

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker payudara (KPD) merupakan masalah yang signifikan secara global.(Indra et al., 2021; Pranoto et al., 2021) Kanker ini merupakan kanker yang paling sering didiagnosis pada wanita dengan perkiraan 2,1 juta kasus baru didiagnosis setiap tahunnya dan mewakili 24,2% dari seluruh diagnosis kanker di kalangan Wanita. Pada tahun 2018, sekitar 6,8 juta wanita di seluruh dunia menderita kanker payudara. (Francies et al., 2020) Di Indonesia, insidensi kanker payudara di Indonesia sebanyak 16,7 % dan merupakan penyebab utama kematian sebesar 11% (Prihantono & Faruk, 2023). Menurut WHO, Indonesia yang tergolong negara berpendapatan rendah dan menengah, kanker payudara merupakan kanker terbanyak dengan prevalensi 201.143 jiwa dan angka kematian sebesar 9,6% pada tahun 2020 (WHO, 2020). Di Provinsi Sulawesi Selatan, prevalensi kanker payudara tahun 2018 sebanyak (2,4%) dimana prevalensi umur 5-14 tahun (0,1%) dan kelompok umur 15-24 tahun (0,8%). (Kementerian Kesehatan RI, 2018)

Peran angiogenesis dan limfangiogenesis dalam progresi kanker payudara telah banyak diteliti, di mana Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), khususnya isoform VEGF-C, berkontribusi dalam pembentukan pembuluh limfatik yang mendukung metastasis tumor ke kelenjar getah bening (Madu et al., 2020; Ronca et al., 2017). VEGF merupakan glikoprotein proangiogenik yang memiliki peran krusial dalam proses angiogenesis dengan meningkatkan proliferasi, migrasi, kelangsungan hidup sel endotel, serta meningkatkan permeabilitas kapiler (Melincovici et al., 2018). VEGF, khususnya isoform VEGF-A dan VEGF-C, banyak diekspresikan pada berbagai jenis kanker, termasuk karsinoma payudara, dan

berperan penting dalam pembentukan pembuluh darah baru maupun pembuluh limfatik (Jha et al., 2017). Ekspresi VEGF-C menunjukkan hubungan kuat dengan agresivitas tumor dan prognosis yang buruk pada pasien kanker payudara (Madu et al., 2020; Ronca et al., 2017). Namun, penelitian mengenai korelasi antara kadar VEGF-C serum dengan grading histopatologis dan kejadian metastasis kanker payudara masih terbatas, khususnya di Indonesia.

Dalam metastasis kanker payudara, ekspresi VEGF-C telah terbukti berkorelasi signifikan dengan peningkatan limfangiogenesis dan metastasis ke kelenjar getah bening, yang berdampak pada penurunan prognosis pasien (K. Banerjee et al., 2023). Aktivitas VEGF-C tidak hanya terkait dengan perkembangan vaskular, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor inflamasi seperti IL-6 (Y.-H. Huang et al., 2016; Manuel García-Castellano et al., 2022) dan IL-17 (D. Radosavljevic et al., 2022; Liu et al., 2022), serta interaksi sel tumor dengan matriks ekstraseluler (Baghban et al., 2020). Oleh karena itu, VEGF-C menjadi target potensial dalam pengembangan terapi antikanker, terutama dalam upaya menekan metastasis limfatik dan memperbaiki respons terhadap terapi kanker payudara stadium lanjut. Pengetahuan mengenai mekanisme regulasi VEGF dan reseptor-reseptornya sangat penting dalam menentukan strategi terapeutik yang efektif untuk menghambat progresi tumor.

Bukti eksperimental dan klinis menunjukkan ekspresi VEGF-C berhubungan dengan peningkatan metastasis KGB. Studi klinis terbaru menemukan kadar VEGF-C, baik pada jaringan maupun serum, berkorelasi dengan keterlibatan nodus aksila dan outcome klinis yang lebih buruk (Banerjee et al., 2023; Albuquerque et al., 2023). Namun demikian, hasil penelitian yang ada masih bervariasi. Beberapa peneliti menunjukkan hubungan yang konsisten antara ekspresi VEGF-C dengan metastasis

nodal, sementara studi lain melaporkan temuan yang tidak sejalan, kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan metode pengukuran, heterogenitas pasien, dan variasi cutoff (Kola, 2024). Meski demikian, secara biologis, kanker payudara dipandang sebagai angiogenic dan lymphangiogenic-dependent tumor sehingga pengukuran VEGF-C, khususnya dalam serum, dinilai berpotensi sebagai biomarker prediktif metastasis nodal yang non-invasif (Nathanson et al., 2021).

