

**HUBUNGAN EKSPRESI SNAIL SEBAGAI FAKTOR  
EPITHELIAL MESENCHYMAL TRANSITION (EMT) DENGAN  
TUMOR BUDDING, INVASI LIMFOVASKULAR DAN  
METASTASIS KE KELENJAR GETAH BENING  
PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

*The Relationship Between Snail Expression as an Epithelial  
Mesenchymal Transition (EMT) Factor with Tumor Budding,  
Lymphovascular Invasion and Lymph Node Metastasis  
In Colorectal Adenocarcinoma*



**GINA ANDYKA HUTASOIT**

**C075202001**

Pembimbing I : Prof. dr. Upik Anderiani Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)

Pembimbing II : dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA

Pembimbing Statistik : Dr. dr. Suryani Tawali, M.P.H

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
ILMU PATOLOGI ANATOMIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**KARYA AKHIR**

**HUBUNGAN EKSPRESI SNAIL SEBAGAI FAKTOR  
EPITHELIAL MESENCHYMAL TRANSITION (EMT) DENGAN  
TUMOR BUDDING, INVASI LIMFOVASKULAR DAN  
METASTASIS KE KELENJAR GETAH BENING  
PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

*The Relationship Between Snail Expression as an Epithelial  
Mesenchymal Transition (EMT) Factor with Tumor Budding,  
Lymphovascular Invasion and Lymph Node Metastasis  
In Colorectal Adenocarcinoma*

**GINA ANDYKA HUTASOIT**

**C075202001**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
ILMU PATOLOGI ANATOMIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**

**HUBUNGAN EKSPRESI SNAIL SEBAGAI FAKTOR *EPITHELIAL  
MESENCHYMAL TRANSITION* (EMT) DENGAN *TUMOR BUDDING*,  
INVASI LIMFOVASKULAR DAN METASTASIS KE KELENJAR GETAH  
BENING PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis  
Patologi Anatomi

Disusun dan diajukan oleh:

**Gina Andyka Hutasoit**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**

**KARYA AKHIR**

**HUBUNGAN EKSPRESI SNAIL SEBAGAI FAKTOR *EPITHELIAL MESENCHYMAL TRANSITION (EMT)* DENGAN *TUMOR BUDDING*, *INVASI LIMFOVASKULAR* DAN *METASTASIS KE KELENJAR GETAH BENING* PADA ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL**

Disusun dan diajukan oleh:

**GINA ANDYKA HUTASOIT**

**C075202001**

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 22 April 2024  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui**

**Pembimbing Utama**



**Prof.dr.Upik A.Miskad, Ph.D., Sp.PA(K)**  
NIP. 19740330 200501 2 001

**Pembimbing Pendamping**



**dr.Muh.Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA**  
NIP. 19770409 200212 1 002

**Ketua Program Studi  
Ilmu Patologi Anatomi**



**Prof.dr.Upik A.Miskad, Ph.D., Sp.PA(K)**

**Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin**



**Prof.Dr.dr.Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.PD., K-GH, FINASIM, Sp.GK**

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gina Andyka Hutasoit  
NIM : C075202001  
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Patologi Anatomi  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

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

Makassar, 24 Juni 2024



Gina Andyka Hutasoit

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat 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 terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. dr. Upik Anderiani Miskad, Ph.D, 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, M.PH yang banyak membimbing dan memberikan masukan kepada penulis dalam hal metodologi penelitian dan analisis statistik tesis ini.
4. Seluruh Guru kami di bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali (Prof. dr. Syarifuddin Wahid, SpF, Ph.D, SpPA(K) DFM, dr. Gunawan Arsyadi, SpPA(K), SpF, dr. Djumadi Achmad, SpPA(K), SpF, dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D, SpPA(K), dr. Cahyono Kaelan, Ph.D., SpPA(K), SpS, dr. Tarsisia Truly Djimahit, DFM, SpPA(K), Dr. dr. Gatot Susilo Lawrence, MSc, SpPA(K), FESC, dr. Anna Maria Tjoanto, SpPA(K)., dr. Ni Ketut Sungowati, SpPA(K)., Dr. dr. Rina Masadah, M.Phil., SpPA(K)DFM, Dr. dr. Berti Julian Nelwan, SpF, M.Kes, SpPA(K) DFM, dr. Juanita, M.Kes, SpPA, dr. Imeldy Prihatni Purnama, M.Kes., SpPA, dr. Amalia, M.Kes, SpPA dan dr. Haslindah Dahlan, Sp. PA) atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan maupun dalam penyusunan tesis ini.
5. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi Universitas Hasanuddin Makassar.

6. Kepala Pusat Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
7. Teman PPDS terbaik, Yaya, kak Dina 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 Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr.Wahidin Sudirohusodo, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
9. Suami dan anak terkasih, Hario Abi Kusumo dan Juan Damar Pringgo Kusumo serta seluruh keluarga dan sahabat yang senantiasa mendukung, mendoakan dan menjadi sumber inspirasi serta semangat utama bagi penulis.
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, 30 April 2024

Yang menyatakan

Gina Andyka Hutasoit

## DAFTAR ISI

Halaman Sampul .....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Abstrak .....	iii
Abstract .....	iv
Daftar Isi .....	v
Daftar Singkatan .....	vii
Daftar Gambar .....	iv
Daftar Tabel .....	x
Bab I Pendahuluan .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1. Tujuan Umum .....	5
1.3.2. Tujuan Khusus .....	5
1.4. Hipotesis Penelitian .....	6
1.5. Manfaat Penelitian .....	6
1.5.1. Bidang Akademik .....	6
1.5.2. Bidang Pengembangan Ilmu .....	6
1.5.3. Bidang Pelayanan (Aplikasi Klinik) .....	6
Bab II Tinjauan Pustaka .....	7
2.1. Anatomi dan Histologi Kolorektal .....	7
2.2. Adenokarsinoma Kolon .....	10
2.2.1. Faktor Risiko .....	10
2.2.2. Patogenesis .....	11
2.2.3. Gambaran Klinik .....	16
2.2.4. Gambaran Makroskopik .....	17
2.2.5. Gambaran Mikroskopik (Histopatologi) .....	18
2.3. Ekspresi Snail sebagai Faktor <i>Epithelial to Mesenchymal Transition</i> .....	25
Bab III Kerangka Teori dan Konsep .....	32
3.1. Kerangka Teori .....	32
3.2. Kerangka Konsep .....	33
Bab IV Metode Penelitian .....	34
4.1. Desain Penelitian .....	34
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian .....	34
4.3. Populasi Penelitian .....	34
4.4. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel .....	34
4.5. Perkiraan Besar Sampel .....	34
4.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	35
4.6.1. Kriteria Inklusi .....	35
4.6.2. Kriteria Eksklusi .....	35
4.7. Cara Kerja .....	36
4.7.1. Alokasi Subjek .....	36
4.7.2. Prosedur Pewarnaan Hematoxylin-Eosin .....	36
4.7.3. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia .....	37



4.7.4. Interpretasi Hasil Pewarnaan Imunohistokimia Snail .....	37
4.8. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif Variabel.....	38
4.9. Pengolahan dan Analisa Data .....	41
4.10. Alur Penelitian .....	42
Bab V Hasil dan Pembahasan .....	43
5.1. Karakteristik Umum Sampel .....	46
5.2. Analisis Perbedaan Skor Ekspresi (Skor Immunostaining Total) Snail berdasarkan <i>Tumor Budding</i> , Invasi Limfovaskular dan Metastasis ke Kelenjar Getah Bening....	47
5.3. Analisis Hubungan Ekspresi Snail dengan <i>Tumor Budding</i> , Invasi Limfovaskular dan Metastasis ke Kelenjar Getah Bening pada Adenokarsinoma Kolorektal .....	49
5.4. Pembahasan .....	53
Bab VI Kesimpulan dan Saran .....	61
6.1. Kesimpulan .....	61
6.2. Saran .....	62
Daftar Pustaka .....	64

## DAFTAR SINGKATAN

APC	: Adenomatous polyposis coli
BMP	: Bone Morphogenetic Proteins
BRAF	: V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1
CD3	: Cluster Diferensiasi 3
CD8	: Cluster Diferensiasi 8
CIMP	: CpG Island Methylator Phenotype
CIN	: Chromosomal Instability
COX-2	: Cyclooxygenase-2
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
ECM	: Extracellular Matriks
EGF	: Epidermal Growth Factor
EMT	: Epithelial Mesenchymal Transition
FAP	: Poliposis Adenomatosa Familial
FGF	: Fibroblast Growth Factors
GSK3 $\beta$	: Glikogen Sintase Kinase-3 $\beta$
GTP	: Nucleotide Guanosine Triphosphate
HE	: Hematoksilin-eosin
HGF	: Hepatocyte growth factor
HIF-1A	: Hypoxia Inducible Factor 1-alpha
HNPCC	: Herediter Non-Poliposis Coli
IHK	: Imunohistokimia
ITBCC	: Tumor Budding Consensus Conference
KRAS	: Kirsten Rat Sarcoma Virus
LOX	: Lipoxygenases
LVSI	: Lympho-Vascular Space Invasion
MALT	: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MLH1	: MutL Protein Homolog 1

MMR	: DNA mismatch repair
MSI	: Microsatellite Instability
NOS	: No Special Type
NSAID	: Non Steroid Anti Inflammation Drug
PIK3CA	: Activating mutations of the p110 $\alpha$ subunit of PI3K
PI3K	: Phosphatidylinositol 3-Kinases
PTEN	: Phosphatase and tensin homolog
RTK	: Reseptor Tيروسin Kinase
SCNAs	: Somatic Copynumber Alterations
SMAD2	: Mothers against decapentaplegic homolog 2
SMAD4	: Mothers against decapentaplegic homolog 4
TGF-B	: Tumor Growth Factor-Beta
TNF-A	: Tumor Necrosis Factor – Alpha
TNM	: Tumor Nodus dan Metastasis
TP53	: Tumor Suppressor Gene At 17p13, 53 Kda
Wnt	: Wingless dan Int-1

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Anatomi normal kolorektal	8
Gambar 2.	Histologi normal kolorektal	9
Gambar 3.	Contoh pertumbuhan tumor	21
Gambar 4.	Contoh tingkat pertumbuhan tumor yang berbeda	22
Gambar 5.	Prosedur yang diusulkan oleh ITBCC 2016	23
Gambar 6.	<i>High grade tumor budding</i>	24
Gambar 7.	<i>Low grade tumor budding</i>	25
Gambar 8.	Karakteristik EMT	27
Gambar 9.	Regulasi dan target utama faktor transkripsi Snail	28
Gambar 10.	Diagram skematik jalur pensinyalan yang terkait dengan EMT yang diinduksi Snail	29
Gambar 11.	<i>Tumor budding pada solid cancer</i>	31
Gambar 12a.	Gambaran histopatologi adenokarsinoma kolorektal dengan tumor budding low-grade	43
Gambar 12b.	Gambaran histopatologi adenokarsinoma kolorektal dengan tumor budding intermediate-grade	44
Gambar 12c.	Gambaran histopatologi adenokarsinoma kolorektal dengan tumor budding high-grade	44
Gambar 13a.	Skor intensitas ekspresi Snail tidak terwarnai	45
Gambar 13b.	Low grade tumor budding dan Skor intensitas ekspresi Snail terwarnai lemah	45
Gambar 13c.	Intermediate grade tumor budding dan Skor intensitas ekspresi Snail terwarnai sedang	46
Gambar 13d.	High grade tumor budding dan Skor intensitas ekspresi Snail terwarnai kuat	46

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Karakteristik Sampel	47
Tabel 2.	Perbedaan skor ekspresi Snail berdasarkan <i>tumor budding</i> , invasi limfovaskular dan metastasis KGB	48
Tabel 3.	Hubungan Ekspresi Snail dengan <i>Low Grade</i> , <i>Intermediate Grade</i> dan <i>High Grade Tumor Budding</i> .	49
Tabel 4.	Hubungan Ekspresi Snail dengan Invasi Limfovaskular	50
Tabel 5.	Hubungan Ekspresi Snail dengan Metastasis ke Kelenjar Getah Bening	51
Tabel 6.	Hubungan Ekspresi Snail dengan Klinikopatologi pada Adenokarsinoma Kolorektal	52

## ABSTRAK

**GINA ANDYKA HUTASOIT. Hubungan Ekspresi Snail sebagai Faktor *Epithelial mesenchymal transition* (EMT) terhadap *Tumor Budding*, Invasi Limfovaskular dan Metastasis ke Kelenjar Getah Bening pada Adenokarsinoma Kolorektal (Dibimbing oleh Upik Anderiani Miskad, Muhammad Husni Cangara, Suryani Tawali)**

**Latar belakang:** Karsinoma kolorektal merupakan salah satu penyebab kematian terbanyak di seluruh dunia. Klasifikasi stadium Tumor Nodus dan Metastasis masih merupakan gold standard untuk menentukan prognosis karsinoma kolorektal. Saat ini tumor budding merupakan gambaran morfologi spesifik untuk prognosis tambahan yang dikaitkan dengan Epithelial mesenchymal transition. Snail merupakan faktor transkripsi represor E-cadherin yang berperan pada Epithelial mesenchymal transition yang dapat menyebabkan terjadinya invasi dan metastasis tumor.

