengkapi dengan pemeriksaan penunjang seperti serum tumor marker, ultrasonografi (USG), atau *computerized tomography scanning* (CT-Scan). (Harun, E., 2021)

Hipoksia merupakan kejadian penting dalam karsinogenesis, karena menimbulkan fenotip yang lebih agresif disertai tumor dengan invasivitas dan proliferasi lebih tinggi, pembentukan metastase dan kelangsungan hidup yang lebih buruk. Meskipun seleksi pasien dengan tumor hipoksik akan memberikan manfaat klinis, tidak ada konsensus mengenai metode terbaik yang dapat digunakan untuk penilaian rutin hipoksia. Salah satu penanda tumor hipoksia potensial adalah *hypoxia inducible factor-1* (HIF-1). HIF-1 merupakan protein kunci dalam pertahanan sel dibawah kondisi hipoksia, dan berhubungan dengan perkembangan serta metastasis tumor padat. (Lee, S., 2017)

HIF-1 mengatur homeostasis oksigen dalam sel dan berperan penting dalam kondisi hipoksik yang muncul dalam proses

embriogenesis, penyakit kardiovaskular, dan perkembangan tumor. HIF-1 merupakan faktor transkripsi yang tersusun dari subunit *HIF-1 alpha* dan *HIF-1 beta*, keduanya merupakan *helix-loop-helix DNA-binding protein*. HIF-1 memegang peranan penting dalam respon transkripsional termasuk induksi gen yang terlibat dalam induksi gen yang relevan dengan perkembangan tumor, seperti angiogenesis, metabolisme energi/glukosa, perkembangan sel, metastasis dan apoptosis. (Jin, Y., 2014)

Dalam kanker ginekologi, HIF-1 *alpha* (HIF-1 α) telah dibuktikan sebagai faktor penting dalam karsinogenesis. Ekspresi HIF-1 α dan gen target CA9 dan SLC2A1 yang berlebihan dilaporkan berhubungan dengan interval bebas penyakit dan ketahanan hidup keseluruhan yang lebih rendah. Karena hipoksia dan ekspresi HIF-1 α berhubungan dengan kegagalan penanganan kanker, terapi dengan target HIF-1 α dapat menjadi strategi terapeutik yang potensial untuk mengganggu berbagai jalur penting dalam pertumbuhan tumor. (Shen, W., 2017)

Ekspresi protein HIF-1 α pada kanker ovarium pertama kali diinvestigasi menggunakan imunohistokimia (IHC) oleh Zhong. Ekspresi protein HIF-1 α yang berlebihan telah ditemukan pada 54 – 69% spesimen kanker ovarium yang diujikan dibandingkan dengan 12,5 – 31,4 pada jaringan ovarium tanpa kanker. (Birner, P., 2001)

Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa

ada hubungan signifikan antara stadium tumor dengan ekspresi HIF-1 α dalam kanker ovarium. Ekspresi HIF-1 α secara signifikan lebih tinggi pada tumor dengan stadium FIGO III dan IV dibandingkan dengan tumor stadium I dan II. Tumor dengan ukuran yang lebih besar pada tumor stadium lanjut akan menyebabkan area hipoksia yang lebih tinggi. (Cheng, J. C., Klausen, C., 2013)

Pemahaman mengenai mekanisme karsinogenesis dan perkembangan kanker ovarium sangat penting untuk membantu mencari alat diagnosis, meningkatkan prediksi prognosis, respon terhadap terapi dan manajemen penyakit berdasarkan biologi kanker dengan harapan meningkatkan prognosis dan kualitas hidup pasien. HIF-1 α merupakan salah satu tumor marker yang potensial. (Lee, S., 2007) Maka dari itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul: "Hubungan Antara Kadar *Hypoxia Inducible Factors-1 Alpha* (HIF-1 α) Dengan Karsinoma Ovarium tipe epitelial".

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimanakah hubungan antara kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* (HIF-1 α) dengan karsinoma ovarium tipe epitelial.

1.3. Tujuan Penelitian

A. Tujuan umum

Mengetahui hubungan antara kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* (HIF-1 α) dengan karsinoma ovarium tipe epitelial.