Dalam penelitian ini, kami memilih untuk meneliti kadar VEGF-C dan hubungannya dengan metastasis nodal pada kanker payudara dengan pertimbangan:

1. Kasus metastasis nodal KPD di Makassar cukup banyak.
2. Teknik pemeriksaan *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) bisa dilakukan di laboratorium HUMRC FK Universitas Hasanuddin.
3. Penelitian ini belum pernah dilakukan di kota Makassar, sehingga dapat dilakukan sebagai database heterogenitas kanker payudara khususnya di kota makassar.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Apakah kadar VEGF-C serum berhubungan dengan kejadian pembesaran kelenjar getah bening regional pada kanker payudara?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan Umum:

Menilai hubungan kadar VEGF-C serum dengan kejadian metastasis pada kanker payudara serta mengevaluasi potensi VEGF-C sebagai biomarker diskriminatif

Tujuan Khusus:

1. Mengetahui kadar VEGF-C serum pada penderita kanker payudara

2. Mengetahui hubungan kadar VEGF-C serum dengan kejadian pembesaran kelenjar getah bening regional pada penderita kanker payudara

#### **1.4 Manfaat penelitian**

##### 1. Manfaat Akademik

- a. Menambah pengetahuan tentang kadar VEGF-C serum pada penderita kanker payudara.
- b. Menambah pengetahuan tentang hubungan kadar VEGF-C serum dengan kejadian pembesaran kelenjar getah bening regional penderita kanker payudara

##### 2. Manfaat Klinis

VEGF C dapat dijadikan pertimbangan sebagai biomarker prognosis penderita kanker payudara.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kanker Payudara**

Kanker payudara adalah penyakit di mana sel-sel payudara abnormal tumbuh di luar kendali dan membentuk tumor. Jika dibiarkan, tumor bisa menyebar ke seluruh tubuh dan berakibat fatal.(WHO, 2023) Payudara terdiri dari tiga bagian utama: lobulus, duktus, dan jaringan ikat. Lobulus adalah kelenjar yang menghasilkan susu. Duktus adalah saluran yang membawa susu ke puting. Jaringan ikat (yang terdiri dari jaringan fibrosa dan lemak) mengelilingi dan menyatukan semuanya.(WHO, 2023) Sel kanker payudara dimulai di dalam duktus dan/atau lobulus di payudara. Bentuk paling awal (in situ) tidak mengancam jiwa. Sel kanker dapat menyebar ke jaringan payudara terdekat (invasi). Hal ini menciptakan tumor yang menyebabkan benjolan atau penebalan.4 Kanker payudara dapat menyebar ke luar payudara melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening. Ketika kanker payudara menyebar ke bagian tubuh lain, kanker tersebut dikatakan telah bermetastasis (WHO, 2023).

Kanker payudara (KPD) merupakan masalah yang signifikan secara global (Indra et al., 2021; Pranoto et al., 2021). Kanker ini merupakan kanker yang paling sering didiagnosis pada wanita dengan perkiraan 2,1 juta kasus baru didiagnosis setiap tahunnya dan mewakili 24,2% dari seluruh diagnosis kanker di kalangan wanita. Pada tahun 2018, sekitar 6,8 juta wanita di seluruh dunia menderita kanker payudara (WHO, 2020). Baru-baru ini, Global Cancer Data 2020 oleh IARC (*International Agency for Research on Cancer*) melaporkan kejadian dan prevalensi kanker payudara terburuk di 185 negara. Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering didiagnosis dengan total 2,3 juta kasus baru (11,7%) kanker payudara (WHO, 2023). Diperkirakan jumlah kasus baru dan kematian akibat kanker payudara di AS masing-masing adalah 0,28 juta