**Tujuan:** Mengetahui hubungan ekspresi Snail sebagai faktor Epithelial mesenchymal transition dengan tumor budding, invasi limfovaskular dan metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan desain cross-sectional. Tujuh puluh empat sampel blok paraffin Adenokarsinoma kolorektal disertai kelenjar getah bening (KGB) diperiksa menggunakan antibodi poliklonal Snail dan ekspresinya dinilai menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-43. Kemudian dianalisis secara statistik dengan uji Chi-Square dan Mann Whitney, kemudian disajikan dalam tabel menggunakan SPSS 27.

**Hasil:** Dari 74 sampel, ekspresi Snail kuat ditemukan pada sampel dengan low grade tumor budding sebanyak 2 (5,7%) sampel, intermediate grade tumor budding 11 (31,4%) sampel dan high grade tumor budding sebanyak 22 (62,9%) sampel. Ekspresi snail kuat ditemukan pada sampel dengan invasi limfovaskular sebanyak 10 (28,6%) sampel dan ekspresi snail lemah ditemukan pada sampel dengan invasi limfovaskular sebanyak 4 (10,3%) sampel. Ekspresi snail kuat ditemukan pada sampel dengan metastasis ke KGB sebanyak 16 (45,7%) sampel dan ekspresi snail lemah ditemukan pada sampel dengan metastasis ke KGB sebanyak 7 (17,9%) sampel. Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi Snail dengan tumor budding ( $p=0,020$ ), invasi limfovaskular ( $p<0,001$ ) dan metastasis ke KGB ( $p=0,020$ ) pada adenokarsinoma kolorektal.

**Kesimpulan:** Ekspresi Snail lebih kuat pada sampel dengan high grade tumor budding, invasi limfovaskular positif dan metastasis ke KGB positif. Snail dapat dipertimbangkan sebagai faktor prediktif dan prognosis pada adenokarsinoma kolorektal.

**Kata kunci:** Adenokarsinoma kolorektal, Epithelial mesenchymal transition, Snail, tumor budding, invasi limfovaskular, metastasis KGB.

## ABSTRACT

### **The Relationship Between Snail Expression as an Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) Factor with Tumor Budding, Lymphovascular Invasion and Lymph Node Metastasis in Colorectal Adenocarcinoma.**

**Background:** Colorectal carcinoma is one of the most common causes of death worldwide. Tumor Node and Metastasis staging classification is still the gold standard for determining the prognosis of colorectal carcinoma. Currently, tumor budding is a specific morphological feature for additional prognosis associated with epithelial mesenchymal transition. Snail is an E-cadherin repressor transcription factor that plays a role in epithelial mesenchymal transition which can cause tumor invasion and metastasis.

**Aim:** To determine the relationship between Snail expression as an epithelial mesenchymal transition factor with tumor budding, lymphovascular invasion and lymph node metastasis in colorectal adenocarcinoma.

**Methods:** This study used a cross-sectional design. Seventy-four paraffin block samples of colorectal adenocarcinoma with lymph nodes were examined using Snail polyclonal antibodies and their expression was assessed using an Olympus CX-43 light microscope. Then it was analyzed statistically using the Chi-Square and Mann Whitney tests, then presented in a table using SPSS 27.

**Results:** From the 74 samples, strong Snail expression was found in samples with low grade tumor budding in 2 (5.7%) samples, intermediate grade tumor budding in 11 (31.4%) samples and high grade tumor budding in 22 (62.9%) samples. Strong Snail expression was found in samples with lymphovascular invasion in 10 (28.6%) samples and weak Snail expression was found in samples with lymphovascular invasion in 4 (10.3%) samples. Strong Snail expression was found in 16 (45.7%) samples with lymph node metastasis and weak Snail expression was found in 7 (17.9%) samples with lymph node metastasis. There was a significant relationship between Snail expression with tumor budding ( $p=0.020$ ), lymphovascular invasion ( $p<0.001$ ) and lymph node metastasis ( $p=0.020$ ) in colorectal adenocarcinoma.

**Conclusion:** Snail expression was stronger in samples with high grade tumor budding, positive lymphovascular invasion and positive lymph node metastasis. Snail can be considered as a predictive and prognostic factor in colorectal adenocarcinoma.

**Keywords:** Colorectal adenocarcinoma, Epithelial mesenchymal transition, Snail, tumor budding, lymphovascular invasion, lymph node metastasis.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Karsinoma kolorektal adalah tumor ganas epitelial yang ditemukan pada kolon dan / atau rektum. Adenokarsinoma merupakan jenis terbanyak yaitu lebih dari 90% dari seluruh kasus karsinoma kolorektal. (Fleming et al., 2012) Karsinoma kolorektal dapat menyerang pria dan wanita, serta merupakan salah satu kanker yang paling banyak ditemukan di negara maju maupun di negara berkembang. Karsinoma kolorektal juga merupakan salah satu penyebab kematian terbanyak karena kanker di seluruh dunia. (Effendi-YS & Rey, 2018; Liao et al., 2015)

Menurut data GLOBOCAN tahun 2020, kanker kolorektal menempati urutan kedua paling mematikan dan urutan ketiga diagnosis kanker yang paling sering di dunia. Hampir 2 juta kasus baru dan sekitar 1 juta kematian diperkirakan terjadi pada tahun 2020. Di Amerika Serikat dan sebagian besar Asia, insiden karsinoma kolorektal ditemukan sebanyak 59 ribu kasus baru pada pria dan 58 ribu kasus baru pada wanita, dengan angka kematian tertinggi pada pria. Sedangkan di Eropa, insiden kasus baru dan angka kematian tertinggi akibat karsinoma kolorektal terbanyak ditemukan pada wanita dibandingkan pada pria. (World Health Organization, 2020) Obesitas, gaya hidup yang tidak sehat, konsumsi daging merah, konsumsi alkohol dan tembakau dianggap sebagai faktor predisposisi pertumbuhan kanker kolorektal. (Rawla et al., 2019)

Insiden karsinoma kolorektal di Indonesia juga mendapatkan perhatian khusus karena kasus baru dan angka kematian yang terus meningkat tiap tahunnya. Menurut data GLOBOCAN tahun 2020, insiden kanker kolorektal baru di Indonesia sebanyak 33.427 kasus atau sekitar 8,4% dari total 396.914 kasus kanker. (World Health Organization, 2020) Secara keseluruhan risiko untuk mendapatkan kanker kolorektal adalah 1 dari 20 orang (5%). Di Indonesia, kanker ini menempati urutan ketiga, di akibatkan oleh perubahan pada diet orang Indonesia, baik sebagai



konsekuensi peningkatan kemakmuran serta pergeseran ke arah cara makan orang barat (westernisasi) yang mengandung tinggi lemak tetapi rendah serat. (MENKES, 2018)

Saat ini deteksi dini dan metode terapi telah berkembang dengan baik, namun sebagian kasus masih datang pada stadium lanjut dan karsinoma kolorektal tetap menjadi penyebab kematian utama karena kanker. Meski kebanyakan pasien karsinoma kolorektal telah dilakukan operasi pengangkatan tumor serta menjalani pengobatan tambahan seperti radiasi dan kemoterapi, namun beberapa pasien dapat mengalami kekambuhan dan sering kali sel tumor resisten terhadap pengobatan. (Li et al., 2014)

Berbagai faktor prognostik telah diteliti dalam memprediksi luaran pasien karsinoma kolorektal, termasuk peranan berbagai faktor klinikopatologi. Parameter histopatologi yang rutin dinilai pada evaluasi sediaan histopatologi pada kanker kolorektal adalah tipe histopatologi tumor, grade histopatologi tumor, status invasi limfo-vaskuler (LVSI), derajat inflamasi, status margin, status nodal, serta stadium Tumor Nodus dan Metastasis (TNM) tumor. (Langrand et al., 2018) Klasifikasi TNM masih merupakan *gold standard* untuk menentukan prognosis pasien karsinoma kolorektal, namun terdapatnya heterogenitas survival pada tumor dengan stadium yang sama menunjukkan bahwa diperlukan biomarker prognostik tambahan untuk menentukan prognosis pasien. Saat ini mulai diteliti tentang gambaran morfologi spesifik yaitu adanya *tumor budding* yang dikaitkan dengan agresivitas tumor. (Lugli et al., 2016)

*Tumor budding* didefinisikan sebagai adanya sel tumor tunggal atau kelompok kecil hingga empat sel dalam stroma tumor, yang pertumbuhan tumornya telah dihubungkan dengan *Epithelial Mesenchymal Transition* (EMT). *Tumor budding* sebagai biomarker morfologis yang ditemukan tidak hanya di karsinoma kolorektal, tetapi juga pada kanker gastrointestinal lainnya, seperti esofagus, lambung dan cholangiocarcinomas. Pada buku WHO tumor sistem digestif edisi kelima tahun 2020, telah menetapkan status tumor budding sebagai salah satu parameter histopatologi yang

harus dilaporkan pada evaluasi sediaan histopatologi pasien karsinoma kolorektal. *Tumor budding* dilihat pada margin invasif menggunakan sistem penilaian tiga tingkat menurut internasional consensus. (Hacking et al., 2019) Kehadiran *tumor budding* dikaitkan dengan adenokarsinoma kolorektal yang berdiferensiasi buruk karena dianggap sebagai manifestasi morfologi dari EMT. *Tumor budding* merupakan faktor prognostik tambahan yang penting untuk pasien dengan karsinoma kolorektal. (Viktor et al., 2016) Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa keberadaan entitas *tumor budding* ini terkait dengan invasi limfovaskular, metastasis pada nodus kelenjar getah bening, kambuhan lokal dan penyakit dengan metastasis jauh. (Inti et al., 2020)

Penyebaran adenokarsinoma kolorektal dapat terjadi intramural atau intraluminal, yaitu melalui invasi perineural, limfatik dan atau vena; melalui penyebaran langsung ke struktur di dekatnya; melalui kavum peritoneal dan membran serosa; atau pun melalui implantasi pada luka operasi dan tempat anastomosis. (Noffsinger, 2017) Invasi limfatik, yaitu adanya sel tunggal atau kelompok sel tumor di saluran limfatik yang merupakan faktor risiko morfologis untuk adanya metastasis kelenjar getah bening. (Nagtegaal et al., 2019) Penyebaran melalui pembuluh limfatik adalah jalur paling umum untuk penyebaran awal karsinoma. (Kumar, Vinay., Abbas, Abul K., Aster, 2021) Invasi vaskular dapat disubklasifikasikan menurut lokalisasi yaitu di dalam dinding usus (invasi vaskular intramural) dan di luar dinding usus atau ekstramural. (Nagtegaal et al., 2019)

Pasien dengan karsinoma kolorektal sering mengalami metastasis jauh. Tempat paling umum dari metastasis karsinoma kolorektal adalah kelenjar getah bening regional dan hati. Hati adalah tempat utama dari metastasis hematogen, diikuti oleh paru. Metastasis hati ditemukan pada saat diagnosis pada 15% sampai 25% pasien dan akan berkembang pada 60% pasien dengan penyakit progresif. Insiden metastasis bervariasi dengan ukuran dan lokasi tumor dan keterlibatan kelenjar getah bening regional. Secara keseluruhan, 75% hingga 77% dari metastasis jauh melibatkan hati, 5% hingga 50% melibatkan paru, dan 5% hingga 8%

melibatkan otak. Pasien dengan metastasis hati mungkin menunjukkan metastasis sekunder ke kelenjar getah bening yang mengalir ke hati. (Goldblum et al., 2018; Noffsinger, 2017)

*Epithelial Mesenchymal Transition* adalah proses biologis yang memungkinkan sel terpolarisasi, biasanya berinteraksi dengan membran dasar, untuk mengasumsikan fenotip mesenkimal yang ditandai dengan peningkatan kapasitas migrasi, invasif, peningkatan resistensi terhadap apoptosis dan peningkatan produksi komponen matriks ekstraseluler (ECM). (Y. Zhou et al., 2018) Penemuan EMT ditandai dengan degradasi membran basal dan pembentukan sel mesenkimal. Sangat relevan untuk embriogenesis dan penyembuhan luka, EMT juga telah diusulkan sebagai mekanisme penting untuk akuisisi fenotip ganas oleh sel epitel. (Ganesan et al., 2016) Sel-sel tumor yang berasal dari EMT yang terjadi di bagian depan tumor invasif dianggap sebagai sel-sel yang memasuki langkah invasi dan metastasis selanjutnya. Selain itu, sel-sel ini telah terbukti membentuk koloni sekunder di lokasi yang jauh yang secara histopatologi menyerupai asal tumor primer melalui proses EMT ini. (Ganesan et al., 2016)