B. Tujuan khusus

1. Mengetahui kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* pada karsinoma ovarium tipe epitelial.
2. Mengetahui perbandingan kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* pada karsinoma ovarium berdasarkan stadium.
3. Mengetahui perbandingan kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* berdasarkan tipe histologi kanker ovarium tipe epitelial.
4. Mengetahui perbandingan kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* berdasarkan kadar CA-125.
5. Mengetahui perbandingan kadar *hypoxia inducible factors-1 alpha* berdasarkan ada atau tidaknya asites.
6. Mengetahui pengaruh ekspresi HIF-1 α terhadap kadar platelet dan hemoglobin.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Keilmuan

- a. Memberikan informasi ilmiah mengenai penanda diagnostik, dan prognosis kanker ovarium tipe epitelial.
- b. Memberikan data dasar bagi penelitian selanjutnya.

2. Bidang Penelitian

Sebagai bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya mengenai

prediksi rekurensi kanker ovarium tipe epithelial.

3. Bidang Akademik

Untuk meningkatkan pengetahuan tentang prognosis karsinoma ovarium tipe epithelial stadium lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Ovarium

Kanker ovarium merupakan keganasan primer yang terjadi pada organ ovarium. Berdasarkan struktur anatomi dari mana tumor itu berasal terbagi menjadi 3, yaitu kanker ovarium tipe epitelial, tipe germ sel, dan sex – cord stroma.(Chen,R.,2020)

Menurut *Federation International of Gynecology Obstetric* (FIGO) kanker ovarium dibagi menjadi beberapa stadium.

Tabel 1. Stadium Kanker Ovarium Menurut Kriteria FIGO (2014)

| Stadium | Kriteria |
|---------|--|
| I | Tumor terbatas pada ovarium atau tuba fallopi |
| IA | Pertumbuhan tumor terbatas pada satu ovarium, cairan ascites atau cairan bilasan peritoneum tidak mengandung sel-sel ganas, tidak ada pertumbuhan tumor pada permukaan |
| IB | Pertumbuhan tumor terbatas pada kedua ovarium, cairan ascites tidak mengandung sel-sel ganas, tidak ada pertumbuhan tumor |
| IC | Tumor terbatas pada satu atau kedua ovarium |
| IC1 | Tumor pecah saat pembedahan |
| IC2 | Kapsul tumor pecah sebelum pembedahan atau tumor pada permukaan ovarium |
| IC3 | Terdapat sel-sel ganas dalam cairan ascites atau cairan bilasan peritoneum |
| II | Tumor pada satu atau kedua ovarium, dengan perluasan ke dinding pelvis (dibawah pelvic brim) atau kanker peritoneum primer |
| IIA | Perluasan dan atau metastasis ke uterus dan atau tuba falopi dan atau ovarium |
| IIB | Perluasan ke jaringan di daerah pelvis |

