

KARYA AKHIR

HUBUNGAN EKSPRESI HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 ALFA (HIF-1 α) DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR & METASTASIS KE KELENJAR GETAH BENING PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF

THE CORRELATION BETWEEN EXPRESSION OF HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1ALPHA (HIF-1 α) AND HISTOPATHOLOGICAL GRADING, LYMPHOVASCULAR INVASION & LYMPH NODE METASTASIS IN INVASIVE BREAST CARCINOMA



DISUSUN OLEH :

AGNES DYAH CHRISTINAHADI

C 075 19 2 002

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)

PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2023

HUBUNGAN EKSPRESI HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 ALFA (HIF-1 α) DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI, INVASI LIMFOVASKULAR & METASTASIS KE KELENJAR GETAH BENING PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis
Patologi Anatomi

Disusun dan Diajukan Oleh

AGNES DYAH CHRISTINAHADI

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)

PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2023

KARYA AKHIR

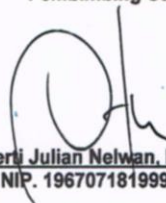
**HUBUNGAN EKSPRESI HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1
ALFA (HIF-1 α) DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI,
INVASI LIMFOVASKULAR & METASTASIS KE KELENJAR
GETAH BENING PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF**

Disusun dan diajukan oleh :
AGNES DYAH CHRISTINAHADI
C075192002

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis
Program Studi Ilmu Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 13 November 2023
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. dr. Bertu Julian Nelwan, M.Kes, Sp.PA(K)
NIP. 196707181999031002

Pembimbing Pendamping



dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA
NIP. 197704092002121002

Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Anatomi

dr. Upik A Miskad, RhD, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Prof.Dr.dr.Haerani Rasvid,M.Kes,Sp.PD,K-GH,FINASIM,Sp.GK
NIP. 19680830 1999603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

NAMA : AGNES DYAH CHRISTINAHADI

NIM : C075192002

PROGRAM STUDI : PPDS ILMU PATOLOGI ANATOMIK FAKULTAS
KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

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

Makassar, 13 November 2023

Yang menyatakan,



AGNES DYAH CHRISTINAHADI

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

Penulisan tesis ini merupakan salah satu syarat penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam penelitian dan penulisan karya akhir ini, penulis mendapat sangat banyak bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. Berti Julian Nelwan, M.Kes, Sp.PA(K) sebagai pembimbing pertama dalam penelitian ini atas segala perhatian, bimbingan, dan dorongannya selama proses penelitian sampai penyusunan karya akhir ini, sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA, sebagai pembimbing kedua yang selalu menyempatkan diri untuk membimbing dan mendorong penulis di tengah kesibukannya.
3. Dr. dr. Suryani Tawali, MPH sebagai pembimbing statistik dalam penelitian ini, yang membantu membimbing dan membantu penulis dalam metodologi penelitian dan analisis statistik karya akhir ini.
4. dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K) sebagai Ketua Program Studi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas segala bantuan bimbingan, dan dorongannya dalam menyelesaikan penyusunan karya akhir ini dengan baik.
5. Rektor, Dekan Fakultas Kedokteran dan Kepala Pusat Program Pendidikan Dokter Spesialis Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomi Universitas Hasanuddin Makassar.
6. Seluruh staf pengajar di bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali (khususnya

Prof.dr.Syarifuddin Wahid, Ph.D, Sp.PA(K); dr. Gunawan Arsyadi, Sp.PA(K); dr. Truly D. Djimahit, Sp.PA(K); dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA (K), Sp.S; dr. Djumadi Achmad, Sp.PA(K); dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D, Sp.PA(K); dr. Ni Ketut Sungowati, Sp.PA(K); Dr. dr. Gatot S. Lawrence, Sp.PA(K); Dr. dr. Rina Masadah, M.Phill, Sp.PA(K); dr. Juanita, Sp.PA(K); dr. Imeldy Prihatni Ma'mun, M.Kes, Sp.PA; dr. Amalia, M.Kes, Sp.PA dr. Haslindah Dahlan, Sp.PA) atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan dan dalam penyusunan tesis ini.

7. dr. Jeni Poniman, Sp.PA dan seluruh teman sejawat residen Patologi Anatomi atas semua bantuan, dukungan, doa dan persaudaraan yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini.
8. Seluruh teknisi dan pegawai laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
9. Suami penulis, dr. Machyuddin T. M. Pangaribuan; anak penulis, Shelomita Pangaribuan dan Moses Pangaribuan; orang tua penulis, Koesbani Hadisoenarko (Alm), Ni Ketut Rustini, Sahala Pangaribuan, Rosmery Rajagukguk, beserta seluruh keluarga yang senantiasa mendukung, mendoakan dan menjadi sumber inspirasi serta semangat utama bagi penulis selama menjalani pendidikan.
10. Semua pihak yang telah membantu penulis, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis berharap agar karya akhir ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomi di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala khilaf dan salah mulai dari awal penelitian sampai akhir penulisan karya akhir ini.

Makassar, 13 November 2023

Yang menyatakan,

AGNES DYAH CHRISTINAHADI

ABSTRAK

AGNES DYAH CHRISTINAHADI. Hubungan Ekspresi Hypoxia Inducible Factor-1 Alfa (HIF-1 α) Dengan Derajat Histopatologi, Invasi Limfovaskular & Metastasis Ke Kelenjar Getah Bening Pada Karsinoma Payudara Invasif (Dibimbing oleh Berti J. Nelwan, M. Husni Cangara, Suryani Tawali)

Karsinoma payudara merupakan salah satu keganasan terbanyak pada wanita di seluruh dunia. Prognosis karsinoma payudara dipengaruhi beberapa faktor antara lain derajat histologi tumor (berdasarkan 3 komponen, yaitu bentukan tubular, pleomorfisme inti dan jumlah mitosis), invasi pembuluh darah, dan status metastasis pada kelenjar getah bening. HIF-1 α adalah faktor transkripsi heterodimer sebagai penanda jaringan hipoksia yang dapat terdeteksi pada kebanyakan jenis kanker. Pada kanker payudara invasif, ekspresi HIF-1 α meningkat dan berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF, angiogenesis dan metastasis.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat histopatologi, ada tidaknya invasi limfovaskular maupun dengan ada tidaknya metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma payudara invasif.

Metode : Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar pada bulan April hingga Agustus 2023, dengan menggunakan metode observasi analitik cross sectional. Sampel penelitian berasal dari 80 sediaan blok parafin tumor payudara asal reseksi mastektomi berdasarkan diagnosa karsinoma payudara invasif derajat 1, 2 dan 3 dengan invasi limfovaskular dan tanpa invasi limfovaskular, yang bermetastasis dan yang tidak bermetastasis ke kelenjar getah bening. Kemudian dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi poliklonal HIF-1 α . Penilaian mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya oleh dua orang ahli patologi dan peneliti.

Kesimpulan : Hasil penelitian dengan uji Chi-Square menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ekspresi HIF-1 α dengan derajat histopatologi, adanya invasi limfovaskular dan kejadian metastasis ke kelenjar getah bening, dimana HIF-1 α tereksresi yang lebih kuat pada karsinoma payudara invasif derajat 3, adanya invasi limfovaskular (LVSI positif) dan adanya metastasis ke kelenjar getah bening ($p < 0,05$). Sehingga HIF-1 α dapat digunakan sebagai penanda prognostik tambahan pada penderita karsinoma payudara invasif.

Kata kunci: *Hif-1 α , karsinoma payudara invasif, derajat histopatologi, invasi limfovaskular, metastasis kelenjar getah bening*

ABSTRACT

AGNES DYAH CHRISTINAHADI. The Correlation between Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha (HIF-1 α) Expression with Histopathological Grading, Lymphovascular Invasion & Lymph Node Metastasis in Invasive Breast Carcinoma (Supervised by Berti J. Nelwan, M. Husni Cangara, Suryani Tawali)

Breast carcinoma is one of the most common malignancies in women worldwide. The prognosis of breast carcinoma is influenced by several factors, including the histological tumor grade (based on three components: tubule formation, nuclear pleomorphism, and mitotic count), vascular invasion, and lymph node metastasis status. HIF-1 α is a heterodimeric transcription factor that serves as a marker for hypoxic tissue and can be detected in most types of cancers. In invasive breast cancer, the expression of HIF-1 α is increased and is associated with increased expression of VEGF, angiogenesis, and metastasis.

Objective: This research aims to investigate the association between HIF-1 α expression and histopathological grade, the presence of lymphovascular invasion, and the occurrence of lymph node metastasis in invasive breast carcinoma.

Method: The study was conducted in the Anatomic Pathology Laboratory of the Faculty of Medicine at Hasanuddin University, Makassar, from April to August 2023, utilizing a cross-sectional analytical observational method. The research samples consisted of 80 paraffin-embedded breast tumor specimens obtained from mastectomy resections, based on diagnoses of invasive breast carcinoma grades 1, 2, and 3, with or without lymphovascular invasion, and with or without lymph node metastasis. Immunohistochemical staining was performed using a polyclonal antibody targeting HIF-1 α . Microscopic evaluation was carried out by two expert pathologists and the researcher.

Conclusion: The results of the Chi-Square test indicated a significant difference in HIF-1 α expression concerning histopathological grades, the presence of lymphovascular invasion, and lymph node metastasis. HIF-1 α was expressed more strongly in grade 3 invasive breast carcinoma, cases with lymphovascular invasion (LVSI positive), and cases with lymph node metastasis ($p < 0.05$). Therefore, HIF-1 α can be utilized as an additional prognostic marker in patients with invasive breast carcinoma.