E-cadherin berfungsi sebagai molekul adhesi sel dan memegang peranan penting dalam pembentukan dan penjagaan integritas jaringan kompleks (Tian et al., 2011). Penurunan ekspresi E-cadherin disertai oleh hilangnya karakteristik epitel dan perolehan sifat mesenkimal merupakan penanda terjadinya EMT. Selama EMT, karsinoma sel menjadi lebih motil dan invasif dengan memperoleh karakteristik yang mirip dengan sel mesenkimal embrionik, sehingga memungkinkan penetrasi stroma yang mengelilingi fokus neoplastik awal. (Jang, 2009) Adapun faktor transkripsi yang merupakan represor E-cadherin adalah Snail. (Tian et al., 2011)

Protein Snail dan familinya adalah faktor represor transkripsional. Snail sebagai faktor transkripsi repressor untuk protein E-Cadherin yang merupakan faktor dari pembentukan EMT. Peran utama dalam pengaturan proses EMT ini dimainkan oleh protein keluarga Snail, yang merupakan faktor transkripsi untuk mengontrol ekspresi gen yang produknya

menentukan fenotip EMT dan pada akhirnya perkembangan suatu neoplasma. Protein Snail dapat ditemukan dalam karsinogenesis, invasi, dan metastasis. Ekspresi Snail pada sel tumor dapat mencirikan tingkat keganasan dan berfungsi sebagai penanda prognostik penyakit. Protein Snail juga dapat ditemukan pada kondisi hipoksia, sehingga memperumit pengobatan antikanker. Mengingat peran penting protein Snail dalam biologi kanker dan potensinya dalam penghambatan terapi farmakologis, maka saat ini protein keluarga Snail dapat dianggap menjanjikan sebagai suatu target terapi. (Yastrebova et al., 2021)

Berdasarkan pada pemaparan di atas, penelitian ini ingin mengetahui hubungan ekspresi Snail sebagai faktor *Epithelial mesenchymal transition* (EMT) terhadap *tumor budding*, invasi limfovaskular dan metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat hubungan ekspresi Snail sebagai faktor *Epithelial mesenchymal transition* (EMT) terhadap *tumor budding*, invasi limfovaskular dan metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui hubungan ekspresi Snail sebagai faktor *Epithelial mesenchymal transition* (EMT) terhadap *tumor budding*, invasi limfovaskular dan metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Menentukan *grading* (*low grade*, *intermediate grade* dan *high grade*) *tumor budding* pada adenokarsinoma kolorektal.
2. Menentukan ada atau tidak ada invasi limfovaskular pada adenokarsinoma kolorektal.

3. Menentukan ada atau tidak ada metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal.
4. Menentukan skor dan ekspresi Snail (ekspresi lemah dan ekspresi kuat) pada sediaan adenokarsinoma kolorektal dengan *tumor budding*, tanpa/dengan invasi limfovaskular dan tanpa/dengan metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal.
5. Menentukan hubungan ekspresi Snail dengan *tumor budding*, tanpa/dengan invasi limfovaskular dan tanpa/dengan metastasis ke kelenjar getah bening pada adenokarsinoma kolorektal.

#### **1.4. Hipotesis Penelitian**

Terdapat hubungan ekspresi Snail pada adenokarsinoma kolorektal dengan *grading tumor budding*, ada tidaknya invasi limfovaskular dan metastasis, dimana:

1. Ekspresi Snail lebih kuat pada adenokarsinoma kolorektal dengan *high grade tumor budding* dibandingkan ekspresi pada adenokarsinoma kolorektal dengan *intermediate* dan *low grade tumor budding*.
2. Ekspresi Snail lebih kuat pada adenokarsinoma kolorektal dengan invasi limfovaskular dibandingkan ekspresi pada adenokarsinoma kolorektal tanpa invasi limfovaskular.
3. Ekspresi Snail lebih kuat pada adenokarsinoma kolorektal yang bermetastasis ke KGB dibandingkan ekspresi pada adenokarsinoma kolorektal yang tidak bermetastasis ke KGB.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

##### **1.5.1. Bidang Akademik**

1. Memberikan informasi ilmiah tentang hubungan ekspresi antibodi Snail dengan *tumor budding*, invasi limfovaskular dan metastasis pada adenokarsinoma kolorektal.

2. Meningkatkan pemahaman tentang ekspresi Snail dalam pathogenesis *tumor budding*, invasi, metastasis serta prognosis adenokarsinoma kolorektal.

#### **1.5.2. Bidang Pengembangan Ilmu**

Sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam aspek penentuan terapi dan prognostik untuk adenokarsinoma kolorektal.

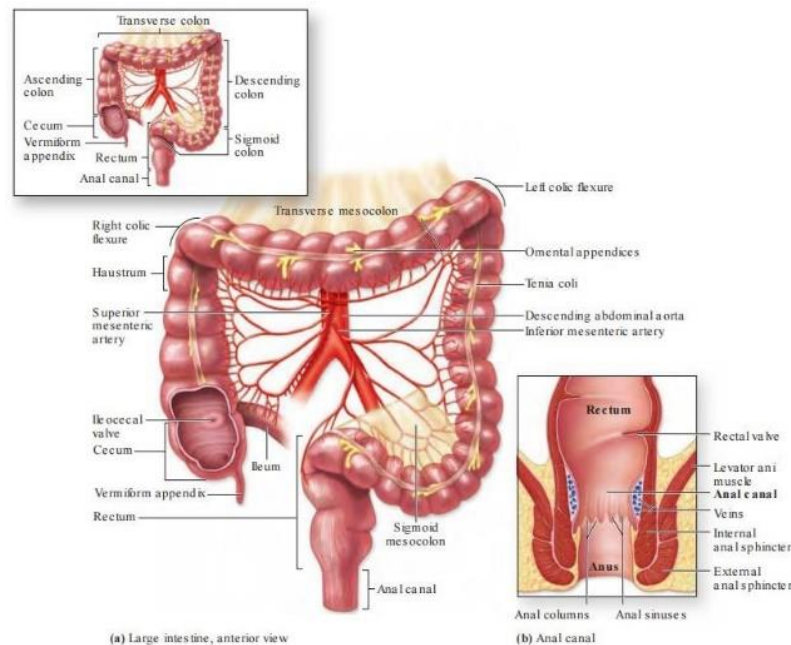
#### **1.5.3. Bidang Pelayanan (Aplikasi Klinik)**

1. Sebagai faktor prediktif dan faktor prognostik tambahan untuk adenokarsinoma kolorektal.
2. Sebagai dasar dalam penentuan terapi untuk adenokarsinoma kolorektal.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Anatomi dan Histologi Kolorektal

Kolon dan rektum membentuk usus besar. Kolon membentuk sebagian besar usus besar dengan panjang sekitar 5 kaki atau 1,5 meter. Bagian dari usus besar diberi nama sesuai dengan arah perjalanan makanan. Bagian pertama kolon disebut kolon asenden yang dimulai dari sekum dan merupakan kantong berisi makanan yang tidak tercerna berasal dari usus kecil. Kemudian berlanjut ke atas di sisi kanan perut. Bagian kedua disebut kolon transversum yang melewati tubuh dari sisi kanan ke sisi kiri. Bagian ketiga disebut kolon desenden yang turun di sisi kiri. Selanjutnya, bagian keempat disebut kolon sigmoid karena bentuknya "S", yang kemudian bergabung dengan rectum dan berakhir di anus. Kolon asenden dan kolon transversum disebut kolon proksimal, sedangkan kolon desenden dan sigmoid disebut kolon distal. (American Cancer Society, 2020)

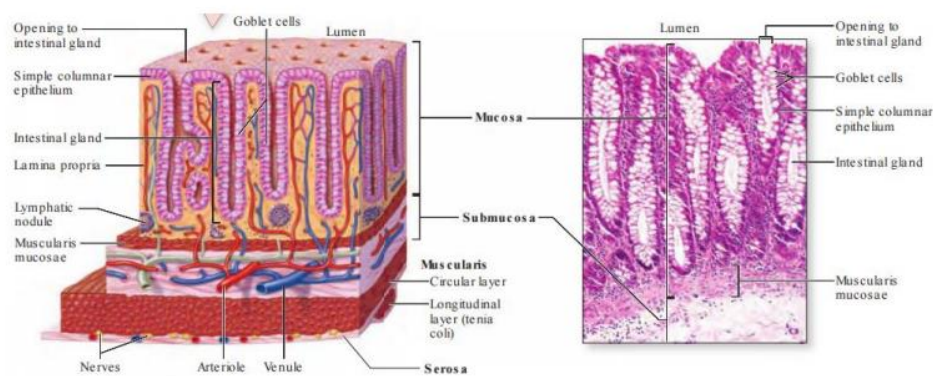


**Gambar 1. Anatomi normal kolorektal (Mescher, 2016)**

Kolon (usus besar) berfungsi menyerap air dan garam dari sisa bahan makanan setelah melewati usus halus (intestinal). Limbah yang

tersisa setelah melalui usus besar masuk ke rektum (6 inci atau 15 cm terakhir dari sistem pencernaan), disimpan dalam rektum sampai melewati anus. Otot berbentuk cincin (sfingter) di sekitar anus mencegah feces keluar dan akan mengalami relaksasi saat buang air besar. (American Cancer Society, 2020)

Secara histologi, kolon dibagi menjadi 4 lapisan yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna (muskularis propria) dan serosa (atau, dalam rektum, jaringan perimuskular). Mukosa terdiri dari selapis sel epitel kolumnar yang melapisi kriptus, di bawahnya terdapat lamina propria dan lapisan tipis otot polos yang disebut muskularis mukosa. Kriptus mukosa ini berorientasi sejajar satu sama lain dan tegak lurus dengan muskularis mukosa. (Arnold et al., 2015; Goldblum et al., 2018)



**Gambar 2. Histologi normal kolorektal (Mescher, 2016)**

Dinding kolon mengerut menjadi serangkaian kantong besar yang disebut haustra. Mukosa usus besar ditembus oleh kelenjar interstitial tubular. Kelenjar dan lumen usus dilapisi sel-sel absorptif dan sel-sel goblet. Sel-sel absorptif kolumnar atau kolonosit memiliki mikrovili tidak teratur dan celah interseluler lebar yang menandakan penyerapan cairan aktif. Sel goblet yang menghasilkan mukus pelumas menjadi semakin banyak sepanjang kolon dan rektum. Pada epitel kriptas bagian dalam juga mengandung sel-sel Paneth dan sel-sel endokrin. Sel-sel Paneth biasanya terbatas pada sekum dan kolon asendens. Keberadaan sel Paneth di distal kolon transversal menandakan metaplasia, biasanya karena cedera kronis. Sel punca epitel terletak di sepertiga bawah tiap kelenjar. (Arnold et al.,



2015; Mescher, 2016) Lamina propria kaya akan sel limfoid dan limfonodus yang sering meluas sampai ke dalam submukosa. Banyaknya *mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT) sehubungan dengan banyaknya populasi bakteri usus besar. Apendiks mempunyai sedikit atau tidak mempunyai fungsi absorptif, tetapi merupakan komponen penting MALT. Lamina propria juga mengandung sel plasma, histiosit dan sel mast yang tersebar dalam suatu jalinan dari serat kolagen, bundel otot polos, pembuluh darah dan saraf. Sel ganglion intramukosal juga dapat dilihat, baik sendiri-sendiri atau dalam kelompok tetapi tidak mempunyai efek patologis yang signifikan. Pembuluh darah di lamina propria terdiri dari kapiler (didistribusikan secara teratur) dan pembuluh limfe (terbatas pada daerah tepat di atas muskularis mukosa). (Goldblum et al., 2018; Mescher, 2016) Submukosa terdiri dari jaringan ikat yang longgar dengan konstituen sel mirip dengan lamina propria. Pada submukosa juga berisi pleksus saraf submukosa dari Meissner. (Goldblum et al., 2018) Muskularis kolon mempunyai lapisan sirkular dan longitudinal dengan pleksus saraf myenterika Auerbach terletak di antaranya. Tetapi berbeda dengan usus halus, dimana serat-serat lapisan luar dari kolon tergabung dalam tiga pita memanjang yang disebut taenia coli. Kolon bagian intraperitoneal ditutupi serosa, yang ditandai dengan tonjolan kecil menggantung jaringan lemak. Serosa terdiri dari satu lapis sel mesotelial gepeng sampai kuboid dan jaringan fibroelastik. (Goldblum et al., 2018; Mescher, 2016) Ujung distal dari saluran cerna adalah kanal anus, sepanjang 3-4 cm. Pada batas anorektal, pelapis mukosa rektum yang adalah epitel selapis silindris, digantikan oleh epitel berlapis gepeng. Mukosa dan submukosa kanal anus membentuk sejumlah lipatan memanjang, yaitu kolumna rektal. Dekat anus lapisan sirkular muskularis rektum membentuk sfingter ani interna. Defekasi melibatkan kerja volunter otot dari sfingter ani eksterna. (Mescher, 2016) Kolon disuplai oleh cabang arteri mesenterika superior (dari sekum ke fleksura splenikus) dan arteri mesenterika inferior (distal dari fleksura splenikus). Bagian bawah dari rektum diirigasi oleh arteri rektal media dan inferior, yang merupakan cabang dari arteri iliaka interna. Drainase limfatik

kolon terutama melalui mesenterium ke dalam kelompok kelenjar getah bening parakolik yang terletak di sepanjang arkade marginal vaskular. Stasiun berikutnya adalah kelompok nodal intermediate (lebih proksimal, pada tingkat cabang arteri utama), kelenjar getah bening sentral atau utama (berdekatan dengan arteri mesenterika superior dan inferior) dan seluruh rantai para-aorta. Drainase limfatik dari rektum adalah menuju nodus arteri mesenterika inferior, rantai hemoroidal superior, hipogastrik dan nodus iliaka utama. (Goldblum et al., 2018)