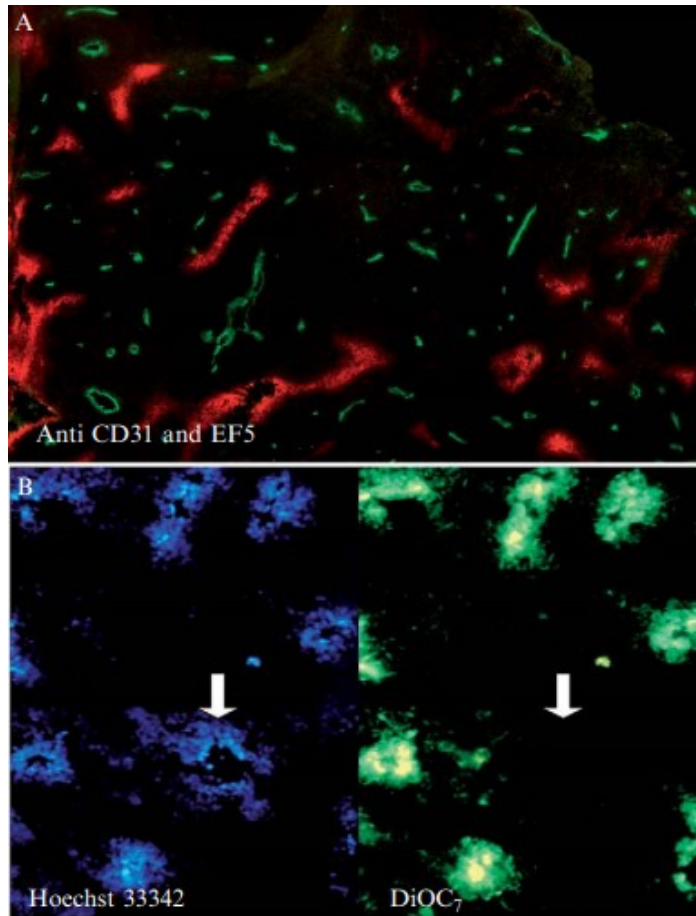
| Stadium | Kriteria |
|----------|--|
| III | Tumor pada satu atau kedua ovarium, yang telah terkonfirmasi dengan sitologi atau histologi terjadi implantasi diluar peritoneal pelvis dan atau metastase ke kelenjar limfe retroperitoneal |
| IIIA1 | Penyebaran hanya pada kelenjar limfe retroperitoneal |
| IIIA1(1) | Tumor yang bermetastasis maksimal berukuran ≤ 10 mm |
| IIIA1(2) | Tumor yang bermetastasis berukuran > 10 mm |
| IIIA2 | Secara mikroskopis, melibatkan peritoneum ekstrapelvik (diatas brim) \pm kelenjar getah bening retroperitoneal positif |
| IIIB | Secara makroskopis, ekstrapelvik, metastase peritoneum ≤ 2 cm \pm kelenjar getah bening retroperitoneal positif. Termasuk perluasan tumor ke kapsul hati/empedu |
| IIIC | Secara makroskopis, ekstrapelvik, metastase peritoneum > 2 cm \pm kelenjar getah bening retroperitoneal positif. Termasuk perluasan tumor ke kapsul hati/empedu |
| IV | Metastasis jauh, tidak termasuk metastase peritoneal |
| IVA | Efusi pleura dengan sitologi positif |
| IVB | Metastase hepar dan atau metastase parenkim limpa, metastase ke organ ekstraabdominal (termasuk kelenjar getah bening inguinal dan kelenjar getah bening diluar kavum abdomen) |

2.2 Kondisi Hipoksia Sel Tumor

Keberadaan sel dalam lingkungan yang sangat rendah oksigen (sel hipoksik) pada tumor manusia telah ditemukan lebih dari 50 tahun yang lalu oleh Thomlinson dan Gray (1955) berdasarkan observasi mereka pada distribusi nekrosis relatif ke pembuluh darah tumor manusia. Mereka menemukan keseragaman yang jarak kurang lebih 150 μ M dari pembuluh darah ke nekrosis dan memperkirakan jarak ini merupakan jarak difusi oksigen melalui jaringan yang melakukan proses respirasi yang memberikan konsentrasi oksigen pada pembuluh darah. Mereka

menyatakan, nekrosis adalah keadaan pada saat nol, atau mendekati nol, tingkat oksigen pada periode waktu yang diperpanjang dan sel di sekitar area nekrotik bersifat *viable*, namun pada tingkat oksigen yang secara patologis rendah. Observasi ini, digabungkan dengan hasil studi yang dilakukan oleh Gray et al. (1953) pada beberapa tahun sebelumnya, yang menunjukkan tingkat oksigenasi yang rendah melindungi sistem biologis dari efek sitotoksik X-ray, hal ini dapat disimpulkan bahwa sel hipoksik pada tumor manusia menjadi hal yang membatasi kurabilitastumor pada radioterapi.

Pada teknik visualisasi hipoksia, marker yang dimetabolisme di bawah kondisi hipoksik dan kemudian divisualisasi dengan antibodi fluoresens menunjukkan oksigenasi rendah pada sel tumor yang jauh dari pembuluh darah. Teknik kuantitatif lain adalah dengan menggunakan elektroda oksigen polarografik, sebuah alat yang mengukur *tension* oksigen pada jaringan. Elektroda ini diletakkan pada ujung jarum dan secara cepat dan otomatis melalui jaringan. Hasilnya adalah histogram yang merefleksikan status oksigenasi jaringan yang diperiksa. Jaringan subkutan normal memiliki tekanan parsial oksigen median 40-60 mmHg. Tumor memiliki oksigenasi yang lebih rendah kadarnya.