Keywords: *HIF-1 α , invasive breast carcinoma, histopathological grades, lymphovascular invasion, lymph node metastasis.*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 LATAR BELAKANG MASALAH.....	1
1.2 RUMUSAN MASALAH	3
1.3 TUJUAN PENELITIAN	3
1.3.1 TUJUAN UMUM.....	3
1.3.2 TUJUAN KHUSUS	3
1.4 HIPOTESIS PENELITIAN.....	4
1.5 MANFAAT PENELITIAN.....	4
1.5.1 APLIKASI KLINIK.....	4
1.5.2 PENGEMBANGAN ILMU	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 KARSINOMA PAYUDARA INVASIF	5
2.1.1 ANATOMI DAN HISTOLOGI.....	5
2.1.2 ETIOLOGI	6
2.1.3 PATOGENESIS	7
2.1.4 DERAJAT HISTOLOGI	9
2.1.5 PROGNOSIS	11
2.1.6. MEKANISME METASTASIS PADA KARSINOMA PAYUDARA	12
2.2 HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR 1 (HIF-1).....	16

2.2.1 REGULASI HIF-1	17
2.2.2 EKSPRESI DAN REGULASI HIF-1 PADA KEGANASAN	18
2.2.3 HIF-1 PADA METASTASIS	20
2.3 HIF-1 α DAN KARSINOMA PAYUDARA	23
2.4. JENIS-JENIS HIPOKSIA DAN HUBUNGANNYA DENGAN HIF-1	23
2.5 KERANGKA TEORI.....	25
BAB III KERANGKA KONSEP	26
3.1 KERANGKA KONSEP	26
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	27
4.1 DESAIN PENELITIAN	27
4.2 TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN.....	27
4.3 POPULASI PENELITIAN	27
4.4 SAMPEL DAN CARA PENGAMBILAN SAMPEL	27
4.5 PERKIRAAN JUMLAH SAMPEL MINIMAL	28
4.6 KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI	28
4.6.1 KRITERIA INKLUSI.....	28
4.6.2 KRITERIA EKSKLUSI	29
4.7 CARA KERJA	29
4.7.1 ALOKASI SUBYEK	29
4.7.2 PROSEDUR PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN	29
4.7.3 PROSEDUR PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA	30
4.7.4 INTERPRETASI IMUNOHISTOKIMIA	31
4.8 DEFINISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBYEKTIF	31
4.9 PENGOLAHAN DATA DAN ANALISA DATA.....	34
4.10 ALUR PENELITIAN	35
4.11 PERSONALIA PENELITIAN.....	36
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	37
5.1. HASIL PENELITIAN	37
5.1.1 KARAKTERISTIK SAMPEL	37
5.1.2. HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI HIF-1 α DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF	39
5.1.3. HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI HIF-1A DENGAN INVASI LIMFOVASKULAR SEL TUMOR PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF.....	41
5.1.4. HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI HIF-1A DENGAN	

METASTASIS SEL TUMOR KE KGB PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF	43
5.2 PEMBAHASAN	45
5.2.1 KARAKTERISTIK PASIEN	45
5.2.1. HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI HIF-1A DENGAN DERAJAT HISTOPATOLOGI PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF	47
5.2.2. HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI HIF-1A DENGAN INVASI LIMFOVASKULAR SEL TUMOR PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF	50
5.2.3. HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI HIF-1A DENGAN METASTASIS SEL TUMOR KE KGB PADA KARSINOMA PAYUDARA INVASIF	51
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	53
6.1. KESIMPULAN	53
6.2. SARAN	53
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Histological Grading IBC.....	10
Tabel 2	Karakteristik Sampel.....	38
Tabel 3	Hubungan Ekspresi HIF-1 α dengan derajat histopatologi pada Karsinoma Payudara Invasif	40
Tabel 4	Perbandingan Ekspresi HIF-1 α antara derajat histopatologi pada Karsinoma Payudara Invasif	40
Tabel 5	Perbandingan intensitas, proporsi dan IRS antar derajat histopatologi pada payudara karsinoma invasif	41
Tabel 6	Hubungan Ekspresi HIF-1 α dengan invasi limfovaskular sel tumor pada Karsinoma Payudara Invasif	42
Tabel 7	Perbandingan intensitas, Proporsi dan IRS berdasarkan keberadaan lymphovascular invasion (LVSI) pada jaringan payudara karsinoma invasif	42
Tabel 8	Hubungan Ekspresi HIF-1 α dengan metastasis sel tumor ke KGB pada Karsinoma Payudara Invasif	43
Tabel 9	Perbandingan intensitas, Proporsi dan IRS berdasarkan metastasis pada payudara karsinoma invasif	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Anatomi dan Histologi Payudara.....	6
Gambar 2	Jalur Umum Perkembangan Karsinoma Payudara	9
Gambar 3	Skoring Bentukkan Tubular	10
Gambar 4	Skoring Pleomorfisme Inti	11
Gambar 5	Mekanisme Metastase Limfatik.....	14
Gambar 6	Regulasi HIF-1 oleh hidroxyilasiprolyl dan degradasi proteasomal	16
Gambar 7	HIF-1 berespon terhadap perubahan suplai oksigen.....	18
Gambar 8	Jalur pensinyalan HIF-1	20
Gambar 9	Regulasi HIF-1 pada kejadian metastasis.....	22
Gambar 10	Ekspresi HIF-1a pada karsinoma payudara Invasif... ..	39

DAFTAR SINGKATAN

AKT	Protein Kinase B
ARNT	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator
BRCA	Breast Cance
bHLH	Basic-helix-loop-helix
CTL	Cytotoxic T Lymphocyte
DCIS	Ductal Carcinoma In Situ
EGFR	Epithelial Growth Factor Receptor
EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition
ER	Estrogen Receptor
ERBB2	Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2
ERK	Extracellular-signal-Regulated Kinase
ETD	Extralobular terminal duct
FGFR	Fibroblast Growth Factors Receptor
HIF	Hypoxia Inducible Factor
HIF-1 α	Hypoxia-inducible factor 1 α
HIF-1 β	Hypoxia-inducible factor 1 α
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HRE	Hypoxia Response Element
IBC	Invasive Breast Carcinoma
IBC-NST	Invasive Breast Carcinoma No Special Type
IFN	Interferon
IGF-1	Insuline-like Growth Factor-1
IL	Interleukin
ITD	Intralobular Terminal Duct
LPB	Lapangan Pandang Besar
MAP	Mitogen-activated protein
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MDSC	Myeloid-derived suppressor cell
MMP	Matrix Metalloproteinase
mRNA	Messenger Ribonucleated Acid
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin

NF- κ B	Nuclear Factor of κ B
ODD	Oxygen-dependent degradation
PDGF	Platelet Derivative Growth Factor
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
PHDs	Prolyl hydroxylase
PR	Progesteron Receptor
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
ROS	Reactive oxygen species
RTK	Receptor Tyrosin Kinase
SCLC	Small Cell Lung Cancer
sLN	Sentinel Lymph node
TAM	Tumor Associated Macrophage
TDLU	Terminal-Duct Lobular Unit
TILs	Tumor Infiltrating Lymphocytes
TGF β	Transforming Growth Factor β
TNF α	Tumor Necrosis Factor α
TNBC	Triple-Negative Breast Cancer
TP53	Tumor protein 53
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VHL	Von Hippel-Lindau

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Karsinoma payudara merupakan salah satu keganasan terbanyak pada wanita di seluruh dunia. Berdasarkan data *The Global Cancer Observatory 2020* menunjukkan ada 2.261.419 (11,7%) kasus baru yang terdeteksi dengan 684.999 (6,9%) kasus kematian setiap tahunnya. Di Indonesia karsinoma payudara berada di urutan pertama dengan insiden 68,8 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 22,4 per 100.000 penduduk (Centers for Disease Control and Prevention, 2022; Sung et al., 2021). Data pasien dengan kasus karsinoma payudara pada Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar pada tahun 2022 sebanyak 136 kasus.

Karsinoma payudara meningkat cepat pada usia lebih dari 30 tahun. 75% karsinoma payudara ditemukan pada usia lebih dari 50 tahun dan 5% pada usia 40 tahun. Namun, karsinoma mammae dapat berkembang pada usi berapa pun, dari anak-anak hingga usia tua. Karsinoma payudara pada pria hanya 1% dibandingkan pada Wanita (Azim & Partridge, 2014; E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

Pada karsinoma payudara mayoritas 90% bersifat unifokal dan 3% menyebar masif atau multifokal. Karsinoma payudara dapat terjadi pada kuadran payudara manapun dengan frekuensi yang lebih tinggi yaitu 50% di kuadran luar atas. Sekitar 0,1% karsinoma payudara ditemukan sebagai tumormetastasis aksila tanpa tumor primer payudara yang jelas (Loibl et al., 2021; E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

Invasive breast carcinoma (IBC) adalah neoplasma maligna yang berasal dari epitel kelenjar mammae sedangkan *invasive breast carcinoma (IBC) of no special type (NST)* adalah kelompok IBC yang tidak dapat

diklasifikasikan secara morfologis dalam tipe histologi tertentu. Sebagian besar karsinoma mammae merupakan IBC-NST, dimana karakteristik prognostik serta penatalaksanaannya sama atau sedikit lebih buruk (E. Rakha, Allison, Schnitt, et al., 2019).

Metastasis atau penyebaran sel tumor dapat terjadi baik secara limfogen maupun hematogen. Pada umumnya karsinoma bermetastasis melalui sistem limfatik (limfogen), dimana pemeriksaan histopatologi menjadi prosedur *gold standard* untuk mendeteksi adanya metastasis ke kelenjar getah bening regional (Rahman & Mohammed, 2015).

Prognosis karsinoma payudara dipengaruhi beberapa faktor antara lain derajat histologi tumor (berdasarkan 3 komponen, yaitu bentukan tubular, pleomorfisme inti dan jumlah mitosis), invasi pembuluh darah, dan status metastasis pada kelenjar getah bening. Apabila ditemukan metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening maka harapan hidup penderita akan turun dari 90% menjadi 20%. Status metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening berkaitan dengan angka kematian penderita kanker payudara (E. Rakha, Allison, Schnitt, et al., 2019).

HIF-1 adalah faktor transkripsi heterodimer yang terdiri dari subunit HIF-1 β yang diekspresikan secara konstitutif (juga dikenal sebagai translocator nuklir reseptor hidrokarbon aril (ARNT) dan subunit HIF-1 α yang dikontrol secara ketat. HIF-1 α sebagai penanda jaringan hipoksia yang dapat terdeteksi pada kebanyakan jenis kanker. Pada kanker payudara invasif, ekspresi HIF-1 α meningkat sekitar 24-56% yang berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF, angiogenesis dan metastasis (Liu et al., 2015; Semenza, 2007).