## **2.2. Adenokarsinoma Kolon**

Kanker kolorektal adalah kanker pada kolon atau rektum yang bisa disebut sebagai kanker kolorektal, tergantung lokasinya. (American Cancer Society, 2020) Kebanyakan kanker kolorektal adalah adenokarsinoma, yang merupakan tumor ganas epitelial pada usus besar yang menunjukkan diferensiasi kelenjar dan musinosa. (American Cancer Society, 2020; Nagtegaal et al., 2019)

Karsinoma kolorektal dibedakan menjadi tiga kelompok berdasarkan lokasinya, yaitu: sebelah kanan atau karsinoma kolon proksimal (termasuk sekum, kolon asenden, dan kolon transversum), karsinoma kolon sebelah kiri (lokasinya bisa dimana saja mulai dari fleksura splenik sampai di sigmoid) dan karsinoma rektal. Kebanyakan kanker kolorektal adalah sebelah kiri atau rektal. (Nagtegaal et al., 2019)

### **2.2.1. Faktor Risiko**

Faktor risiko adenokarsinoma kolorektal yang telah diketahui sampai saat ini antara lain konsumsi daging olahan dan daging merah, konsumsi alkohol serta kelebihan lemak tubuh. Hubungan merokok dengan adenokarsinoma kolorektal masih kontroversial, beberapa penelitian memasukkan merokok sebagai faktor risiko dan penelitian lainnya tidak. (WHO Classification of Tumours, 2020)

Predisposisi genetik merupakan faktor risiko penting dalam perkembangan karsinoma kolorektal, tergantung dari jenis mutasinya. (Nagtegaal et al., 2019) Sekitar 5% dari karsinoma kolorektal adalah

keturunan, kebanyakan adalah sindrom dominan autosomal. Sindrom yang paling terkenal diketahui adalah poliposis adenomatosa familial (FAP) dan herediter non-poliposis coli (HNPCC). (Molavi, 2018) Peradangan usus kronis merupakan faktor risiko yang juga penting untuk menetapkan suatu adenokarsinoma kolorektal. Penyakit radang usus seperti penyakit Crohn dan kolitis ulserativa berhubungan erat dengan displasia kolorektum. Faktor risiko lain yang jarang tetapi mapan adalah iradiasi panggul, fibrosis kistik, ureterosigmoidostomi dan akromegali. (Nagtegaal et al., 2019)

Konsumsi makanan yang tinggi serat, konsumsi susu dan peningkatan aktivitas fisik menurunkan risiko adenokarsinoma kolorektal. (WHO Classification of Tumours, 2020) Diet tinggi sayuran, buah-buahan dan biji-bijian telah dikaitkan dengan penurunan risiko kanker kolorektal. Ada bukti yang menyatakan tentang peran serat makanan dalam mengurangi risiko kanker kolorektal. Mekanisme perlindungan oleh serat meliputi pengurangan waktu transit feses melalui usus, pengenceran karsinogen feses, pengaturan mikrobiota usus, pengikatan asam empedu karsinogenik dan produksi asam lemak rantai pendek. Serat juga dapat menurunkan pH tinja, yang tampaknya bersifat melindungi. (Noffsinger, 2017)

Penggunaan NSAID dan terapi penggantian hormon dalam waktu lama pada wanita juga memberikan efek perlindungan dari adenokarsinoma kolorektal. Hal ini konsisten dengan penelitian yang menunjukkan bahwa beberapa NSAID menyebabkan regresi polip pada pasien dengan FAP dimana rektum dibiarkan di tempatnya setelah kolektomi. Diduga efek ini dimediasi oleh penghambatan enzim cyclooxygenase-2 (COX-2), yang banyak diekspresikan dalam 90% karsinoma kolorektal dan 40% hingga 90% adenoma, serta diketahui meningkatkan proliferasi epitel, terutama sebagai respons terhadap cedera. (Kumar et al., 2018)

### **2.2.2. Patogenesis**

Sebagian besar adenokarsinoma kolorektal berkembang melalui jalur konvensional melalui urutan patogenesis adenoma-karsinoma klasik

dan sisanya berkembang melalui jalur hipermutan atau jalur ultramutan. Kombinasi peristiwa molekuler yang mengarah ke adenokarsinoma kolorektal bersifat heterogen dan termasuk kelainan genetik dan epigenetik. Akumulasi perubahan genetik merupakan peristiwa penting dalam perkembangan dari adenoma menjadi karsinoma. Untuk mengakumulasi berbagai perubahan genetik yang khas pada kebanyakan karsinoma kolorektal, sel tumor harus mengalami mutasi dan perubahan epigenetik pada tingkat yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel epitel kriptal normal. Peningkatan akuisisi dan toleransi mutasi adalah ciri khas perkembangan karsinoma kolorektal disebut sebagai ketidakstabilan genom. (WHO Classification of Tumours, 2020)

Ada dua bentuk umum ketidakstabilan genom yang penting untuk perkembangan neoplasia kolorektal, yaitu ketidakstabilan kromosom (*Chromosomal Instability / CIN*) dan ketidakstabilan mikrosatelit (*Microsatellite Instability / MSI*). Jalur penggerak ketiga dalam perkembangan karsinoma kolorektal adalah akumulasi gen silencing epigenetik (*CpG Island Methylator Phenotype / CIMP*). (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

**1). Ketidakstabilan kromosom (*Chromosomal Instability / CIN*)** ditandai dengan peningkatan dan kehilangan kromosom yang terus menerus, yang menyebabkan perubahan jumlah DNA somatik yang tinggi (*somatic copynumber alterations / SCNAs*), dengan penguatan atau amplifikasi dan kehilangan atau delesi DNA yang menghasilkan kelompok gen yang lebih kecil. CIN terjadi pada 70% hingga 80% karsinoma kolorektal dan merupakan jalur utama yang mendasari perkembangan adenoma-karsinoma konvensional. Perubahan genetik yang paling sering dan khas pada jalur adenoma-karsinoma kolorektal konvensional termasuk alterasi menjadi APC, KRAS, TP53, SMAD4 atau PIK3CA terjadi pada 84% jalur ketidakstabilan kromosomal ini. (Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015) Kebanyakan alterasi APC adalah mutasi inaktif yang ditemukan pada 80% adenoma dan karsinoma, yang muncul sangat awal dalam urutan patogenesis dan memulai pembentukan adenoma. Agar adenoma

berkembang, kedua salinan gen penekan tumor APC harus dinonaktifkan secara fungsional, baik melalui mutasi atau peristiwa epigenetik. APC adalah kunci regulator negatif dari  $\beta$ -catenin, sebuah komponen dari jalur persinyalan Wnt. Protein APC secara normal mengikat dan mempromosi degradasi  $\beta$ -catenin. Mutasi ini biasanya menyebabkan pemotongan protein APC, dengan penurunan kemampuan untuk langsung mendegradasi  $\beta$ -catenin dengan demikian melepaskan  $\beta$ -catenin dari regulasi fosforilasi oleh glikogen sintase kinase-3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) yang mengakibatkan akumulasi  $\beta$ -catenin pada inti, mengaktifkan transkripsi sejumlah target hilir lain, seperti cyclin D dan Myc dan menyebabkan pensinyalan abnormal melalui jalur Wnt. Ini diikuti dengan mutasi tambahan, termasuk aktivasi mutasi KRAS, yang juga mendorong pertumbuhan dan mencegah apoptosis. Studi *microarray* terbaru menunjukkan bahwa profil transkripsi dari aktivasi  $\beta$ -catenin menyerupai program stem sel dari kriptas usus. APC juga terlibat dalam interaksi sitoskeletal. Meskipun peran potensial paling penting dalam tumorigenesis belum didefinisikan secara tepat, APC telah langsung diimplikasikan dalam adhesi sel-sel, migrasi, segregasi kromosom (stabilitas genom) dan apoptosis. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015) Bukti lebih lanjut tentang pentingnya abnormalitas pensinyalan Wnt pada tumorigenesis kolorektal dibuktikan dengan adanya mutasi pada gen  $\beta$ -catenin (CTNNB1) pada beberapa tumor yang tidak memiliki mutasi APC. Berbeda dengan mutasi APC yang tidak aktif, mutasi CTNNB1 residu asam amino target yang terintegrasi dengan fosforilasi, mengakibatkan aktivasi onkogenik dari pensinyalan Wnt. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015) Mutasi KRAS ditemukan pada 40% dari adenoma dan kanker pada lokasi spesifik (kodon 12, 13, 61, dan lainnya), aktivasi onkoprotein KRAS dengan mengurangi atau menonaktifkan aktivitas enzimatik GTPase intrinsiknya, sehingga menahan protein dalam keadaan aktif terikat GTP. Hal ini mengirimkan sinyal konstitutif melalui jalur pensinyalan proliferasi RAS-RAF-MEK-ERK (MAPK), yang dapat mengaktifkan mutasi BRAF. Selain itu, KRAS juga dimasukkan ke dalam

jalur penekan apoptosis PI3K, yang juga dapat diaktifkan oleh mutasi pada PIK3CA atau PTEN. Progresi neoplastik juga dikaitkan dengan mutasi tumor supresor gen lain, yaitu SMAD2 dan SMAD4, yang merupakan efektor sinyal TGF- $\beta$ . Secara normal, sinyal TGF- $\beta$  menghambat siklus sel, maka kehilangan gen ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019) Gen penekan tumor TP53, yang mengkode P53, kadang-kadang disebut penjaga genom, karena responnya terhadap kerusakan DNA dan stres lainnya dengan menginduksi penghentian siklus sel melalui p21, sehingga memberi kesempatan untuk memperbaiki DNA yang rusak atau menginduksi apoptosis melalui BAX (dan protein lain) ketika terjadi kerusakan DNA yang lebih berat. Mutasi yang menonaktifkan fungsi p53 ditemukan pada 60% kanker dan mutasi ini sering terjadi pada tahap akhir perkembangan adenoma-karsinoma pada kanker sporadik, meskipun dapat terjadi lebih awal pada karsinogenesis yang berhubungan dengan penyakit inflamasi usus. Hilangnya fungsi gen TP53 dan gen supresor tumor yang lain sering disebabkan oleh delesi kromosom, yang dapat disimpulkan bahwa instabilitas kromosom merupakan penanda dari APC/ $\beta$ -catenin pathway. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019)

**2). Ketidakstabilan mikrosatelit (*Microsatellite Instability / MSI*)** karena defek dalam perbaikan ketidakcocokan DNA (*DNA mismatch repair / MMR*) mempengaruhi sejumlah besar gen. MSI ditandai dengan perubahan yang tersebar luas dalam ukuran urutan DNA berulang, yang terjadi pada sekitar 10% hingga 15% dari karsinoma kolorektal. Mutasi ini umumnya diam, karena mikrosatelit biasanya berada di daerah nonkode, tetapi urutan mikrosatelit lainnya terletak di daerah pengkodean atau promotor gen yang terlibat dalam regulasi pertumbuhan sel, seperti yang mengkode reseptor TGF- $\beta$  tipe II dan protein pro apoptosis BAX. Karena TGF- $\beta$  menghambat proliferasi sel epitel kolon, reseptor TGF- $\beta$  tipe II mutan dapat berkontribusi dalam pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, sementara kehilangan BAX dapat meningkatkan kelangsungan hidup klon yang abnormal secara genetik. Dalam subset kanker usus besar dengan ketidakstabilan

mikrosatelit, ada yang tidak mengalami mutasi pada enzim perbaikan ketidakcocokan DNA. Tumor ini menunjukkan hipermetilasi fenotip pulau CpG. Pada tumor ini, daerah promotor MLH1 biasanya mengalami hipermetilasi sehingga mengurangi ekspresi MLH1 dan fungsi perbaikan. Ini adalah karakteristik dari banyak karsinoma kolorektal yang timbul pada neoplastik bergerigi (*serrated*). MSI juga merupakan mekanisme yang mendasari perkembangan kanker sindrom Lynch, yang disebabkan oleh cacat bawaan pada DNA MMR. Pada sindrom Lynch, MSI berkembang dalam adenoma konvensional dan mendorong perkembangan cepat menjadi kanker. (Kumar et al., 2018; Nagtegaal et al., 2019; Odze & Goldblum, 2015)