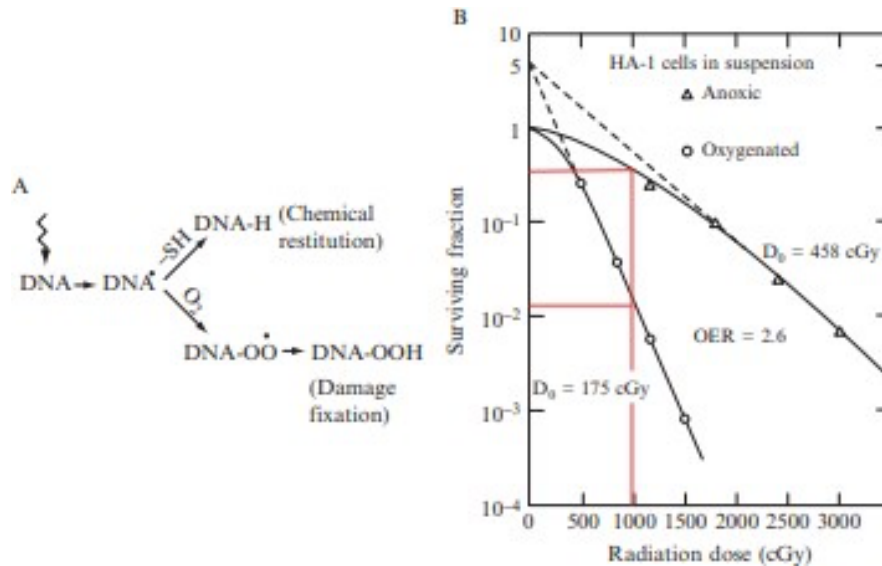


Gambar 1. Ekspresi memiliki oksigenasi yang lebih rendah kadarnya

Sebuah teori bahwa bentuk kedua dari hipoksia, yaitu hipoksia akut, dapat muncul pada tumor sebagai hasil dari aliran darah yang berfluktuasi. Hipotesis ini diperbaharui oleh Chaplin et al. dan Trotter et al. dengan memeriksakan aliran darah tumor dengan menggunakan pewarna (Hoechst 33342 dan DiOC7) dengan berbagai macam eksitasi dan property emisi. Kedua pewarna memiliki paruh waktu yang singkat pada pembuluh darah namun tetap melekat pada sel dekat dengan pembuluh darah. Berdasarkan teori ini, fluktuasi pada aliran darah menunjukkan pembuluh

darah tumor dapat secara temporer mengalami oklusi, sehingga menyebabkan hipoksia. Sehingga, sangat penting untuk diketahui hipoksia akut dan kronis merupakan bentuk dari 2 akhir spectrum yang berjalan kontinyu dengan fluktuasi pada pembuluh darah tanpa adanya oklusi total. Tumor manusia memproduksi situasi dinamik dengan jarak difusi oksigen yang berfluktuasi pada berbagai macambagian tumor.

Pengaruh hipoksia tumor juga dapat memengaruhi terapi kanker sudah dijelaskan sejak tahun 1953 oleh Gray et al. bahwa efek radiasi ion pada sel dan jaringan menurun pada hilangnya oksigen. Sudah diketahui juga sebelumnya bahwa berkurangnya oksigen menghasilkan keadaan radioresisten. Hal ini merupakan produk dari tingkat metabolisme yang rendah dari sel. Sebuah eksperimen menjelaskan pada sensitisasi radiasi dari sel hipoksik, oksigen harus ada pada saat dilakukan radiasi, bahkan dalam bentuk fraksi beberapa detik sebelum dan setelah eksposur radiasi. Oksigen disini berperan sebagai kadar psikokemikal untuk membuat kerusakan radiasi menjadi permanen. Meskipun diketahui bahwa DNA adalah target dari radiasi yang bertujuan *cell killing*, mekanisme oksigen merupakan reaksi yang terlibat di dalamnya (Gambar 2).