Maka dari itu perlu untuk dilakukan penelitian tentang hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat histopatologi, invasi limfovaskular, & kejadian metastasis ke kelenjar getah bening regional pada karsinoma payudara invasif (IBC-NST). Penelitian ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif dengan menggunakan sampel di Makassar belum pernah dilakukan.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

Apakah terdapat hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat histopatologi, invasi limfovaskular & kejadian metastasis ke kelenjar getah bening regional pada karsinoma payudara invasif ?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 TUJUAN UMUM

Untuk menentukan hubungan ekspresi HIF-1 α dengan derajat histopatologi karsinoma payudara invasif, ada tidaknya invasi limfovaskular maupun dengan ada tidaknya metastasis pada kelenjar getah bening.

1.3.2 TUJUAN KHUSUS

1. Menentukan derajat histopatologi karsinoma payudara invasif.
2. Menentukan skor ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif derajat 1, 2 dan 3.
3. Menentukan skor ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif dengan ada tidaknya invasi limfovaskular.
4. Menentukan skor ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif dengan ada tidaknya metastasis kelenjar getah bening.
5. Membandingkan skor ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif derajat 1, 2 dan 3.
6. Membandingkan skor ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif dengan ada tidaknya invasi limfovaskular.
7. Membandingkan skor ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif dengan ada tidaknya metastasis kelenjar getah bening.

1.4 HIPOTESIS PENELITIAN

Terdapat perbedaan ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif berdasarkan derajat histopatologi, invasi limfovaskular, dan metastasis ke kelenjar getah bening.

1. Ekspresi HIF-1 α lebih kuat pada karsinoma payudara invasif derajat 3 dibandingkan karsinoma payudara invasif derajat 2 dan karsinoma payudara invasif derajat 1.
2. Ekspresi HIF-1 α lebih kuat pada karsinoma payudara invasif dengan adanya invasi limfovaskular daripada karsinoma payudara invasif tanpa invasi limfovaskular.
3. Ekspresi HIF-1 α lebih kuat pada karsinoma payudara invasif yang bermetastasis daripada karsinoma payudara invasif yang tidak bermetastasis.

1.5 MANFAAT PENELITIAN

1.5.1 APLIKASI KLINIK

Sebagai faktor prediktif dan faktor prognostik pada karsinoma payudrainvasif sehingga dapat dijadikan pegangan dalam memberikan terapi.

1.5.2 PENGEMBANGAN ILMU

1. Memberikan informasi ilmiah tentang ekspresi HIF-1 α pada karsinoma payudara invasif.
2. Berdasarkan data hasil penelitian ini, bisa dikembangkan penelitian dengan parameter atau marker lainnya untuk lebih memperkuat daya prediksi dan daya prognosis pada karsinoma payudara invasif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

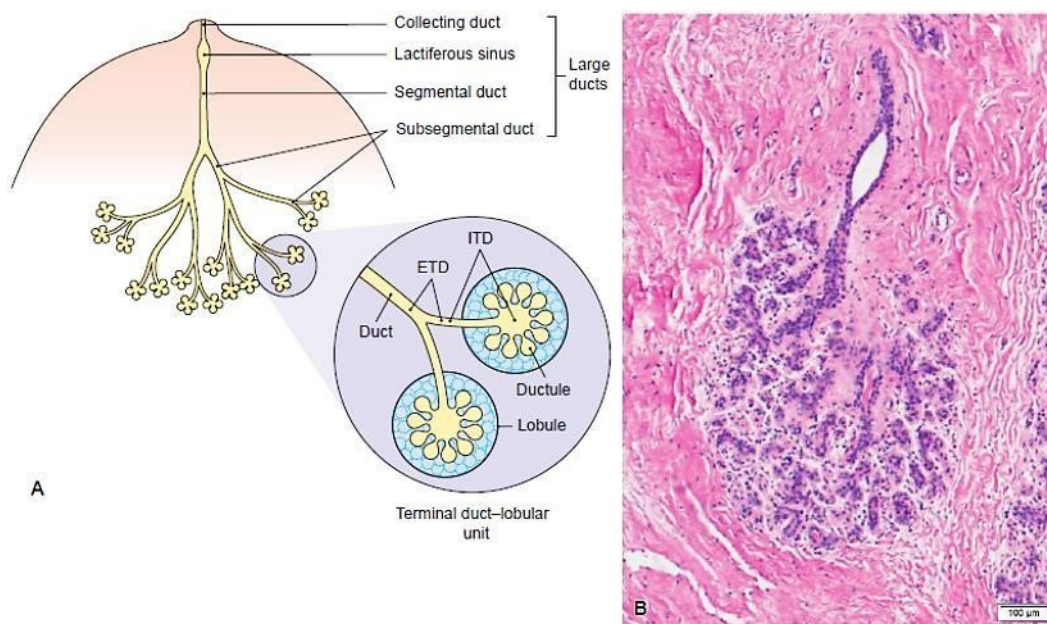
2.1 KARSINOMA PAYUDARA INVASIF

Karsinoma payudara invasif atau *Invasive Breast Carcinoma* (IBC) mengacu pada kelompok besar dan heterogen neoplasma maligna yang berasal dari epitel kelenjar mammae. Sedangkan *invasive breast carcinoma* (IBC) of no special type (NST) mengacu pada kelompok IBC yang tidak dapat diklasifikasikan secara morfologis dalam tipe histologi tertentu (E. Rakha, Allison, Schnitt, et al., 2019).

2.1.1 ANATOMI DAN HISTOLOGI

Unit morfofungsional mammae adalah struktur percabangan kompleks yang secara topografi tersusun dalam lobulus dan terdiri dari dua komponen utama: terminal duct–lobular unit (TDLU) dan sistem duktus besar. TDLU dibentuk oleh lobulus, yang kemudian membentuk sinus, dan duktus terminal yang mewakili bagian sekresi kelenjar. Duktus ini terhubung dengan duktus subsegmental yang mengarah ke duktus segmental, duktus laktiferus, dan bermuara di puting susu. Dilatasi fusiform yang terletak di bawah puting antaraduktus laktiferus dan segmental disebut sebagai sinus laktiferus (L. C. Collin, 2018).

TDLU dikenali dengan arsitektur lobularnya yang khas, terdapat mantel jaringan ikat, dan tidak ada serat elastis. Perkembangan mammae tergantung pada interaksi epitel dan jaringan mesenkim. Duktus yang besar memiliki stroma yang kurang dan dikelilingi oleh lapisan jaringan elastis. Seluruh sistem duktal-lobular mammae dilapisi oleh sel epitel (lapisan dalam) dengan fungsi sekresi dan absorpsi serta dikelilingi oleh sel myoepithelial (lapisan luar) (L. C. Collin, 2018).



Gambar 1. Anatomi dan Histologi Payudara. Terminal Duct–Lobular Unit. ETD = Extralobular terminal duct; ITD = intralobular terminal duct (L. C. Collin, 2018).

2.1.2 ETIOLOGI

Etiologi karsinoma mammae adalah multifaktorial. Sebagian besar penelitian menunjukkan faktor risiko sebagai berikut (Loibl et al., 2021; E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019):

1. Genetik; BRCA1 dan BRCA2.

Mutasi germline BRCA1 dikaitkan dengan risiko karsinoma mammae triple-negative (ER-negatif, PR-negatif, dan HER2-negatif), sedangkan mutasi germline BRCA2 dikaitkan dengan hormone receptor-positive.

2. Hormon; estrogen dan progesteron.

Tingkat insidens karsinoma mammae meningkat lebih tajam pada usia sebelum menopause (8% per tahun) dibandingkan setelahnya (2% per tahun), ketika sintesis estrogen dan progesteron ovarium berhenti dan produksi androgen ovarium berangsur-angsur berkurang

3. Faktor reproduksi; menarche dini, nullipara atau paritas rendah, usia tua saat melahirkan pertama, dan durasi laktasi kurang. Menarche dini, terlambat menopause, terapi penggantian hormon pascamenopause, nulliparitas, dan usia tua saat melahirkan pertama dikaitkan dengan peningkatan risiko karsinoma mammae hormon receptor-positive. Paritas sendiri dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko tumor triple-negative sedangkan durasi laktasi yang lama dikaitkan dengan penurunan risiko semua subtype tumor.
4. Diet; diet tinggi kalori yang kaya lemak dan protein hewani, disertai aktivitas fisik kurang dan obesitas. Pada wanita pascamenopause terdapat hubungan positif yang kuat antara indeks massa tubuh dan risiko karsinoma mammae lebih untuk hormone receptor-positive. Sedangkan pada wanita premenopauseterdapat hubungan negatif yang lemah, dimana indeks massa tubuh yang tinggi terkait dengan penurunan risiko kanker hormon receptor-positive dan peningkatan risiko triple-negative. Terdapat beberapa bukti bahwa alkohol, merokok, dan aktivitas fisik dikaitkan dengan risiko kanker hormone receptor-positive. Namun, penelitian pada populasi etnis tertentu mengungkapkan bahwa mungkin ada perbedaan berdasarkan populasi/ etnis dalam faktor risiko untuk biomarker/ subtype klinis tertentu.

2.1.3 PATOGENESIS

Patogenesis karsinoma mammae melalui beberapa jalur inisiasi, transformasi, dan perkembangan yang umumnya dijelaskan berdasarkan status reseptor hormon dan morfologi. ER-positif menunjukkan flat epithelial atypia, atypical ductal hyperplasia, dan ER-positive ductal carcinoma in situ (DCIS) sebagai prekursor karsinoma mammae invasif dan metastasis. Sedangkan ER-negatif menunjukkan ER-negative DCIS dan microglandularadenosis sebagai prekursor kanker ER-negatif (Feng et al., 2018; Loibl et al., 2021).