**3). CpG island methylator phenotype (CIMP)** adalah akuisisi yang tersebar luas dari hipermetilasi dinukleotida CpG di daerah promotor gen. Disebut sebagai perubahan epigenetik (karena tidak mengubah urutan DNA). Hal ini merupakan mekanisme utama dari inaktivasi gen penekan tumor seperti TP16, CDHI dan MLH1. Metilasi pulau CpG yang tersebar luas disini berbeda dengan metilasi yang sangat terbatas yang terjadi di sebagian besar karsinoma kolorektal dan ini dikenal sebagai CIMP frekuensi tinggi (CIMP-H). CIMP-H adalah gambaran karakteristik dari karsinoma kolorektal yang muncul di jalur bergerigi (*serrated pathway*) dan muncul di 20% hingga 30% karsinoma kolorektal, termasuk hampir semua kanker yang juga mempunyai silencing hipermetilasi MLH1. Genetik yang mendasari dasar fenotipe CIMP-H kurang dipahami, tapi ada bukti bahwa faktor genetik dan paparan lingkungan (misalnya, merokok, penghentian estrogen) mungkin terkait dengan perkembangan karsinoma pada jalur bergerigi (*serrated pathway*). Sebuah hipotesis kerja berkembang dimana faktor genetik dan epidemiologi berkontribusi pada kejadian metilasi abnormal polip bergerigi kolon kanan dan mempengaruhi untuk terjadinya silencing metilasi dari MLH1, MGMT dan gen penting lainnya. Mungkin kejadian ini mendorong perkembangan dari displasia menjadi adenokarsinoma. Karsinoma yang berkembang ini disebut sebagai

adenokarsinoma "bergerigi" dan sering ditemukan fenotipe molekuler MSI-H atau CIMP-H, atau keduanya. (Odze & Goldblum, 2015)

### **2.2.3. Gambaran Klinik**

Gejala klinik dari karsinoma kolorektal bervariasi dan tidak spesifik. Keluhan utama pasien dengan karsinoma kolorektal berhubungan dengan ukuran tumor, lokasi tumor dan ada tidaknya metastasis. Sering kali tidak didapatkan gejala dan tanda dini dari karsinoma kolorektal. Karsinoma kolorektal umumnya berkembang lambat, keluhan dan tanda-tanda fisik timbul sebagai bagian dari komplikasi seperti obstruksi, perdarahan akibat invasi dan kakesia. (Jong, 2013)

Gejala klinik karsinoma kolorektal pada lokasi tumor di kolon kiri berbeda dengan kanan. Tumor di kolon kiri sering bersifat skirotik sehingga lebih banyak menimbulkan stenosis dan obstruksi karena feses sudah menjadi padat. Tumor pada kolon kiri dan rektum menyebabkan perubahan pola defekasi seperti konstipasi atau defekasi dengan tenesmus, semakin distal letak tumor feses semakin menipis atau seperti kotoran kambing atau lebih cair disertai darah atau lendir. Perubahan kebiasaan buang air besar mempengaruhi 22% sampai 58% pasien dengan karsinoma kolorektal dan paling sering terjadi ketika neoplasma muncul di usus besar kiri. Perubahannya seringkali minimal, tetapi progresif, dan termasuk diare dan sensasi pengosongan rektal yang tidak lengkap atau inkontinensia. (Noffsinger, 2017) Pada karsinoma kolon kanan jarang terjadi stenosis karena feses masih cair. Tumor kolon cecum dan ascending juga memiliki rata-rata kehilangan darah harian empat kali lebih tinggi daripada tumor di lokasi kolon lain. Gejala umumnya adalah dispepsia, kelemahan umum, penurunan berat badan dan anemia defisiensi besi. Gagal jantung atau angina pektoris mungkin merupakan gejala yang muncul pada pasien anemia. Pada karsinoma di kolon kanan didapatkan masa di perut kanan bawah. (Jong, 2013)

Banyak pula pasien yang tanpa gejala yang terdiagnosa saat skrining melalui pemeriksaan darah samar feses atau melalui endoskop. Evaluasi dengan endoskop dapat memperlihatkan gambaran karsinoma



kolorektal dan lesi-lesi prekursor pada permukaan mukosa usus besar. (Nagtegaal et al., 2019)

Penyebaran adenokarsinoma kolorektal dapat terjadi intramural atau intraluminal, yaitu melalui invasi perineural, limfatik dan atau vena; melalui penyebaran langsung ke struktur di dekatnya; melalui kavum peritoneal dan membran serosa; atau pun melalui implantasi pada luka operasi dan tempat anastomosis. (Noffsinger, 2017) Invasi limfatik, yaitu adanya sel tunggal atau kelompok sel tumor di saluran limfatik yang merupakan faktor risiko morfologis untuk adanya metastasis kelenjar getah bening. (Nagtegaal et al., 2019) Penyebaran melalui pembuluh limfatik adalah jalur paling umum untuk penyebaran awal karsinoma. (Kumar, Vinay., Abbas, Abul K., Aster, 2021) Invasi vaskular dapat disubklasifikasikan menurut lokalisasi yaitu di dalam dinding usus (invasi vaskular intramural) dan di luar dinding usus atau ektramural. (Nagtegaal et al., 2019)

Pasien dengan karsinoma kolorektal sering mengalami metastasis jauh. Tempat paling umum dari metastasis karsinoma kolorektal adalah kelenjar getah bening regional dan hati. Hati adalah tempat utama dari metastasis hematogen, diikuti oleh paru. Metastasis hati terjadi pada saat diagnosis pada 15% sampai 25% pasien dan akan berkembang pada 60% pasien dengan penyakit progresif. Insiden metastasis bervariasi dengan ukuran dan lokasi tumor dan keterlibatan kelenjar getah bening regional. Secara keseluruhan, 75% hingga 77% dari metastasis jauh melibatkan hati, 5% hingga 50% melibatkan paru, dan 5% hingga 8% melibatkan otak. Pasien dengan metastasis hati mungkin menunjukkan metastasis sekunder ke kelenjar getah bening yang mengalir ke hati. (Goldblum et al., 2018; Noffsinger, 2017)

#### **2.2.4. Gambaran Makroskopik**

Secara makroskopis terdapat tiga tipe karsinoma kolon dan rektum. Tipe polipoid atau vegetatif tumbuh menonjol ke dalam lumen usus dan berbentuk bunga kol ditemukan terutama di sekum dan kolon asendens. Tipe skirus mengakibatkan penyempitan sehingga terjadi stenosis dan gejala obstruksi, terutama ditemukan di kolon desendens, sigmoid, dan

rektum. Bentuk ulseratif terjadi karena nekrosis di bagian sentral terdapat di rektum. Pada tahap lanjut sebagian besar karsinoma kolon mengalami ulserasi menjadi tukak maligna. Karsinoma kecil berukuran diameter 1 sampai 2 cm, biasanya berwarna merah, granular, lesi seperti kancing yang secara variatif terangkat di atas permukaan mukosa yang berwarna kecokelatan, dan seringkali berbatas tegas. (Nagtegaal et al., 2019; Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

Adenokarsinoma yang timbul di kolon transversal dan desendens biasanya menjadi infiltratif dan ulserasi, menghasilkan tumor annular dan konstiksi, memberi gambaran khas berupa lesi “apple-core” pada studi barium. Secara makroskopik, lesi ini tampak bulat tidak teratur, dengan tepi yang menonjol, warna merah muda atau putih pucat dan cekung di tengah. Usus biasanya melebar di bagian proksimal tumor. Tumornya keras karena reaksi stroma desmoplastik. Nekrosis sentral dan ulserasi tumor transmural dapat menyebabkan perforasi dan peritonitis. (Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015) Karsinoma kolorektal infiltrasi difus jarang terjadi, tetapi bila terjadi, mereka mengubah usus besar menjadi tabung yang kaku menyerupai gastric linitis plastica. Pola pertumbuhan lainnya adalah karsinoma yang datar atau superfisial yang baru dikenali, yang timbul dari adenoma datar. Karsinoma ini sering muncul sebagai plak datar pada permukaan mukosa dengan invasi intramural yang luas. (Noffsinger, 2017; Odze & Goldblum, 2015)

### **2.2.5. Gambaran Mikroskopik (Histopatologi)**

Mayoritas dari seluruh karsinoma kolorektal yaitu sekitar 90-95% adalah adenokarsinoma. Ciri khasnya adalah adanya invasi melalui muskularis mukosa ke dalam submukosa. Meskipun kebanyakan kasus di diagnosis sebagai adenokarsinoma *of no special type* (NOS), beberapa subtype histopatologi dapat dibedakan dengan karakteristik klinik dan molekular yang spesifik. (Nagtegaal et al., 2019; Noffsinger, 2017)

Penilaian karsinoma kolorektal didasarkan pada pembentukan kelenjar, yaitu *low grade* (sebelumnya berdiferensiasi baik hingga sedang) dan *high grade* (sebelumnya berdiferensiasi buruk). *Grading* didasarkan

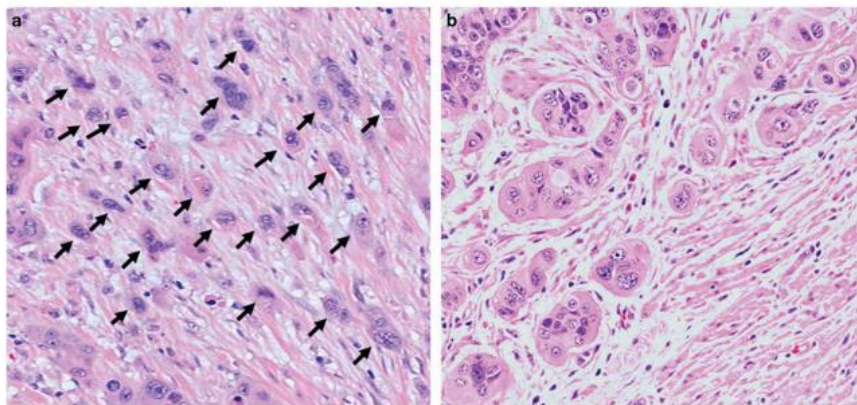
pada komponen yang paling tidak dapat dibedakan dari sel normal. Bagian yang mengalami invasif, di mana pembentukan *tumor budding* dan kelompok yang berdiferensiasi buruk terjadi sebagai tanda transisi epitel-mesenkim, tidak boleh diperhitungkan saat menilai tumor, tetapi harus dilaporkan secara terpisah. (WHO Classification of Tumours, 2020)

Gambaran histopatologi yang penting pada adenokarsinoma kolorektal adalah invasi limfatik, yaitu adanya sel tunggal atau kelompok sel tumor dalam saluran limfatik (sering didefinisikan sebagai saluran yang ditutupi dengan sel endotel tanpa eritrosit) merupakan faktor risiko morfologis untuk adanya metastasis kelenjar getah bening di pT1 karsinoma kolorektal. Imunohistokimia tambahan dapat membantu untuk melihat invasi limfatik ini. Selain itu, invasi vaskular juga merupakan gambaran histopatologi yang penting pada adenokarsinoma kolorektal. Invasi vaskular dapat disubklasifikasikan menurut lokalisasinya yaitu di dalam dinding usus (invasi vaskular intramural [IMVI]) dan di luar dinding usus (EMVI). IMVI dilaporkan memiliki insiden 4-40% (12,5% keseluruhan insiden yang dilaporkan) dan ini terkait dengan prognosis yang buruk. Insiden EMVI lebih tinggi daripada IMVI, tetapi gambaran ini masih dianggap kurang dilaporkan. Dampak prognostik negatif EMVI lebih tinggi daripada IMVI. Gambaran yang membantu dalam pengenalan EMVI adalah *orphan artery sign* (nodul tumor yang diidentifikasi berdekatan dengan arteri di vena yang diduga) dan *protruding tongue sign* (bagian tumor seperti gambaran lidah yang menonjol di luar batas tumor ke dalam vena di lemak sekitarnya). Pewarnaan elastin atau imunohistokimia terkadang digunakan untuk meningkatkan deteksi adanya invasi vaskular ini. (WHO Classification of Tumours, 2020)

Pertumbuhan sepanjang saraf disebut invasi perineural. Sel-sel tumor menurut definisi harus mengelilingi setidaknya sepertiga dari lingkaran saraf dan dapat hadir di salah satu dari tiga lapisan saraf (epineurium, perineurium, dan endoneurium). Insiden dilaporkan sekitar 20%, dengan peningkatan insiden di rektum, pada stadium tumor yang lebih tinggi, dan adanya faktor risiko lain (misalnya invasi vaskular dan limfatik). Invasi

perineural dikaitkan dengan kekambuhan lokal, kekambuhan jauh, dan penurunan kelangsungan hidup. Oleh karena itu, gambaran invasi perineural juga merupakan gambaran histopatologi penting pada kasus adenokarsinoma kolorektal. (WHO Classification of Tumours, 2020)