Gambar 2. Mekanisme hipoksia dalam DNA sebagai *cell killing*

HIF-1 berperan dalam terapi kanker dan merupakan salah satu cara eksploitasi hipoksia pada tumor. Hipoksia diketahui merupakan faktor prognostik yang buruk pada terapi tumor dengan radioterapi dan kemoterapi. Namun demikian, hipoksia juga merupakan karakteristik yang unik pada tumor yang dapat digunakan sebagai antitumor selektif, seperti melalui sitotoksin hipoksik (Tirapazamine, Banoxantrone, dan PR-104). Cara lainnya adalah dengan terapi gen selektif hipoksia serta membuat HIF-1 sebagai target.

Karena sedikitnya spesifitas tumor pada strategi terapi gen terbaru, sangat penting bahwa semua protokol sekarang ini diinvestigasi adalah pada terapi gen kanker termasuk pemberian vektor penghantar langsung menuju ke tumor, dengan menggunakan injeksi jarum. Hal ini memiliki keterbatasan aplikabilitas terhadap terapi kanker karena metastasis dari tumor primer sangat bervariasi, tidak dapat diakses atau

tidak terdeteksi untuk dilakukan injeksi. Alternatif dari cara ini adalah dengan melakukan transkripsi atau translasi gen terapeutik dengan properti tumor spesifik sehingga ekspresi dari protein tertentu menjadi tumor spesifik. Salah satu cara untuk melakukan hal ini adalah dengan menggunakan fakta bahwa faktor transkripsi HIF-1 diekspresikan pada tingkat yang tinggi pada kebanyakan tumor, namun tidak pada jaringan normal (Talks et al., 2000; Zhong et al; 1999). HIF-1 terdiri dari dimer HIF- 1 α dan beta, dan merupakan bentuk yang meningkat pada sel tumoroleh karena proses peningkatan transkripsi sel yang bertransformasi dan proses stabilisasi oleh protein dalam keadaan hipoksik (Harris, 2002). Ekspresi HIF-1 α juga berkaitan dengan prognosis yang buruk dan resistensinya terhadap terapi kanker kepala, leher, ovarium dan esophagus (Talks et al., 2000; Zhong et al; 1999).

HIF-1 menstimulasi transkripsi gen dalam jumlah yang besar dengan mengikat sekuens-sekuens yang dikenal dengan *hypoxia-responsive elements* (HSREs) dalam regio promotor gen target. Sehingga strategi untuk mendapatkan transkripsi spesifik hipoksia pada terapi gen adalah dengan membentuk promotor yang responsif untuk HIF-1 dan kemudian dapat mengatur ekspresi dari gen terapeutik terutama pada tumor.

Strategi lain yang potensial dalam mengeksploitasi hipoksia pada terapi gen adalah dengan menghantarkan *one-electron* reduktase, seperti: sitokrom P450 reduktase (P450R), sebagai gen terapeutik yang

mengaktivasi prodrug, sehingga membatasi aktivasi prodrug ke daerah-daerah hipoksik, reduktase ini dapat dikombinasikan dengan dengan regulasi HIF-1 pada ekspresi P450R untuk lebih jauh meningkatkan selektivitas tumor (Patterson et al., 2002). Pendekatan yang sama juga melalui metabolisme selektif hipoksia AQ4N dengan CYP34A sebagai enzim/system prodrug untuk GDEPT (McCharty et al., 2003).

Masalah pada pendekatan-pendekatan seperti ini adalah didapatkannya sistem hantaran vektor yang efisien ke sel yang mengekspresikan HIF-1 dan/atau hipoksik yang ditemukan pada region yang jauh dari pembuluh darah. Kemungkinan hantaran dari protein terapeutik oleh HRE ke tumor adalah mengambil keuntungan pada fakta makrofage sering ikut juga berperan dalam tumor dan makrofage tersebut menghambat peningkatan tingkat HIF-1 α pada berbagai macam tumor manusia (Burke et al; Griffiths et al., 2000).