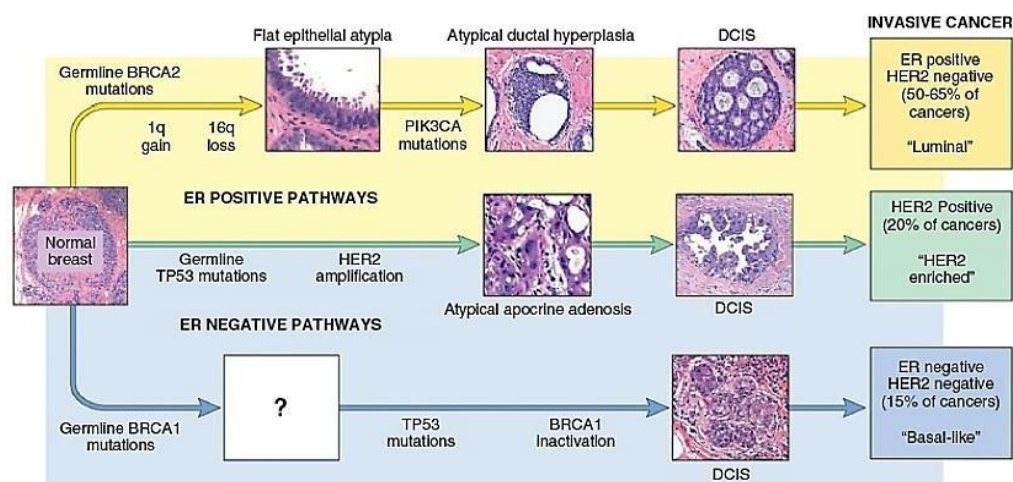
Gambaran histopatologi yang berbeda dari karsinoma payudara dan lesi prekursor menunjukkan manifestasi dari perubahan genetik yang

kompleks dan perubahan epigenetik yang menyebabkan karsinogenesis. Terdapat tiga jalur genetik dari karsinogenesis payudara yang diinisiasi oleh mutasi driver (Ellenson & Lester, 2018).

1. Kanker dengan ER-positif dan HER2-negatif berasal dari jalur dominan perkembangan karsinoma payudara, terdiri dari 50-65% kasus. Terjadi mutasi germline pada BRCA2 yang diturunkan. Sering berhubungan dengan *gains of chromosome 1q*, *losses of chromosome 16q*, dan mutasi aktivasi pada PIK3CA yang merupakan sebuah gen yang mengkode *phosphoinositide-3 kinase (PI3K)* yang merupakan komponen penting pada proses turunya jalur signal faktor pertumbuhan. Lesi genetik ini sama halnya dengan yang ditemukan pada *flat epithelial atypia* dan *atypical ductal hyperplasia*, sehingga kedua lesi ini dikatakan sebagai lesipreursor untuk kelompok kanker subtype ini. Kanker dengan ER-positif disebut “luminal” karena menyerupai sel luminal payudara normal dalam hal pola ekspresi mRNA, yang didominasi oleh gen yang diregulasi estrogen.
2. Kanker dengan HER2-positif berasal dari jalur amplifikasi gen HER2 pada kromosom 17q. Terdiri dari sekitar 20% karsinoma payudara, yang bisa disertai ekspresi ER-positif atau ER-negatif. Sering juga terjadi mutasi *germline* pada TP53 (*Sindrom Li-Fraumeni*). Lesi prekursor untuk kanker payudara subtype ini adalah *atypical apocrine adenosis*. Kanker ini memiliki pola ekspresi gen yang berbeda, didominasi oleh gen yang berhubungan dengan proliferasi yang diregulasi oleh turunya jalur signal dari reseptor HER2 tirosin kinase.
3. Kanker dengan ER-negatif dan HER2-negatif berasal dari jalur yang berbeda, yang perubahannya tidak bergantung pada reseptor estrogen

dan amplifikasi gen HER2. Pada kelompok jalur ini, tidak ditemukan lesi prekursor, mungkin karena sel tumor tumbuh sangat cepat menjadi karsinoma. Tumor ini terdiri dari sekitar 15 % dari semua kanker

payudara, paling sering ditemukan pada pasien dengan mutasi *germline BRCA1*. Tumor sporadik dari tipe ini sering memiliki mutasi berupa “*loss of function TP53*”, dan jarang dengan mutasi *BRCA1*. Akan tetapi mutasi *BRCA1* pada kasus sporadik sering bersifat *silenced* yang terjadi melalui mekanisme epigenetik. Tumor ini memiliki pola “*basal-like*” dan dapat pulamengandung gen yang juga terekspresi pada sel mioepitel normal.



Gambar 2. Jalur Umum Perkembangan Karsinoma Payudara (Ellenson & Lester, 2018)

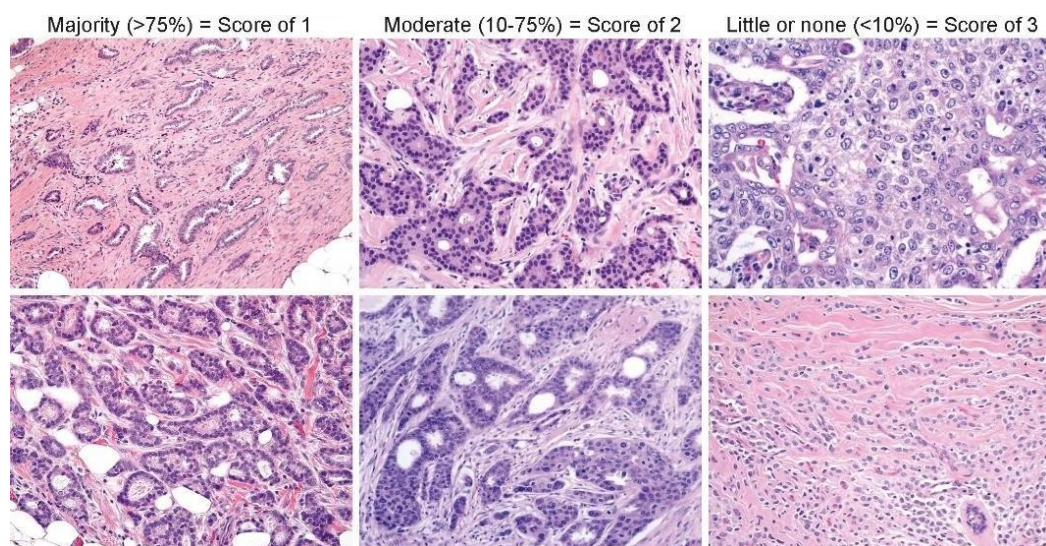
2.1.4 DERAJAT HISTOLOGI

Penilaian derajat histologi karsinoma payudara invasif menggunakan metode semikuantitatif dengan menilai bentuk tubular, pleomorfisme inti dan jumlah mitosis. Bentuk tubular dinilai pada seluruh tumor dengan pembesaran kecil; hanya struktur tumor dengan central lumina yang jelas dandikelilingi sel neoplastik yang dihitung. Sedangkan pleomorfisme inti dinilai dengan membandingkan ukuran dan bentuk sel tumor dengan sel epitel normaldi sekitarnya. Skor 1 jika ukuran inti sel tumor sama dengan inti sel normal (<1.5 kali), pleomorfisme minimal, kromatin halus dan anak inti tidak terlihat. Skor 2 jika inti sel tumor lebih besar (1.5-2x), pleomorfisme ringan-sedang, dan anak inti kecil dan tidak jelas. Skor 3 jika inti sel tumor lebih besar (>2x), dengankromatin vesikular, perbedaan ukuran dan bentuk yang jelas, dan anak inti terlihat (E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

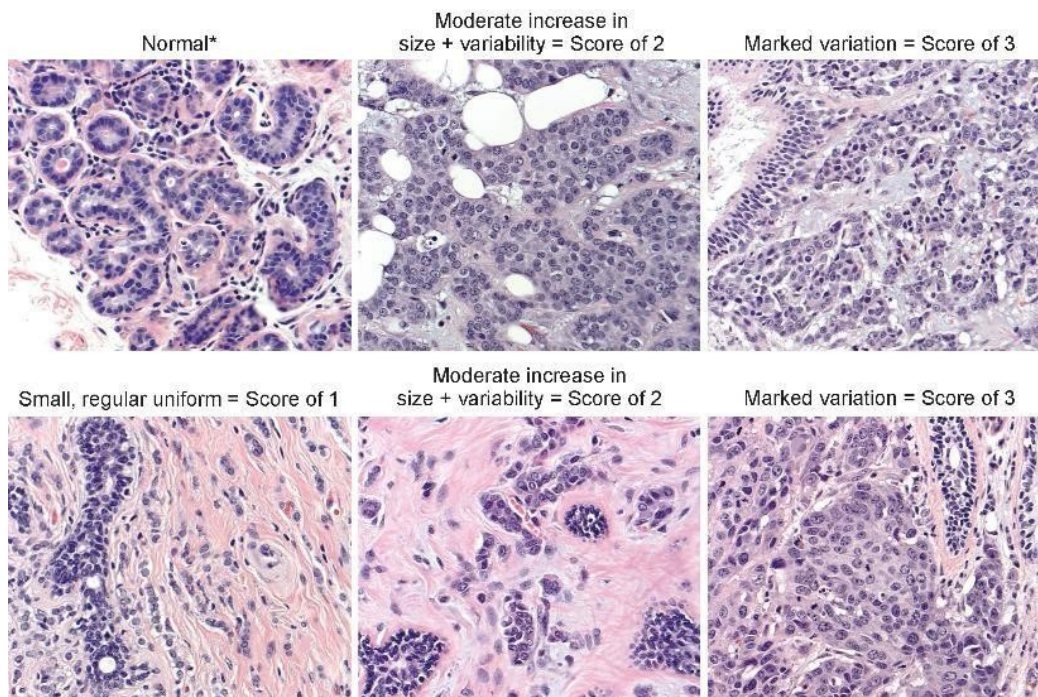
Tabel 1. Histological Grading IBC.

Feature	Score
Tubule and gland formation	
Majority of tumour (> 75%)	1
Moderate degree (10-75%)	2
Little or none (< 10%)	3
Nuclear pleomorphism	
Small, regular, uniform cells	1
Moderate increase in size and variability	2
Marked variation	3
Mitotic count	
Dependent on microscope field area ²	1-3
Total Score	Final grading
Add the scores for gland formation, nuclear polymorphism, and mitotic count:	
3-5	Grade 1
6 or 7	Grade 2
8 or 9	Grade 3

(E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019)



Gambar 3. Skoring Bentukkan Tubular (E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).