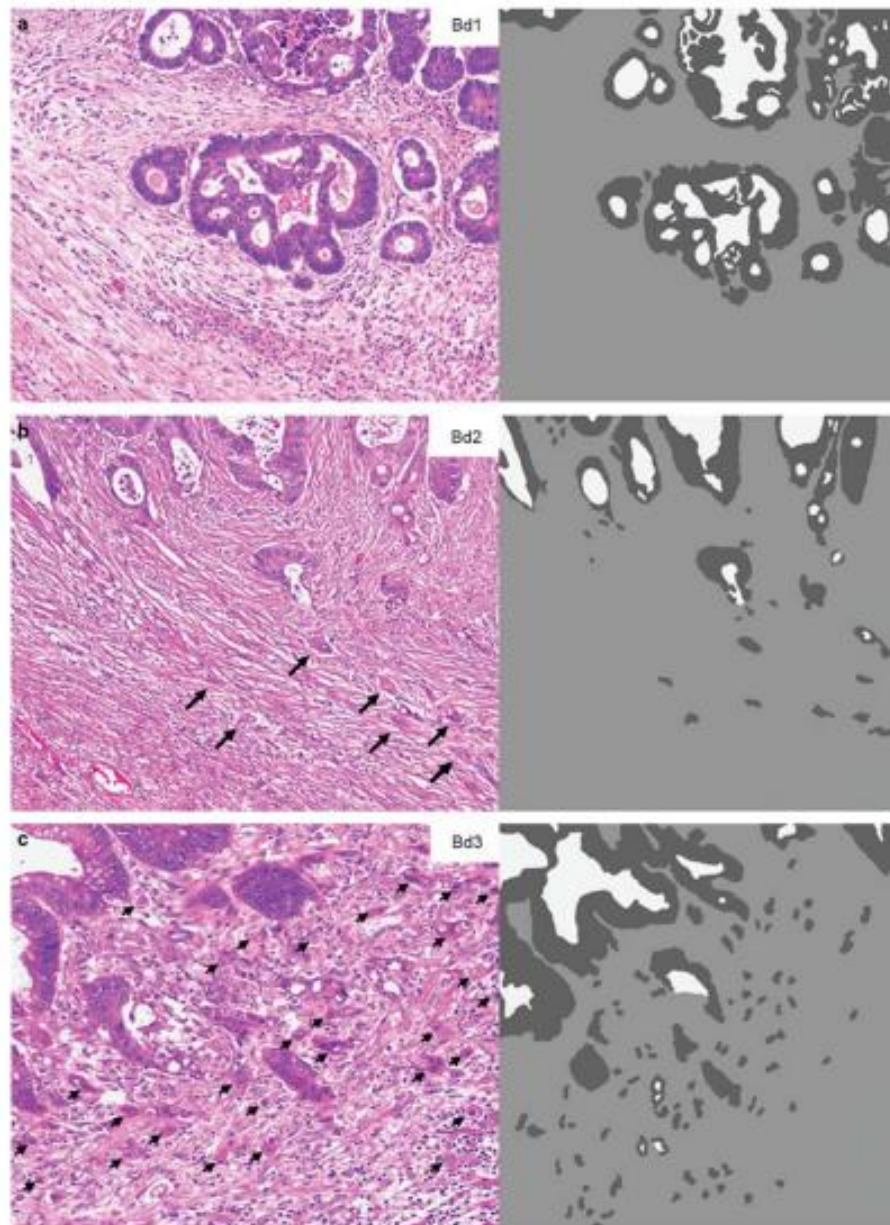
*Tumor budding* didefinisikan sebagai sel tunggal atau berkelompok sebanyak 4 sel tumor pada margin invasif tumor. Mekanisme terjadinya *tumor budding* belum dipahami dengan jelas. Teori yang berlaku saat ini menyatakan tumor budding merupakan bagian dari *epithelial mesenchymal transition* (EMT). *Epithelial to Mesenchymal Transition* merupakan tahap awal titik pertemuan antara inflamasi dan progresi fibrosis yang dikarakteristikkan dengan hilangnya polaritas sel, perubahan bentuk sel dan penurunan ekspresi marker sel epitel serta peningkatan marker sel mesenkimal. (Kim et al., 2013)



**Gambar 3. Contoh pertumbuhan tumor (a) yang didefinisikan sebagai sel tumor tunggal atau kelompok sel tumor hingga empat sel. Contoh kelompok berdiferensiasi buruk (b) yang didefinisikan sebagai lima sel tumor atau lebih (Lugli et al, 2017).**

Apabila dilakukan pemeriksaan dengan teliti, sebagian besar karsinoma kolorektal menunjukkan berbagai derajat budding yang memungkinkan membuat sistem penilaian tumor budding dihubungkan dengan prognosis pasien. (Koelzer et al, 2015) *Tumor budding* adalah faktor prognostik yang mapan/baik digunakan untuk menyempurnakan keputusan manajemen klinis pada pasien dengan kanker kolorektal. Konsensus internasional berbasis bukti membuat metode penilaian *tumor budding* di International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC)

sehingga membuka jalan untuk pelaporan *tumor budding* di masa depan dalam praktek rutin. Namun ITBCC tidak dimaksudkan menjadi titik akhir, melainkan landasan untuk selanjutnya kolaborasi multi-pusat dan uji klinis untuk secara prospektif memvalidasi dan menyempurnakan lebih lanjut metode ITBCC yang diusulkan. ITBCC merekomendasikan pertumbuhan tumor harus dimasukkan dalam pedoman dan protokol kanker kolorektal di masa mendatang. (Lugli et al, 2017)




**Gambar 4. Contoh tingkat pertumbuhan tumor yang berbeda (hotspot, 0,785 mm<sup>2</sup>) invasif di depan kanker kolorektal berdasarkan ITBCC 2016. (a): Bd 1 (rendah), (b): Bd 2 (menengah) dan (c): Bd 3 (tinggi) (Lugli et al, 2017).**


1 Define the field (specimen) area for the 20x objective lens of your microscope based on the eyepiece field number (FN) diameter

Objective magnification 20		
Eyepiece FN Diameter (mm)	Specimen Area (mm <sup>2</sup> )	Normalization Factor
18	0.636	0.810
18	0.785	0.803
20	0.785	1.000
21	0.986	1.259
22	0.980	1.210
23	1.099	1.325
24	1.131	1.440
25	1.227	1.565
26	1.327	1.690

2 Select the H&E slide with greatest degree of budding at the invasive front



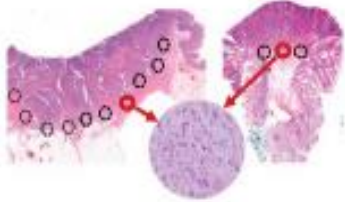
3 Scan 10 individual fields at medium power (10x objective) to identify the "hotspot" at the invasive front



For surgical resection specimens, scan 10 fields

For pT1 endoscopic resections (usually <10 fields available), scan all

4 Count tumor buds in the selected "hotspot" (20x objective)



Selected hotspot indicated in red

5 Divide the bud count by the normalization factor (figure 2) to determine the tumor bud count per 0.785mm<sup>2</sup>

Select the budding [Bd] category based on bud count and indicate the absolute count per 0.785mm<sup>2</sup> (see reporting example)

Tumor bud count per 0.785 mm <sup>2</sup> = Bud count (20x objective) / Normalization factor*	
Bd1 (low):	0-4 buds
Bd2 (intermediate):	5-9 buds
Bd3 (high):	≥10 buds

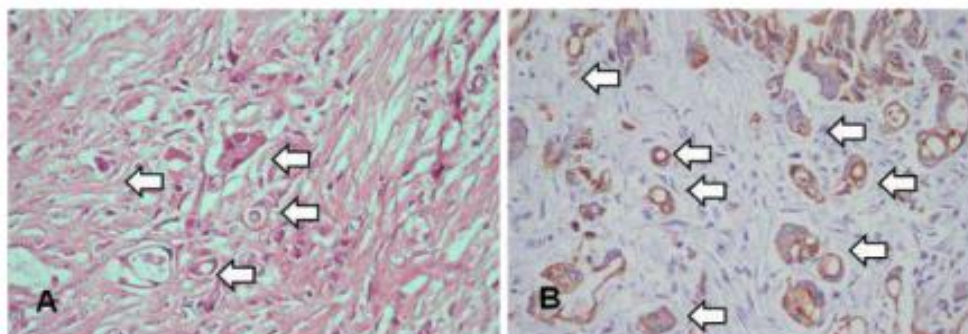
Reporting example:  
Tumor budding: Bd3 (high), count 14 (per 0.785 mm<sup>2</sup>)

**Gambar 5. Prosedur yang diusulkan oleh ITBCC 2016 untuk pelaporan pertumbuhan tumor pada kanker kolorektal dalam praktik diagnostik harian (Lugli et al, 2017).**

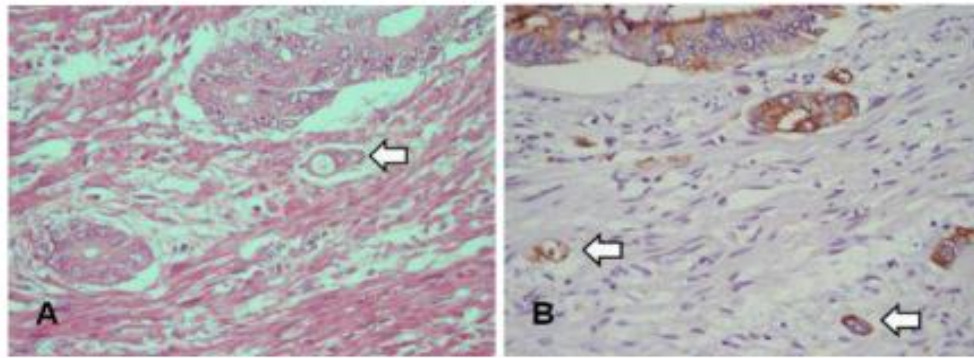
Kehadiran *tumor budding high grade* dikaitkan dengan prognosis yang buruk di berbagai subkelompok karsinoma kolorektal. Kluster yang berdiferensiasi buruk adalah kelompok  $\geq 5$  sel tumor, tanpa pembentukan kelenjar, dan merupakan gambaran prognostik yang merugikan. Dua jenis

pola pertumbuhan dapat dibedakan, yaitu pertumbuhan infiltrasi dan *pushing borders*. *Pushing borders* dikaitkan dengan hasil yang lebih baik dan tahap yang lebih rendah. (WHO Classification of Tumours, 2020)

Pulasan hematoksilin-eosin (HE) merupakan pulasan yang rutin dikerjakan dalam pemeriksaan histopatologi bahan operasi termasuk untuk menegakkan diagnosis karsinoma kolorektal. *Tumor budding* dapat dinilai pada sediaan dengan pulasan HE maupun pulasan imunohistokimia (IHK) pan-sitokeratin tetapi masih terdapat kontroversi. Beberapa ahli patologi menyatakan deteksi *tumor budding* cukup dengan pemeriksaan HE karena pansitokeratin tidak praktis untuk diagnosis sehari-hari dan memerlukan biaya tambahan. (Mitrovic et al, 2012) Ahli patologi lainnya menyatakan pulasan pansitokeratin akan meningkatkan deteksi *tumor budding* tetapi tidak meningkatkan nilai prognosis. Pada kondisi tertentu *tumor budding* sulit dinilai pada pulasan HE karena adanya sel inflamasi padat, stroma fibroblas reaktif, atau kelenjar yang pecah sehingga diperlukan pulasan pan-sitokeratin untuk membantu deteksi *tumor budding* yang secara bermakna mengurangi variabilitas interobserver. (Koelzer et al, 2015) Penelitian yang dilakukan oleh Purjawan, 2018, tentang penentuan densitas *tumor budding* pada kasus adenokarsinoma kolorektal tipe tidak spesifik, menemukan bahwa pulasan HE tidak berbeda dengan pulasan pan-sitokeratin.