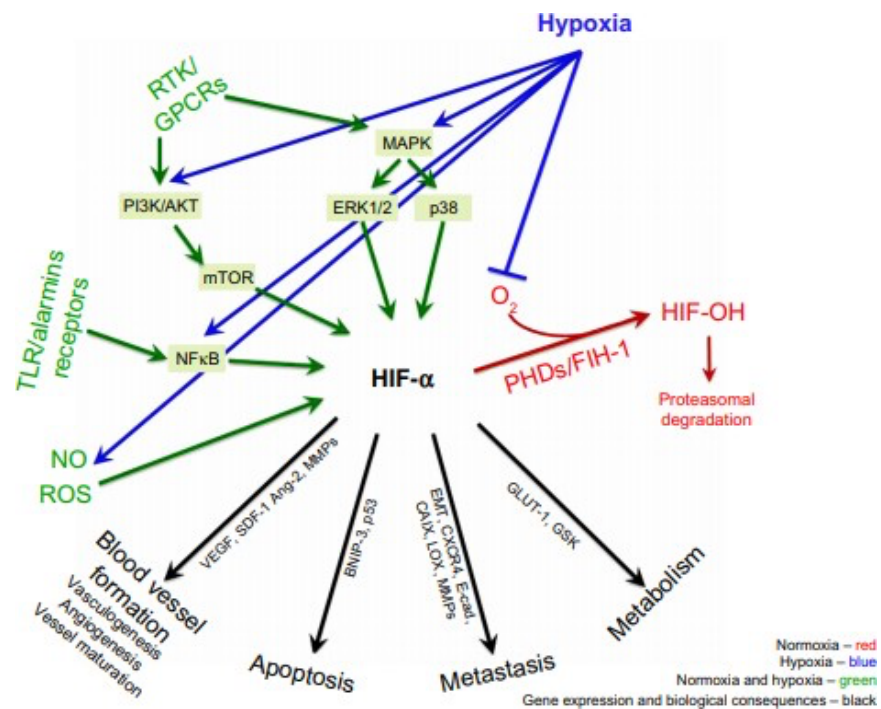
Peran HIF-1 pada angiogenesis, utilisasi glukosa dan *survival* sel tumor, asosiasinya dengan buruknya prognosis, dan fakta bahwa pertumbuhan jaringan transplantasi (*xenografts*) diinhibisi oleh hilangnya aktivitas HIF-1 membuatnya menjadi target tumor yang spesifik. Perlu diketahui bahwa ekspresi HIF-1 tidak hanya terbatas pada sel hipoksik di banyak tumor, namun juga pada mutasi onkogenik di Ras, Src atau Her2/Neu. Terdapat 2 cara yang dapat digunakan untuk mengeksploitasi kadar yang tinggi pada HIF-1 α pada kanker. Yang pertama adalah inhibisi transaktivasi gen target HIF-1 (seperti : angiogenesis yang menginduksi

VEGF) dapat diperkirakan memiliki efek antitumor. Yang kedua adalah menekan kadar protein HIF-1 dengan melakukan destabilisasi atau menghambat produksi mereka (Brown, 2007)

2.3 Jalur HIF

Adaptasi seluler terhadap hipoksia secara utama dimediasi oleh golongan regulator transkripsi, HIF, ditemukan 2 dekade yang lalu. Induksi hipoksik dan stabilisasi protein oleh subunit HIF- α , HIF-1 α , HIF-2 α dan HIF-3 α) diregulasi oleh sensor oksigen, termasuk enzim PHD dan FIH-1. PHD dan FIH-1 adalah awal mula dari HIF- α dan aktivitasnya sangatlah bergantung pada oksigen. Pada sel yang mengandung oksigen, subunit HIF- α dihidroksilasi oleh PHD dan FIH-1, yang memfasilitasi pelabelan HIF- α OH oleh pVHL, polyubiquitination dan degradasi protein HIF- α oleh proteasome. Ketika kadar oksigen jatuh, enzim PHD akan kehilangan aktivitasnya dan hidroksilasi dari subunit HIF- α diinhibisi dan degradasi terhambat. Pada yang tidak terjadi hidroksilasi, subunit HIF- α yang stabil akan melakukan translokasi ke nucleus dimana mereka melakukan dimerisasi dengan subunit HIF-beta yang terekspresi untuk mengikat DNA dan menginisiasi transkripsi gen melalui jalur adaptif (Gambar 3).

Jalur HIF dimodulasi pada keadaan yang independen dengan hipoksia. HIF- α menstabilisasi dan aktivitasnya diregulasi oleh perubahan epigenetic dan mutasi, sehingga mengarah pada hilangnya fungsi supresi tumor (ING4, p53, PTEN, VHL) dan didapatkannya fungsi onkogen (Ras, Raf, Src, mTOR, dan Myc). Regulasi HIF- α yang independen hipoksia ini muncul pada respon sitokin, lipopolisakarida dan growth factor. ROS mitokondrial dan NO juga berperan dalam melakukan up atau downregulasi akumulasi HIF-1 α .