Gambar 4. Skoring Pleomorfisme Inti (E. Rakha, Allison, Ellis, et al., 2019).

2.1.5 PROGNOSIS

IBC-NST menyebabkan sebagian besar kasus karsinoma mammae, dan karakteristik prognostik serta penatalaksanaannya sama atau sedikit lebih buruk, dengan tingkat kelangsungan hidup 10 tahun 65-78% dibandingkan dengan karsinoma mammae secara keseluruhan (sekitar 80%). Prognosis sangat dipengaruhi oleh usia pasien, derajat histologi tumor, stadium tumor, invasi limfovaskular, dan prediktor respons terapi, seperti status ER, PR, dan HER2. Indeks proliferasi Ki-67 dan status AR juga telah terbukti memiliki nilai prognostik. Sekitar 70-80% dari IBC-NST adalah ER-positif, dan 12-20% dari kasus adalah HER2-positif. Manajemen IBC-NST juga dipengaruhi oleh karakteristik prognostik dan prediktif ini. Dalam satu penelitian, pasien kanker payudara berusia ≥ 50 tahun saat didiagnosis mengalami 17% kematian yang lebih tinggi daripada pasien yang lebih muda. Dalam studi lain, pasien usia menengah (40-60 tahun) menunjukkan hasil yang lebih baik daripada pasien usia muda dan lanjut (E. Rakha, Allison, Schnitt, et al., 2019).

2.1.6. MEKANISME METASTASIS PADA KARSINOMA PAYUDARA

Metastasis atau penyebaran sel tumor dapat terjadi baik secara limfogen maupun hematogen. Pada umumnya karsinoma bermetastasis melalui sistem limfatik. Drainage limfatik akan terkumpul pada limfonodus regional. Diseksi limfonodus yang kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi yang menemukan fokus sel kanker, menjadi prosedur *gold standard* untuk mendeteksi adanya metastasis (Rahman & Mohammed, 2015).

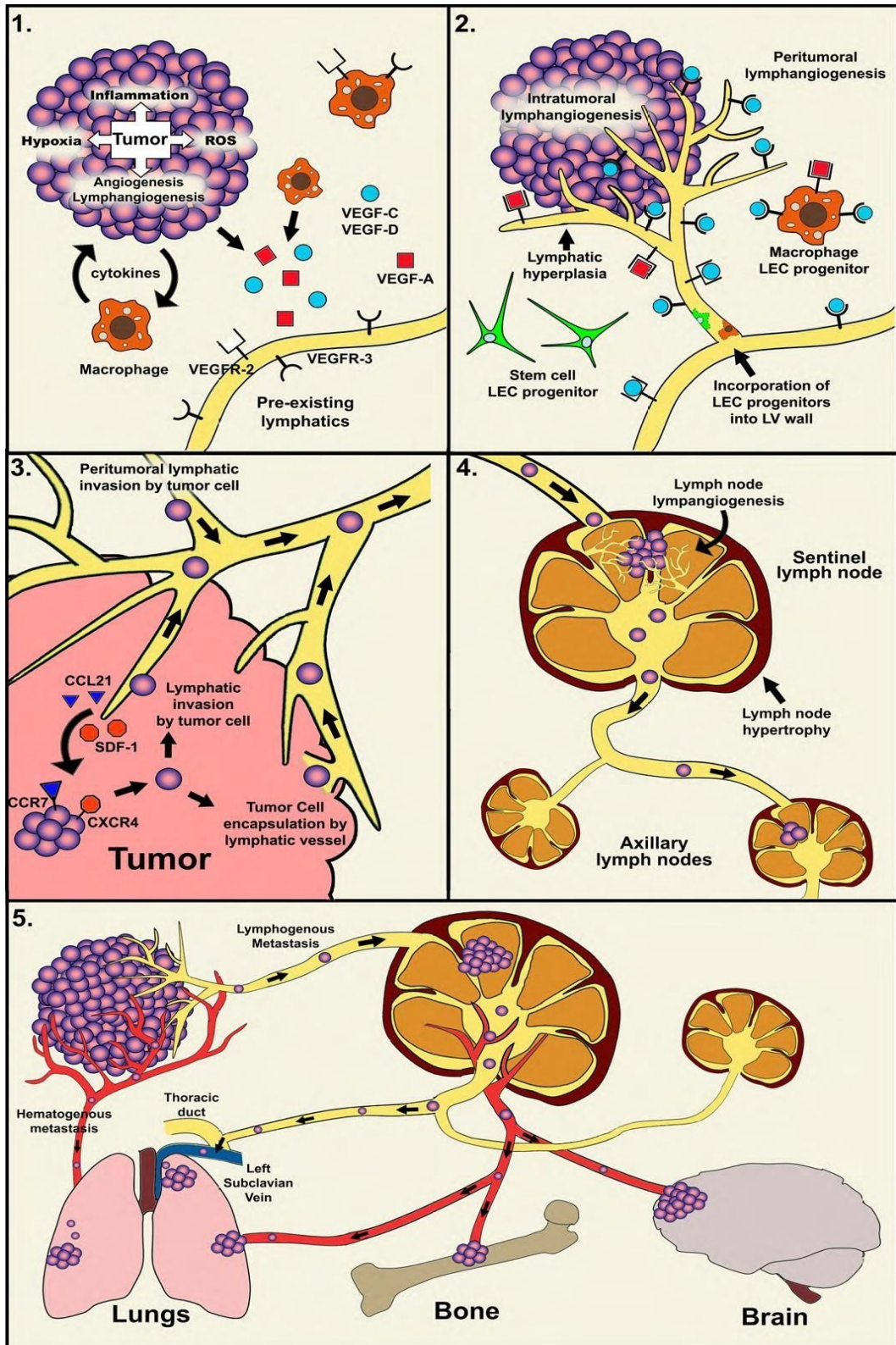
Pada pasien kanker payudara dengan stadium klinik I dan II, status limfonodus merupakan faktor prognosis yang sangat penting untuk penentuan harapan hidup pasien, terlepas dari status ukuran tumor, grading histopatologi, dan parameter klinikopatologi lainnya. Dan hingga saat ini, reseksi kelenjar getah bening aksila menyeluruh, telah rutin dilakukan dan ditemukan sekitar 20-35% positif mengandung sarang tumor metastasis. Kendati diseksi limfonodus aksila berhubungan dengan *long-term morbidity* dan kualitas hidup yang buruk, dalam bentuk manifestasi berupa; berkurangnya mobilitas bahu, gangguan sistem saraf sensorik, dan limfadema. Prosedur minimal yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan biopsi pada *sentinel lymph node (sLN)*. Prosedur ini pertama kali dilaporkan pada tahun 1991, yang secara akurat dapat memprediksi penyebaran sel tumor ke kelenjar limfe regional. *Sentinel lymph node (sLN)* merupakan kelenjar limfe yang pertama kali menerima drainage limfatik dari tumor yang mungkin mengandung sel metastatik. Pasien dengan *sLN* positif akan dilanjutkan dengan diseksi total pada kelenjar getah bening aksila, sedangkan pasien dengan *sLN* negatif akan dilanjutkan dengan prosedur yang berbeda (Ran et al., 2010).

Karakteristik fisiologis aliran limfatik menyediakan rute utama sebagai jalur metastasis sel tumor. Peningkatan ukuran tumor memicu peningkatan tekanan cairan interstitial intratumor yang kemudian akan diikuti dengan pelepasan cairan intersitital ke sistem limfatik untuk

mencapai homeostasis. Tidak sama seperti pembuluh vaskuler, pembuluh limfatik bersifat lebih permeabel dengan kecepatan aliran (*flow rate*) 100-500 kali lebih lambat dibandingkan aliran vaskuler karena memiliki tekanan yang lebih kecil akibat efek vasodilatasi. Oleh sebab itu, sistem limfatik menjadi rute utama dalam memfasilitasi penyebaran sel-sel tumor (Rahman & Mohammed, 2015).

Metastasis merupakan proses yang kompleks dan inefisien, yang membutuhkan regulasi sekuensial untuk terjadinya langkah-langkah biologis, diantaranya meliputi beberapa faktor yaitu disosiasi sel-sel tumor, peningkatan angiogenesis pada tumor primer, intravasasi, ketahanan dan difusi melalui sistem sirkulasi limfatik, adhesi ke dinding organ, ekstravasasi, pembentukan fokus metastasis pada parenkim organ, dan terakhir bermanifestasi secara klinis sebagai tumor sekunder. Kanker payudara lebih sering menggunakan sistem limfatik untuk bermetastasis. Sel kanker payudara memiliki organ target spesifik seperti penyebaran ke tulang (47-60%), hati (19-20%), paru-paru (16-34%), dan ke otak (10-16%) (Rahman & Mohammed, 2015).

Pada awalnya, sel kanker payudara bermigrasi dari fokus tumor primermenuju *sentinel lymph node (sLN)*. Setelah memasuki limfonodus, sel-sel tumor akan keluar melalui pembuluh efferent limfatik dan memanfaatkan sistem vena untuk masuk ke dalam sirkulasi sistemik. Dan dari studi lainnya didapatkan bahwa tumor primer mensekresikan *vascular endothelial cells factors (VEGF)-C, D* dan faktor-faktor terlarut lainnya yang kemudian berikatandengan *VEGF-3 receptors* pada sel endotel pembuluh limfatik yang kemudian memicu terjadinya proliferasi dan pembentukan pembuluh kapiler limfatik yang baru (limfangiogenesis). Limfangiogenesis berhubungan dengan peningkatankejadian metastasis ke *regional lymph node* (Blackburn et al., 2017; Nathanson, 2003; Rahman & Mohammed, 2015; Ran et al., 2010).