**Gambar 6. High grade tumor budding (pembesaran 400x, luas area 0,65 mm<sup>2</sup>). a). Pulasan HE; b). Pulasan pan-sitokeratin (Purjawan et al, 2018).**



**Gambar 7. Low grade tumor budding (pembesaran 400x, luas area 0,65 mm<sup>2</sup>). a). Pulasan HE; b). Pulasan pan-sitokeratin (Purjawan et al, 2018).**

Secara biologis, tujuan *tumor budding* tampak jelas, yaitu melawan diri melalui jaringan ikat peritumoural, untuk menghindari pertahanan tuan rumah dan akhirnya menyerang limfatik dan pembuluh darah dengan konsekuensi metastasis lokal dan jauh. Proses pertumbuhan tumor telah dikaitkan dengan EMT, yang memungkinkan sel terpolarisasi untuk merubah fenotipe epithelial menjadi mesenkimal dengan peningkatan kapasitas migrasi, invasif, resistensi terhadap apoptosis dan produksi molekul matriks ekstraseluler (ECM). (Y. Zhou et al., 2018) Meskipun secara pasti pertumbuhan tumor belum disamakan dengan EMT, namun aktivasi di pensinyalan WNT, dapat mempengaruhi hal tersebut. (Ganesan et al., 2016) Langkah pertama dalam *tumor budding* ini tampaknya adalah pelepasannya dari tubuh tumor utama dengan hilangnya ekspresi membrane molekul adhesi E-cadherin. *Tumor budding* secara agresif tidak hanya kehilangan ekspresi E-cadherin pada membran (ekspresi sitoplasma masih dapat ditemukan), tetapi juga ekspresi fibronektin dalam sitoplasma, menunjukkan fenotipe lebih mesenkimal yang memperlihatkan interaksi antara *tumor budding* dan stroma sekitarnya. (Lugli et al., 2021) Pengaktifan pensinyalan WNT selanjutnya tersirat oleh ekspresi yang jelas dari b-catenin dalam nukleus daripada di sitoplasma atau membran dalam sel *tumor budding*, serta peningkatan laminin 5 gamma 2 dan aktivasi SLUG dan ZEB1. (Schmalhofer et al, 2009; Ganesan et al., 2016)

Hubungan respons imun dengan gambaran histopatologi adenokarsinoma kolorektal telah terbukti. Limfosit intratumoural dan reaksi



seperti Crohn dikaitkan dengan hasil yang lebih baik. Kedua fitur tersebut diasosiasikan dengan MSI namun hubungannya dengan hasil tampaknya tidak bergantung pada status MSI. Baru-baru ini, pemeriksaan standar keberadaan limfosit di bagian depan invasif tumor, menggunakan imunohistokimia untuk CD3 dan CD8, menunjukkan bahwa fitur ini memiliki kekuatan prognostik yang signifikan. (WHO Classification of Tumours, 2020)

### **2.3. Ekspresi Snail sebagai Faktor *Epithelial to Mesenchymal Transition***

EMT merupakan dinamika multistap dinamis sel dimana sel juga memiliki kemampuan migrasi serta invasi yang merupakan karakteristik sel mesenkimal. EMT dan proses sebaliknya yang disebut *mesenchymal epithelial transition* (MET) merupakan proses fisiologis yang memegang peranan penting selama perkembangan embrio, penyembuhan luka, dan perbaikan jaringan. Aktivasi EMT juga diketahui berperan pada metastasis kanker. (Grigore et al, 2016; Zlobec et al, 2010) Berdasarkan proses biologis dan biomarkernya EMT dapat diklasifikasikan menjadi 3, yaitu:

#### 1. Tipe 1 EMT

EMT tipe 1 terjadi pada proses embriogenesis ketika sel epitel primitif mengalami transisi menjadi sel mesenkimal untuk proses gastrulasi, organogenesis dan perkembangan sel epitel sekunder. (Burns et al., 2010)

#### 2. Tipe 2 EMT

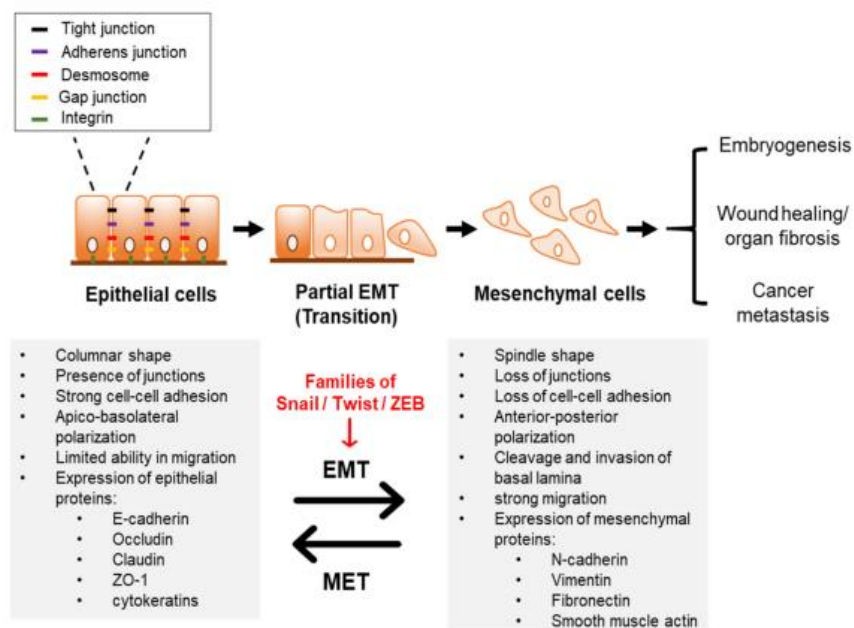
EMT tipe 2 melibatkan transisi sel epitel sekunder atau sel endotel menjadi jaringan fibroblas yang berhubungan dengan penyembuhan luka, regenerasi jaringan dan fibrosis organ. Pada keadaan fibrosis organ, EMT tipe 2 dapat berlanjut sebagai respon dari inflamasi yang memicu destruksi organ. (Zeisberg & Neilson, 2009)

#### 3. Tipe 3 EMT

EMT tipe 3 timbul pada tahap yang penting dalam proses evolusi sel epitel kanker yang memicu perubahan fenotip yang lebih agresif dan

berhubungan dengan pertumbuhan tidak terkontrol, migrasi dan invasi melalui sirkulasi. (Burns et al., 2010)

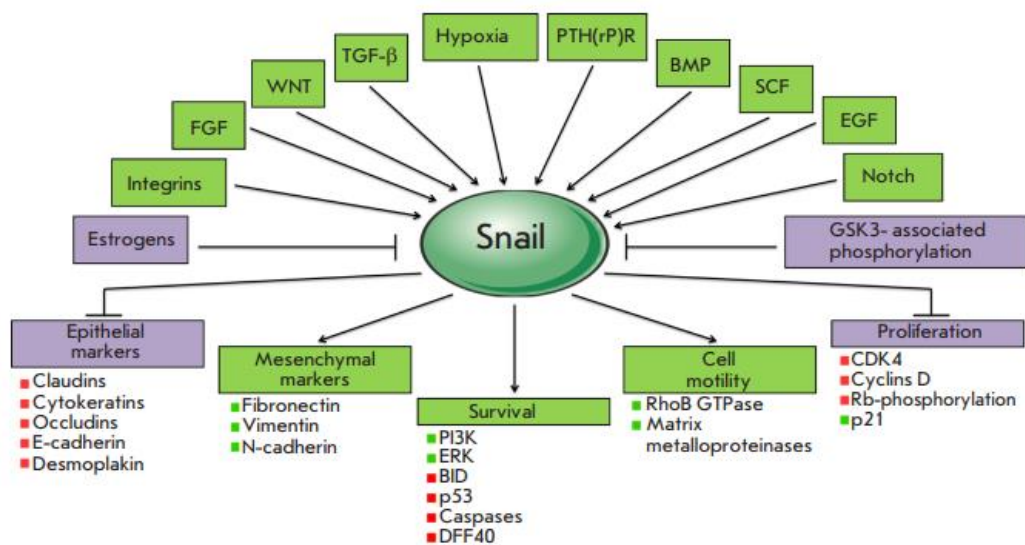
E-cadherin secara fungsional berkaitan dengan fenotip polarisasi sel epitel. Polaritas serta integritas sel dan jaringan ditentukan oleh perekatan dari sel tersebut. (Forbes et al., 2012; Y. Zhou et al., 2018) Hilangnya perekatan antar sel dengan menurunnya protein E-cadherin menandakan adanya *Epithelial to Mesenchymal Transition* atau perubahan sel epitel menjadi sel mesenkimal. Menurunnya E-cadherin menyebabkan hilangnya kemampuan adhesi sel-sel sehingga sel epitel akan kehilangan matriks ekstraselulernya. Adapun faktor transkripsi yang merupakan represor E-cadherin yang berfungsi sebagai molekul adhesi sel dan memegang peranan penting dalam pembentukan dan penjagaan integritas jaringan kompleks adalah Snail. (Tian et al., 2011; Y. Zhou et al., 2018)



**Gambar 8. Karakteristik EMT. Sel epitel melekat pada membran dasar (Tian et al., 2011).**

Snail adalah penginduksi EMT yang mencolok dan sangat menekan ekspresi E-cadherin. (Wang et al., 2013) Selain menginduksi EMT, anggota superfamili Snail telah terlibat dalam berbagai proses perkembangan penting, termasuk diferensiasi saraf, serta kelangsungan hidup suatu sel. Ekspresi Snail berkorelasi positif dengan derajat tumor, kekambuhan,

metastasis dan prognosis buruk pada berbagai tumor. Snail pertama kali dideskripsikan di *Drosophila melanogaster*, yang membuktikan Snail penting untuk pembentukan mesoderm. (Chen et al., 2010) Selanjutnya, homolog Snail telah ditemukan di banyak spesies dari invertebrata hingga vertebrata, seperti nematoda, moluska, dan manusia. Tiga protein keluarga Snail telah diidentifikasi dalam vertebrata: Snail1 (Snail), Snail2 (Slug) dan Snail3 (Smuc). Semua anggota keluarga menyandikan represor transkripsi. (Ganesan et al., 2016)

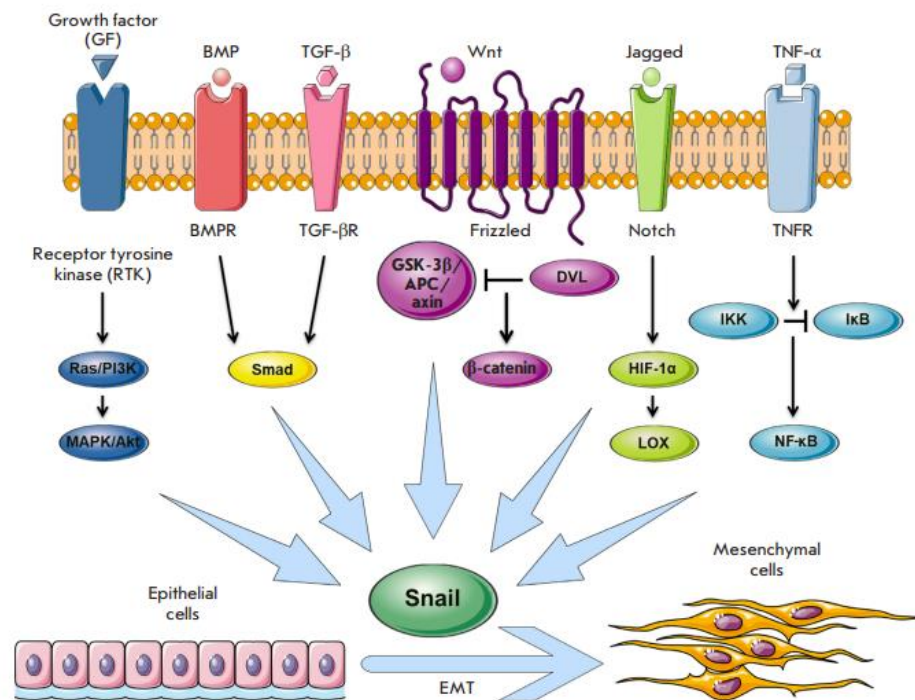


**Gambar 9. Regulasi dan target utama faktor transkripsi Snail (Yastrebova et al, 2021)**

EMT adalah proses dinamis yang dipicu oleh rangsangan yang berasal dari lingkungan mikro, termasuk matriks ekstraseluler (seperti kolagen dan asam hialuronat) dan banyak disekresikan oleh faktor larut seperti faktor pertumbuhan epidermal (EGF), faktor pertumbuhan fibroblast (FGF), faktor pertumbuhan hepatosit (HGF), protein morfogenetik tulang (BMP), transformasi faktor pertumbuhan- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), Notch, Wnt, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), dan sitokin. (Gavert et al., 2008) Ekspresi Snail dapat ditemukan dalam proses EMT ini dimana banyak molekul pensinyalan dari lingkungan mikro tumor telah terbukti menginduksi ekspresi Snail dalam konteks seluler yang berbeda (Gambar 10).