Gambar 3. Jalur HIF-1 alfa

Oleh karena karakteristik tumor yang berbagai macam termasuk fenotipe hipoksik dan inflamatori, jalur signaling dikativasi secara simultan dan mereka memiliki berbagai macam gen target. HIF-1 lafa dan NFKB

bersama meregulasi lebih dari 1000 gen dan mengontrol fenotipe sel kanker metastasis dan maligna :

1. Meningkatkan survival sel melalui *growth factor* dan inhibisi jalur proapoptosis Kontribusi neovaskularisasi tumor via VEGF, reseptor VEGF, COX-2, iNOS
2. Meregulasi *detachment* sel via downregulasi dari adesi molekul seperti *cadherin*
3. Menginduksi migrasi sel dan invasi melalui enzim degradasi matriks Jalur HIF dan KFKB dikontrol melalui mekanisme loop *feedback* negatif dan juga via *alarmins*.

2.4 Peran Hipoksia pada Progresivitas dan Metastasis Kanker

Hipoksia patologis merupakan faktor keadaan yang bersifat mikro pada tumor yang memfasilitasi survival dari sel dan propagasi dari tumor. Kunci utama respon seluler pada hipoksia adalah overekspresi subunit HIF-1 α dan HIF-1 α dan target *downstream* mereka yang meningkatkan formasi pembuluh darah agresivitas, metastasis dan resistensi terapi. Pembuluh darah membuat suatu alur tuba dan kapiler yang memberikan tubuh oksigen dan nutrisi. Mereka terbentuk untuk kepentingan yang krusial pada embriogenesis dan fisiologi.

Angiogenesis yang abnormal merupakan keadaan patologis termasuk di dalamnya progresi penyakit, dimana sel kanker hiperproliferasi melewati pembuluh darah dan menjadi hipoksik. Hipoksia menginduksi

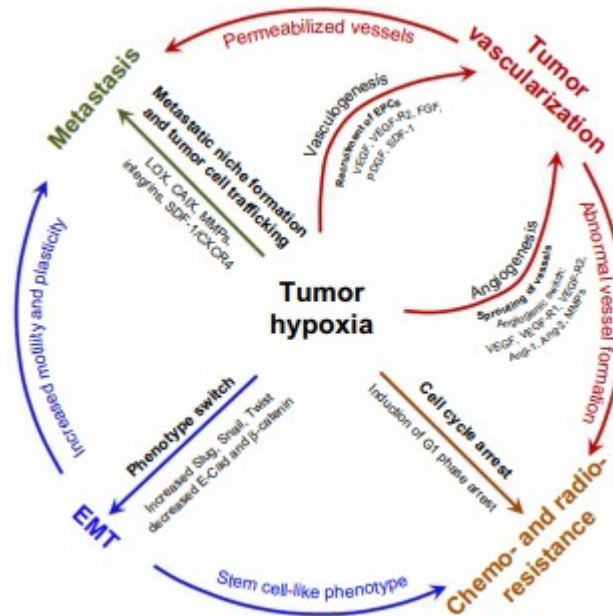
ketidakseimbangan faktor pro- dan anti-angiogenik serta produksinya, hal ini membuat formasi pembuluh darah yang meningkat, cepat dan tidak teratur. Hipoksia dan HIF-1 α berkontribusi dalam rekrutmen *Endothelial Progenitor Cell* dari sumsum tulang dan induksi diferensiasinya menjadi *Endothelial Cell* dengan regulasi dari VEGF, regulator vaskulogenesis primer. Hipoksia dan HIF-1 α juga tergabung dalam proses angiogenesis dengan menginduksi ekspresi enzim (MMP) untuk pertumbuhan pembuluh darah dan membelah. Hipoksia dan HIF-1 α juga diketahui mendukung maturasi pembuluh darah melalui induksi Ang-1, PDGF dan TGF- β untuk merekrut sel suportif seperti sel otot polos dan perisit menciptakan pembuluh darah yang matur dan stabil. Pada tumor, neovessel sering tidak normal, imatur dan bocor. Mereka tidak cukup dan berlebihan tergantung tipe tumor. Neovaskulogenesis menjaga aliran pembuluh darah ke jaringan tumor yang membesar secara cepat, memberikan nutrisi dan oksigen untuk sel kanker, semakin banyak sel kanker, semakin hipoksik. Hipoksia menstimulasi angiogenesis untuk menghilangkan kondisi hipoksik, menutup lingkaran buruk tersebut. Konsekuensinya, jaringan tumor menjadi sangat hipoksik dengan vaskulatur yang berlebihan namun juga disfungsional.