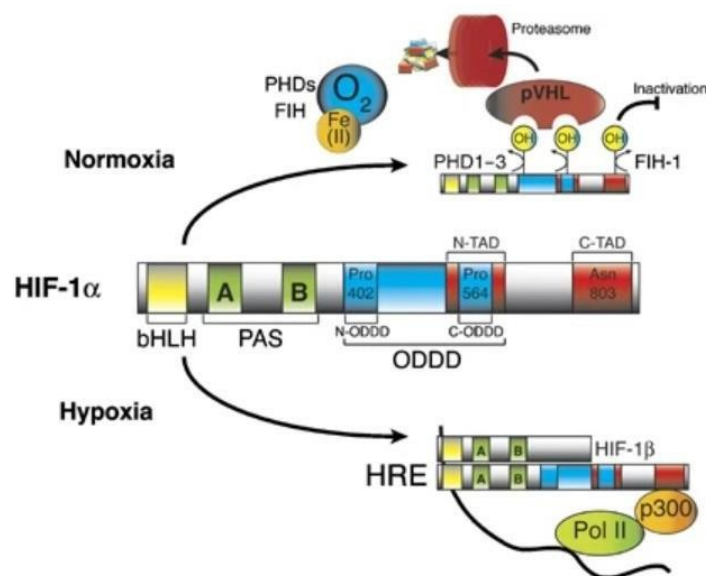


Gambar 5. Mekanisme Metastase Limfatik (Ran et al., 2010).

1. Keadaan Inflamasi, hipoksia, dan adanya pelepasan *ROS (reactive oxygen species)* akan meningkatkan pelepasan faktor limfangiogenik seperti *VEGF-C*, *VEGF-D*, dan *VEGF-A* yang diproduksi baik oleh sel tumor maupun oleh stroma sel tumor seperti makrofag dan fibroblast.
2. Terjadi pembentukan pembuluh limfatik baru intra-tumoral yang pada umumnya terbentuk pada bagian perifer tumor (peri-tumor) dan pada beberapa kasus terjadi pada intratumoral. Pembentukan pembuluh limfatik baru ini melibatkan aktivasi *VEGFR-3* oleh *VEGF-C/D* dan *VEGFR-2* oleh *VEGF-A* yang kemudian diikuti dengan proliferasi *lymphatic endothelial cell (LEC)*, bermigrasi kemudian membentuk pembuluh baru.
3. Sel-sel tumor kemudian menginvasi ke dalam pembuluh limfatik peri dan intra-tumoral (*Lymphatic vascular invasion/LVI*) yang menyebabkan metastase sel tumor ke *sentinel Lymphatic nodes (sLN)*.
4. Faktor-faktor yang dilepaskan oleh sel tumor, bukan hanya *VEGF-A* dan *VEGF-C*, menyebabkan perubahan morfologi pada *sLN* yaitu hipertrofi limfatik. Dan secara dramatis akan meningkatkan aliran masuk dan keluar limfatik, memicu terjadinya metastasis ke organ jauh.
5. Penyebaran ke organ jauh dapat melalui aliran darah (hematogen) atau melalui aliran limfe (limfogen). Penyebaran ke *sLN* akan diikuti dengan penyebaran sel tumor ke sirkulasi vaskuler melalui pembuluh darah kelenjar getah bening, atau melalui aliran limfatik yang memasuki sirkulasi sistem balik vena via duktus thorasis (Ran et al., 2010).

2.2 HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR 1 (HIF-1)

Hipoksia dapat dideteksi dengan suatu penanda jaringan hipoksia yaitu HIF-1. HIF-1 adalah faktor transkripsi yang memegang peranan penting dalam menjaga keseimbangan oksigen, baik pada tingkat seluler maupun pada tingkat sistemik. Molekul HIF1 merupakan heterodimer yang terdiri dari subunit α dan subunit β . Namun hanya subunit α yang stabilitas dan aktivitasnya ditingkatkan pada kondisi hipoksia. Dengan demikian, subunit ini yang dipercaya sebagai penanda jaringan yang hipoksia. Baik HIF-1 α dan HIF-1 β adalah anggota superfamili bHLH-PAS dari protein yang mengandung domain basic-helix-loop-helix (bHLH) dan PER-ARNT-SIM (PAS) yang terlibat dalam pengikatan DNA dan dimerisasi. HIF-1 α juga mengandung domain oxygen-dependent degradation (ODD) dan dua domain transaktivasi (N-TAD dan C-TAD) (Semenza, 2007; Weidemann & Johnson, 2008; Ziello et al., 2007).

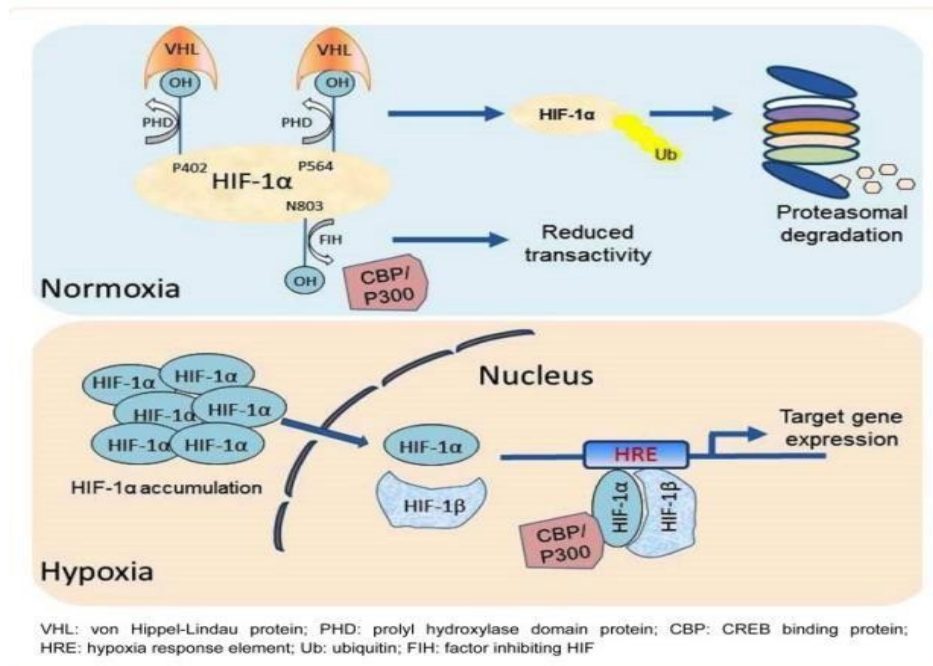


Gambar 6. Regulasi HIF-1 oleh hidroksilasi prolyl dan degradasi proteasomal (Weidemann & Johnson, 2008).

2.2.1 REGULASI HIF-1

HIF-1 α sebagai penanda jaringan hipoksia dideteksi pada kebanyakan jenis kanker padat seperti pada kanker otak, kandung kemih, payudara, usus, ovarium, pankreas, ginjal, dan prostat. Secara klinis, overekspresi HIF-1 α bisa dijadikan sebagai marker pada penyakit-penyakit dalam kondisi agresif tinggi dan sulit dilakukan pengobatan. HIF-1 akan mengaktifkan gen yang memungkinkan sel tumor tetap hidup dan berkembang dalam kondisi lingkungan kanker yang hipoksia (Semenza, 2007; Z. Zhang et al., 2018).

Oksigen akan mempengaruhi stabilitas dan aktivitas HIF-1 α melalui hidroksilasi residu prolin dan asparagin. Saat kondisi normoksia, dua residu prolin (P402 dan P564) dalam domain HIF-1 α ODD manusia dihidroksilasi oleh protein domain prolyl hydroxylase (PHDs). Hidroksilasi diperlukan untuk mengikat protein HIF-1 α ke von Hippel-Lindau (VHL). VHL adalah subunit pengenalan dari ligase ubiquitin E3 yang menambahkan rantai poli-ubiquitin ke HIF-1 α , yang kemudian menargetkan protein untuk degradasi proteasomal. Setelah itu, hidroksilasi dari residu asparagin 803 (N803) dalam HIF-1 α oleh faktor inhibitor HIF-1 (FIH) menekan interaksi HIF-1 α dengan koaktivator p300 dan CBP (protein pengikat CREB), dan akibatnya menghambat fungsi transaktivasi HIF-1 α pada kondisi normoksia. Dalam kondisi hipoksia, reaksi hidroksilasi prolin dan asparaginil dihambat, untuk menstabilkan protein HIF-1 α dan meningkatkan interaksi dengan koaktivatornya. Dengan demikian, pada sel hipoksia protein HIF-1 α terakumulasi, hetero-dimerisasi dengan HIF-1, mengikat urutan DNA konsensus 5'-RCGTG-3' dalam elemen respons hipoksia (HRE) yang terletak di gen target, dan kemudian mengaktifkan transkripsinya (Ke & Costa, 2006; Liu et al., 2015; Weidemann & Johnson, 2008).



Gambar 7. HIF-1 berespon terhadap perubahan suplai oksigen.