Pensinyalan reseptor tirosin kinase (RTK), diaktifkan oleh HGF, FGF, atau EGF, bertindak melalui jalur RAS-MAPK atau PI3K-Akt dan

menghasilkan induksi Snail. Pensinyalan melalui MAPK atau PI3K telah dilaporkan seperlunya dan cukup untuk mengatur EMT bekerja sama dengan TGF- $\beta$ , yang juga terlibat dalam induksi Snail. TGF- $\beta$  adalah sitokin multifungsi yang mengatur proliferasi sel, diferensiasi dan apoptosis. (Amin et al., 2008; Wang et al., 2013) Hal ini menekan perkembangan tumor pada tahap awal. Namun, dapat mempromosikan perkembangan tumor ketika sel menjadi resisten terhadap TGF- $\beta$ . (Heldin et al., 2009; Wang et al., 2013)



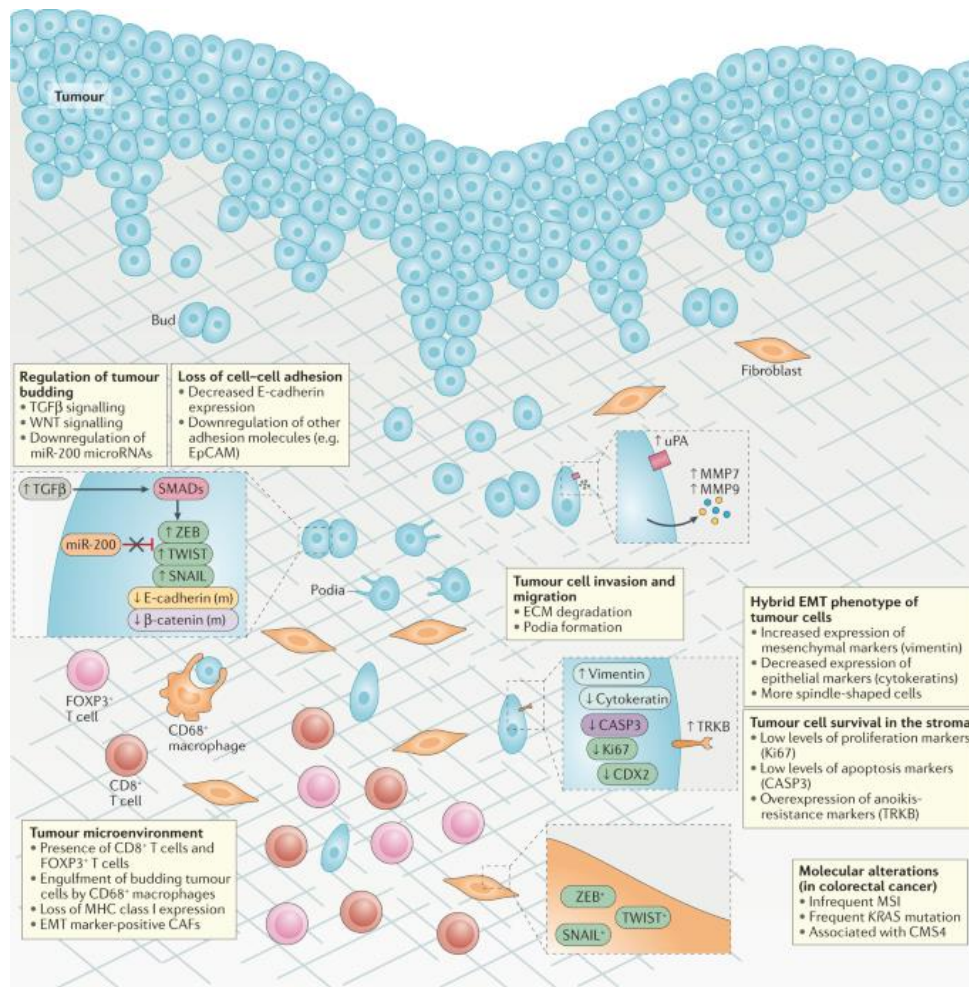
**Gambar 10. Diagram skematik jalur pensinyalan yang terkait dengan EMT yang diinduksi Snail (Yastrebova et al, 2021)**

Snail memainkan peran penting dalam memediasi efek dari penekan tumor TGF- $\beta$ . Hal ini memberikan perlawanan terhadap apoptosis yang dimediasi TGF- $\beta$  dan mengalihkan respons terhadap perkembangan tumor. (Franco et al., 2010) Di akhir tahap, TGF- $\beta$  menginduksi EMT dengan mengatur Snail melalui cara yang bergantung pada Smad. Telah dibuktikan bahwa TGF- $\beta$ , melalui jalur Smad, menginduksi ekspresi mobilitas tinggi grup A2 (HMGA2) yang banyak mengatur ekspresi penekan penting E-cadherin. (Hao et al., 2019) Smads dan HMGA2 secara kooperatif mengikat promotor Snail dan menginduksi ekspresi Snail, represi E-cadherin dan

keseluruhan fenotipe EMT. (Hua et al., 2020) Selama EMT yang diinduksi TGF- $\beta$ , juga telah ditunjukkan bahwa Snail membentuk transkripsi kompleks represor dengan SMAD3/4. Kompleks ini menargetkan elemen E-box dan *Smadbinding* yang berdekatan dalam gen yang mengkode *protein junctions* seperti E-cadherin, CAR dan occludin, menghasilkan represi gen. (Jin et al., 2020) Selain itu, jalur TGF- $\beta$ -Smad juga bekerja sama dengan pensinyalan Ras, Notch, dan Wnt dalam mendorong ekspresi Snail dalam pengembangan dan dalam metastasis tumor. (Wang et al., 2013) TGF- $\beta$  meningkatkan aktivitas Notch melalui Smad3, yang meningkatkan regulasi Jagged1 dan HEY1. Jagged1 dan Notch yang tinggi mempromosikan ekspresi Slug, sehingga menekan E-cadherin dan mengarah ke fenotipe EMT. (Sasaki et al., 2022) Ekspresi Snail dikontrol oleh dua mekanisme yang berbeda tetapi sinergis termasuk transkripsi langsung aktivasi Snail dan mekanisme tidak langsung yang beroperasi melalui lysyl oxidase (LOX). Peningkatan ekspresi LOX dengan merekrut faktor yang diinduksi hipoksia 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) ke LOX promotor, yang menstabilkan protein Snail dan menghasilkan pengaturan EMT, migrasi dan invasi sel kanker. (Boufraqech et al., 2016)

Metastasis bertanggung jawab atas sebagian besar kematian pasien kanker. Kaskade metastatik adalah proses kompleks dibagi menjadi serangkaian langkah, termasuk pelepasan sel tumor dari tumor primer, invasi, intravasasi, kelangsungan hidup dalam sirkulasi, ekstravasasi dan kolonisasi di tumor sekunder. (Goldblum et al., 2018) EMT terlibat dalam kaskade metastatik banyak tumor padat dan merupakan ciri khas dari proses ini. Pada kanker, EMT melibatkan molekuler pemrograman ulang dan perubahan fenotipik yang menjadi ciri konversi kanker tidak bergerak yaitu sel epitel menjadi sel mesenkimal yang motil. Beberapa faktor transkripsi, termasuk keluarga Snail/Slug, Twist,  $\delta$ EF1/ZEB1, SIP1/ZEB2 dan E12/E47 merespons berbagai rangsangan lingkungan mikro dan berfungsi sebagai sakelar molekuler dari program EMT. Sebagai pengatur penting dari beberapa jalur pensinyalan yang mengarah ke EMT, ekspresi Snail terkait erat dengan metastasis kanker. Hal ini telah disampaikan

bahwa Snail diperlukan untuk metastasis kelenjar getah bening karsinoma payudara manusia MDA-MB-231 sel. (Lugli et al., 2021)



**Gambar 11. Tumor budding pada solid cancer (Lugli et al., 2021)**

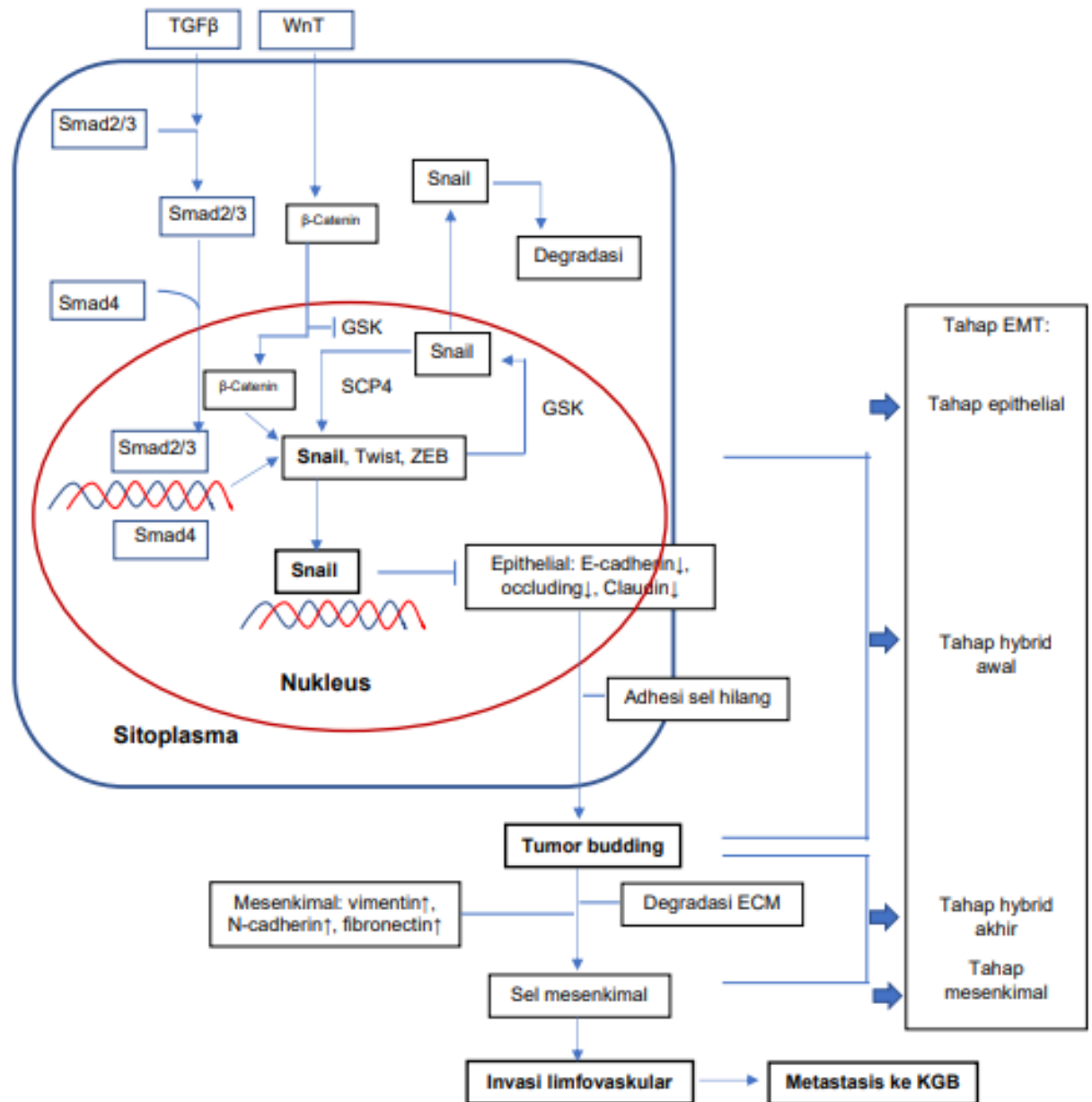
Penelitian baru-baru ini menunjukkan bahwa EMT yang diinduksi Snail mempercepat metastasis melalui induksi immunosupresi. *Knockdown of Snail* secara signifikan menghambat pertumbuhan tumor dan metastasis, meningkatkan tumor-infiltrasi limfosit dan respon imun sistemik. (Suarez-Carmona et al., 2017) Karena itu, Snail adalah target yang efektif untuk mencegah metastasis. Slug, anggota lain dari keluarga Snail faktor transkripsi, diketahui diperlukan untuk migrasi sel kista neural selama perkembangan, telah ditandai sebagai repressor E-cadherin yang kuat dan

penginduksi EMT utama serta berkorelasi dengan metastasis jauh. Slug adalah mediator penting dari EMT dan metastasis yang diinduksi Twist. Twist perlu diinduksi Slug untuk menekan cabang epitel EMT, kemudian Twist dan Slug bekerja sama mempromosikan EMT dan metastasis. (Seo et al., 2021)

## BAB III

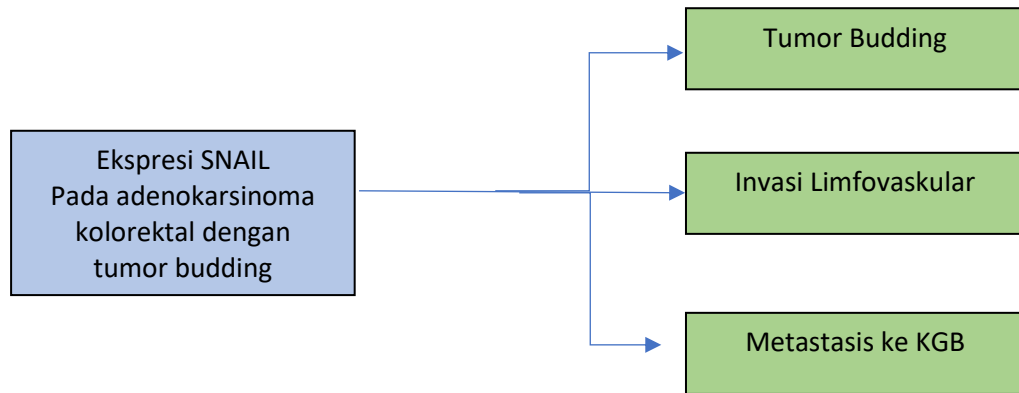
### KERANGKA TEORI DAN KONSEP

#### 3.1. Kerangka Teori





### 3.2. Kerangka Konsep



Keterangan:



Variabel Bebas



Variabel Tergantung