Angiogenesis yang meningkat berkaitan dengan metastasis, karena vaskulatur yang permeable dan heterogen memfasilitasi sel tumor untuk melakukan ekstrasvasasi, sirkulasi dan relokasi. Oksigenasi tumor merupakan faktor kritis pada progresi kanker dan overekspresi dari subunit

HIF- α pada tumor dan metastasisnya berkaitan dengan agresivitas dari mayoritas kanker manusia dan berkaitan dengan tingkat survival yang buruk.

Telah dijelaskan bahwa sel hipoksik lebih agresif dan invasif dengan kemampuan yang lebih baik dalam melakukan metastasis. Sebagai contoh sel *myeloma multiple* yang dikultur dalam keadaan hipoksik in vitro dan diinjeksi ke dalam tikus dapat menyebar ke dalam sumsum tulang jauh lebih cepat dibandingkan dengan sel yang dikultur dalam kondisi normal. Secara mekanis, hipoksia menunjukkan pengaruh sel kanker yang memiliki sifat invasif dan migratorik via EMT, sebuah trans-diferensiasi dari sel dengan tujuan mendapatkan kemampuan mobile dan plastik, sebuah proses yang mengubah ekspresi gen sebelum terjadi migrasi. EMT aktif secara fisiologis selama embriogenesis dan regenerasi jaringan, seperti pada karsinogenesis pada berbagai macam tumor solid dan keganasan hematologi.

HIF-1 α menunjukkan ekspresinya pada 90% kanker gaster manusia. Inhibisi HIF-1 α secara signifikan mengurangi metastasis dari sel kanker gaster in vivo dan sel yang defisien HIF kurang motil, invasif dan adesif secara in vitro. Keterlibatan besar pada regulator hipoksik utama, HIF-1 α , pada semua tahap metastasi, mengarah pada berbagai macam studi untuk menginhibisi molekul ini guna mengurangi sel kanker sehingga dapat menurunkan metastasis (Gambar 4).



Gambar 4. Ekspresi HIF-1 α sebagai regulator hipoksik utama

Klasifikasi histologi dari WHO untuk tumor ovarium memisahkan neoplasma ovarium berdasarkan jaringan asal yang paling mungkin: epitel permukaan (65%), sel germinal (15%), stroma tali pusat seks (10%), metastasis (5%), tumor epitel permukaan selanjutnya diklasifikasikan berdasarkan jenis sel (serosa, mucinous, endometrioid, dll) dan atipia (jinak, batas [proliferasi atipikal, potensi ganas rendah] atau ganas; ganas dapat bersifat invasif atau non-invasif), Sebagian besar tumor ganas adalah epitel permukaan (90%).

Permukaan epitel - tumor stroma

1. Tumor Serosa :

- Jinak (cystadenoma)
- Tumor perbatasan (tumor serous borderline)
- Ganas (adenokarsinoma serosa)

2. Tumor Mukosa, seperti endoserviks dan jenis usus:
 - Jinak (cystadenoma)
 - Tumor perbatasan (tumor batas mukosa)
 - Ganas (Adenokarsinoma lendir)
3. Tumor endometrioid:
 - Jinak (cystadenoma)
 - Tumor perbatasan (tumor batas endometrioid)
 - Ganas (adenokarsinoma endometrioid)
4. Tumor sel transisi:
 - Tumor brenner
 - Tumor keganasan penyuluh batas
5. Tumor Brenner ganas
 - Karsinoma sel transisional (tipe non-Brenner)
6. Epitel-stroma:
 - Adenosarcoma
 - Carcinosarcoma (sebelumnya tumor Mullerian campuran)