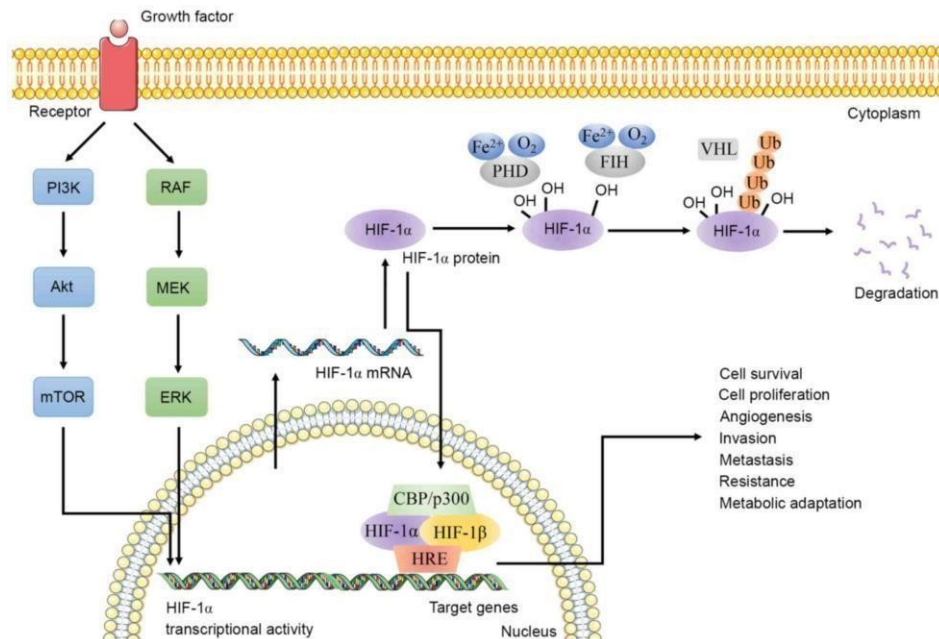
2.2.2 EKSPRESI DAN REGULASI HIF-1 PADA KEGANASAN

Jalur HIF-1 tidak hanya diatur oleh konsentrasi oksigen, akan tetapi stimulasi hypoxia-independent growth factor, hilangnya fungsi tumor suppressor, dan aktivasi onkogenik telah dilaporkan mempengaruhi aktivitas HIF-1 α . Sinyal faktor pertumbuhan yang mempengaruhi jalur HIF-1 α meliputi faktor pertumbuhan seperti human insulin-like growth factor, human epidermal growth factor (EGF), dan prostaglandin E2. Hilangnya fungsi protein tumor supresor, seperti VHL, fosfatase, dan phosphatase and tension homolog mendelesi pada kromosom 10 (PTEN) dan p53 dalam sel kanker, mengganggu mekanisme degradasi protein HIF-1 α , dan meningkatkan sintesis HIF-1 sehingga pada akhirnya menyebabkan akumulasi protein HIF-1 α . Aktivasi jalur pensinyalan PI3K/ Akt onkogenik merangsang ekspresi HIF-1 α melalui translasi yang bergantung pada mTOR. Selain itu, reactive oxygen species seluler dan nitric oxide juga telah terbukti menstabilkan HIF-1 α , dan menyebabkan akumulasi protein (Liu et al., 2015; Semenza, 2007).

HIF-1 α memainkan peran penting dalam biogenesis kolagen pada tumor payudara dengan meningkatkan ekspresi hidroksilase P4HA1, P4HA2, PLOD1 dan PLOD2 selain perannya yang telah ditetapkan sebelumnya dalam regulasi anggota keluarga lisil oksidase (Glikes & Semenza, 2013).

Sebagian besar tumor solid pada manusia, mekanisme adaptasi terhadap kondisi kekurangan oksigen jaringan adalah melalui aktivitas hypoxia-inducible factors (HIF-1 and HIF-2). Ekspresi berlebih dari HIF-1 telah terkonfirmasi pada banyak tumor solid, meliputi tumor ovarium, kandung kemih, uterus, payudara, usus besar, otak, pankreas, ginjal, dan prostat (Liu et al., 2015; Pezzuto & Carico, 2018).

Dalam kondisi hipoksia, jalur PI3K/Akt/mTOR dan jalur MAPK (RAF/MEK/ERK) mengatur aktivitas transkripsi HIF-1 α . HIF-1 α dan HIF-1 β yang diregulasi ke atas membentuk heterodimer untuk mengatur ekspresi gen target HIF-1 α dengan partisipasi ko-aktivator CBP/p300. Di bawah kondisi normoksia, residu FIH hidroksilat asparagin (N803) dalam C-TAD untuk memblokir ikatan kooperatif CBP/p300 dan C-TAD. PHD, yang aktivitasnya bergantung pada besi, dioksigen, dan 2-oksoglutarat, terlibat dalam hidroksilasi HIF-1 α . Selain itu, VHL, penekan tumor, mengatur ekspresi HIF-1 α melalui ubiquitination dan degradasi proteasome. Akhir dari jalur pensinyalan ini akan mempengaruhi ketahanan sel inang, proliferasi sel, angiogenesis, invasi, metastasis suatu tumor, resistensi obat, dan adaptasi metabolik seperti yang tergambar pada Gambar 8 (Q. Zhang et al., 2021).



Gambar 8. Jalur pensinyalan HIF-1.

2.2.3 HIF-1 PADA METASTASIS

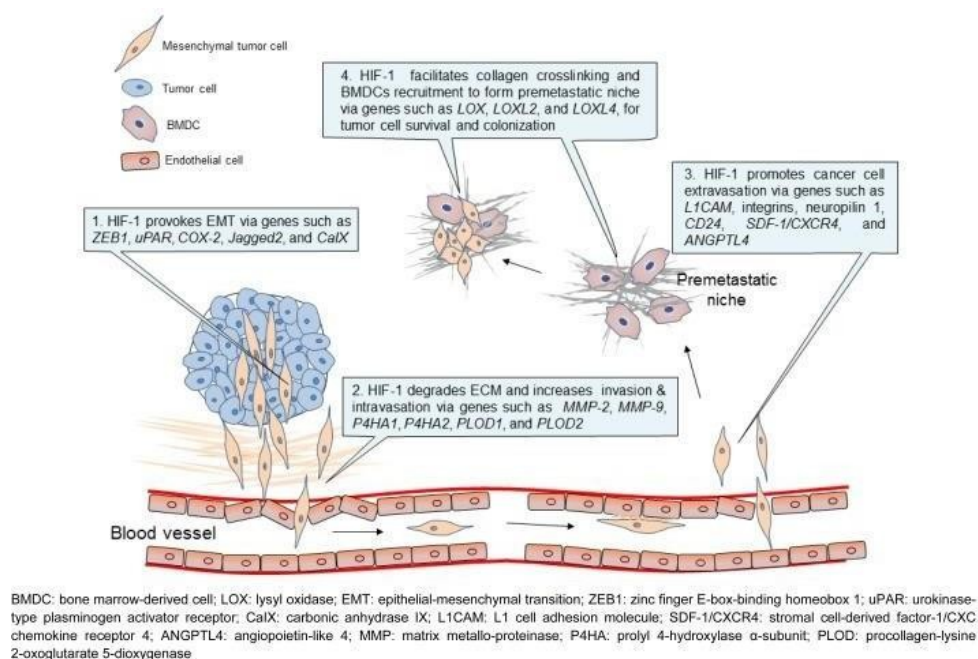
Lebih dari 90% dari semua kematian akibat kanker payudara adalah akibat dari metastasis, terutama ke tulang, paru-paru, hati, otak dan kelenjar getah bening. Metastasis tumor adalah penyebaran sel kanker dari tempat awal pertumbuhan tumor primer ke organ yang jauh di mana mereka bertahan hidup, berkembang biak, dan membentuk tumor sekunder. Metastasis adalah proses kompleks yang mengandung serangkaian langkah terpisah: (1) transisi epitel-mesenkim (EMT), di mana sel-sel kanker kehilangan kontak sel-ke-sel dan mendapatkan motilitas; (2) invasi jaringan lokal, yang difasilitasi oleh degradasi matriks ekstraseluler (ECM); (3) intravasasi, di mana sel-sel kanker menembus dinding pembuluh darah dan memasuki sirkulasi; (4) homing, di mana sel-sel kanker harus bertahan dalam sirkulasi; (5) ekstravasasi, selama sel-sel kanker melewati dinding pembuluh darah dan keluar dari aliran darah di organ yang jauh; dan, (6) pembentukan niche formation di situs metastasis untuk menciptakan lingkungan yang menguntungkan bagi pertumbuhan sel kanker (Liu et al., 2015).

HIF-1 memainkan peran kunci dalam banyak aspek penting dari biologikanker payudara, termasuk angiogenesis, pemeliharaan sel induk, adaptasi metabolik, EMT, invasi, metastasis, dan resistensi terhadap terapi radiasi dan kemoterapi. HIF-1 memprovokasi EMT melalui up-regulating faktor transkripsi atau represor terkait EMT, mengaktifkan jalur pensinyalan terkait EMT, memodulasi sitokin inflamasi terkait EMT, serta mengatur jalur lain seperti regulator epigenetik. Dalam sel kanker payudara, EMT diaktifkan oleh pensinyalan ZEB1-MYB-E-cadherin di bawah tekanan hipoksia, yang menginduksi ekspresi ZEB1 yang lebih tinggi dan ekspresi MYB yang lebih rendah (Liu et al., 2015).

Untuk menyerang jaringan di sekitarnya, sel kanker perlu mendegradasi membran basal (BM) di sekitarnya dan penghalang matriks ekstraseluler. Matrix metallo-proteinases (MMPs) adalah anggota dari zinc-dependent endo-peptidases yang mendegradasi banyak komponen ECM, termasuk BM. Di antara MMP, MMP-2 dan MMP-9 mendegradasi kolagen tipe IV, yang merupakan komponen utama BM. MMP-2 dan MMP-9 telah berkorelasi positif dengan insiden metastasis yang lebih tinggi dan dengan prognosis yang buruk pada kanker payudara. Kolagen tipe I sangat penting untuk migrasi sel selama invasi. Ketika ukuran tumor meningkat, serat kolagen menjadi lurus dan sejajar, yang memfasilitasi invasi sel kanker. Studi terbaru menunjukkan bahwa HIF-1 α memainkan peran penting dalam biogenesis kolagen pada kanker payudara dengan meningkatkan tingkat ekspresi pro-kolagen prolyl (P4HA1 dan P4HA2) dan lisil (PLOD1 dan PLOD2) hidroksilase pada sel kanker dan stroma (Liu et al., 2015).

Untuk ekstravasasi, sel kanker pertama-tama harus menempel pada sel endotel (EC) di pembuluh darah, proses yang dikenal sebagai marginasi, dan kemudian mengganggu interaksi antara EC untuk menembus keluar dari pembuluh darah. Zhang dkk. (2012) menunjukkan bahwa HIF-1 mempromosikan ekstravasasi sel kanker payudara di organ lain. Selain itu, invasi sel kanker payudara naif melalui EC monolayers meningkat ketika sel terkena media terkondisi yang dihasilkan oleh sel kanker payudara hipoksia (Liu et al., 2015).

Selama metastasis, sel-sel yang diturunkan dari sumsum tulang (BMDCs) direkrut ke tempat metastasis, di mana mereka membentuk kelompok sel yang mendahului kedatangan sel tumor dan kemudian dijajah oleh sel kanker metastatik. Sel kanker payudara hipoksia menghasilkan banyak anggota keluarga lysyl oxidase (LOX), termasuk LOX, LOXL2, dan LOXL4 yang bergantung pada HIF-1. LOX adalah enzim yang disekresikan dari sel kanker payudara primer yang mengkatalisis ikatan silang kolagen pada residu lisin terhidroksilasi. LOX awalnya ditemukan untuk merombak ECM pada tumor primer. Studi terbaru mengungkapkan bahwa LOX dapat merombak ECM di lokasi yang jauh dari tumor primer. Sel kanker payudara primer mensekresikan anggota keluarga LOX ke dalam sirkulasi, yang mengarah ke ikatan silang kolagen dalam jaringan metastatik, yang memfasilitasi perekrutan BMDC dan, selanjutnya, pembentukan *premetastatic niche formation* kanker payudara (Liu et al., 2015; Toss et al., 2017).



Gambar 9. Regulasi HIF-1 pada kejadian metastasis

2.3 HIF-1 α DAN KARSINOMA PAYUDARA

Pada kanker payudara invasif, ekspresi HIF-1 α meningkat sekitar 24-56% pada kanker payudara invasif yang berhubungan dengan peningkatan ekspresi VEGF. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa HIF-1 α berhubungan dengan tumorigenesis kanker payudara, peningkatan pertumbuhan tumor, angiogenesis serta kegagalan pengobatan dan prognosis yang buruk. Hipoksia intratumoral adalah temuan umum pada kanker payudara, dan hipoksia berat [pO₂<10 mm Hg (~1,5% O₂)] dikaitkan dengan peningkatan risiko metastasis dan kematian pasien secara signifikan (Bos et al., 2005; Harrison et al., 2018; Moon et al., 2021; Pezzuto & Carico, 2018).

2.4. JENIS-JENIS HIPOKSIA DAN HUBUNGANNYA DENGAN HIF-1

Hipoksia adalah suatu keadaan di mana oksigen tidak tersedia dalam jumlah yang cukup di tingkat jaringan untuk mempertahankan homeostasis yang memadai (Bhutta et al., 2022).

Ada empat jenis hipoksia yang dibedakan, yaitu (Britannica, 2023):

- Hipoksia hipoksemik: Jenis hipoksia ini terjadi ketika tekanan oksigen dalam darah yang mengalir ke jaringan terlalu rendah untuk memenuhi hemoglobin. Hal ini dapat disebabkan oleh penurunan jumlah oksigen yang dapat dihirup karena berkurangnya tekanan barometrik, yang sering dijumpai pada pilot, pendaki gunung, dan orang yang tinggal di dataran tinggi. Hal ini juga dapat disebabkan oleh kegagalan kardiopulmoner di mana paru-paru tidak dapat secara efisien mentransfer oksigen dari alveoli ke darah. Dalam kondisi ini, HIF-1 diaktifkan untuk mengatur ekspresi gen yang meningkatkan produksi eritropoietin (EPO), hormon yang merangsang pembentukan sel darah merah di sumsum tulang
- Hipoksia anemia: Jenis hipoksia ini terjadi ketika jumlah hemoglobin fungsional terlalu kecil, sehingga kapasitas darah untuk membawa

oksigen terlalu rendah. Hal ini dapat disebabkan oleh penurunan jumlah sel darah merah, penurunan jumlah hemoglobin, atau kelainan pada molekul hemoglobin. HIF-1 juga diaktifkan dalam kondisi ini untuk mengatur gen yang terlibat dalam meningkatkan kapasitas aerobik sel dan proses adaptasi mitokondria akibat transportasi oksigen dari darah ke sel terganggu karena terjadi masalah di tingkat mitokondria atau permasalahan dalam proses aerobik.

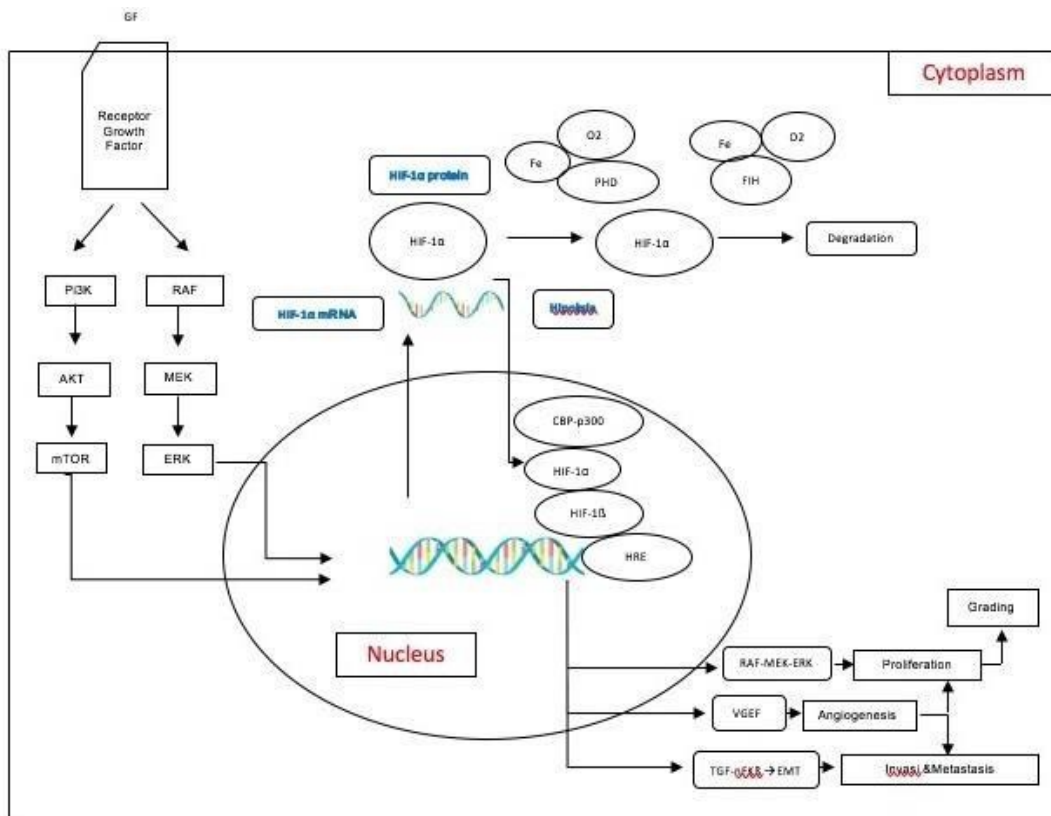
- Hipoksia stagnan: Jenis hipoksia ini terjadi ketika aliran darah ke jaringan berkurang atau tidak merata. Hal ini dapat disebabkan oleh gagal jantung, syok, atau kondisi lain yang mengganggu sirkulasi darah.
- Hipoksia histotoksik: Jenis hipoksia ini terjadi ketika jaringan tidak dapat menggunakan oksigen yang dikirimkan kepadanya. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya racun yang mengganggu proses respirasi sel. HIF-1 dapat terlibat dalam respons terhadap kondisi ini melalui regulasi gen yang terlibat dalam pemeliharaan integritas mitokondria.

Sel merespons dan beradaptasi terhadap hipoksia dengan meningkatkan kadar molekul yang dikenal sebagai faktor yang dapat diinduksi oleh hipoksia (HIF) (Britannica, 2023). HIF-1 adalah kompleks protein dimerik yang memainkan peran integral dalam respons tubuh terhadap konsentrasi oksigen yang rendah, atau hipoksia. HIF-1 adalah salah satu gen utama yang terlibat dalam proses homeostatis, yang dapat meningkatkan vaskularisasi di daerah hipoksia seperti iskemia lokal dan tumor. HIF-1 adalah faktor transkripsi untuk puluhan gen target. Dalam kondisi oksigen normal, HIF-1 terdegradasi dengan cepat oleh proses yang melibatkan hidroksilase, protein VHL, dan FIH. Namun, dalam kondisi hipoksia, protein HIF-1 stabil dan aktif karena hidroksilase, protein VHL, dan FIH semuanya dihambat oleh kekurangan oksigen. Setelah stabil, protein HIF-1 dapat berikatan dengan daerah pengatur gen targetnya, menginduksi ekspresinya (Ziello et al., 2007).

Berbagai jenis hipoksia dapat mempengaruhi HIF-1 dengan cara yang berbeda. Sebagai contoh, hipoksia hipoksemik dapat

menyebabkan peningkatan ekspresi HIF-1, sedangkan hipoksia anemik dapat menyebabkan penurunan ekspresi HIF-1 (*Hypoxia-Inducible Factors - An Overview*, 2019). Selain itu, respons berbagai jenis sel terhadap hipoksia dapat bervariasi tergantung pada tingkat ekspresi dan aktivitas HIF-1 (Xia & Kung, 2009). Sebagai contoh, ketika sel secara akut mengalami hipoksia, HIF-1 secara istimewa berikatan dengan lokus yang sudah aktif secara transkripsi dalam kondisi normoksia, yang menentukan respons spesifik tipe sel terhadap hipoksia (Xia & Kung, 2009).

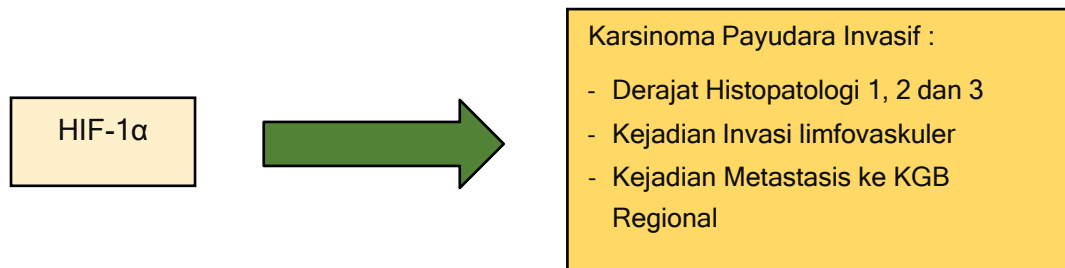
2.5 KERANGKA TEORI



BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1 KERANGKA KONSEP



Keterangan :



Variabel bebas



Variabel tergantung