dan 0,04 juta. Satu dari 4 wanita menderita kanker payudara, dan satu dari 8 wanita meninggal karena penyakit kanker payudara. Menurut American Cancer Society, beban kanker global akan menjadi 28,4 juta kasus pada tahun 2040, yang berarti peningkatan 47% dibandingkan beban kanker pada tahun 2020 (CDC, n.d.; WHO, 2020). Wanita pada usia lanjut memiliki insiden kanker payudara yang tinggi. Pada tahun 2018, 645.000 vs. 1,4 juta kasus kanker payudara dan 130.000 vs. 490.000 kematian dilaporkan masing-masing pada kelompok pramenopause dan pascamenopause.(WHO, 2023)

Di Indonesia, insidensi kanker payudara di Indonesia sebanyak 16,7 % dan merupakan penyebab utama kematian sebesar 11%.(Prihantono & Faruk, 2022) Dan menurut WHO, Indonesia yang tergolong negara berpendapatan rendah dan menengah, kanker payudara merupakan kanker terbanyak dengan prevalensi 201.143 jiwa dan angka kematian sebesar 9,6% pada tahun 2020.(WHO, 2023) Di Provinsi Sulawesi Selatan, prevalensi kanker payudara tahun 2018 sebanyak (2,4%) dimana prevalensi umur 5-14 tahun (0,1%) dan kelompok umur 15-24 tahun (0,8%) (CDC, n.d.; WHO, 2020)

Etiologi pasti belum diketahui, beberapa faktor resiko yang dihubungkan dengan terjadinya kanker payudara adalah jenis kelamin, dimana jenis kelamin wanita dibanding dengan laki-laki berkisar antara 100:1, sedangkan faktor umur merupakan faktor resiko yang sangat penting dan diperkirakan 1 diantara 5.900 wanita pada kelompok umur 30 tahun dan 1 diantara 290 wanita pada kelompok umur 80 tahun. Dengan adanya riwayat keluarga yang menderita kanker payudara terutama saudara kandung baik itu tumor bersifat unilateral maupun bilateral dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker payudara. Mutasi genetik yang terjadi pada setiap individu merupakan faktor predisposisi terjadinya 5-10% familial kanker payudara seperti mutasi gen BRCA-1 dan BRCA-2.

Faktor resiko utama terjadinya pertumbuhan kanker payudara adalah faktor hormonal dan genetik. Faktor ini dapat digolongkan menjadi 2 bagian yaitu sporadik (kemungkinan berhubungan dengan hormon) dan herediter (mutasi gen) (WHO, 2023).

a. Kanker Payudara Herediter

Kerentanan satu atau beberapa gen merupakan penyebab utama dari 12% kanker payudara. Probabilitas penyebab herediter meningkat terutama jika keluarga dekat (tingkat pertama) mengidap kanker payudara maupun kanker lainnya.

Mutasi gen BRCA-1 dan BRCA-2 merupakan penyebab tersering kanker payudara herediter. Penderita carier BRCA-1 dan BRCA-2 juga rentan terhadap kanker epitelial lain seperti prostat dan pankreas. BRCA-1 dan BRCA-2 merupakan gen dengan ukuran panjang lebih dari 80 kilobasa. Kanker payudara terkait BRCA-1 umumnya poorly differentiated, mempunyai gambaran medullary dan tidak mengekspresikan hormon reseptor maupun Her2/neu sehingga disebut triple negative phenotype dan kanker payudara terkait BRCA-2 juga cenderung poorly differentiated namun sering positif terhadap estrogen reseptor (ER). (Francies et al., 2020; Sung et al., 2021)

b. Kanker Payudara Sporadik

Faktor resiko utama untuk jenis ini adalah berhubungan erat dengan faktor hormonal seperti jenis kelamin, usia saat menarkhe dan menopause, riwayat reproduksi dan menyusui serta pemakaian estrogen eksogen. Kanker ini sering terjadi pada wanita post menopause dan estrogen reseptor positif. Sekali sel premaligna dan malignan muncul, hormon dapat menstimulasi untuk dapat terus tumbuh. (CDC, n.d.; Sung et al., 2021)

Secara sederhana kanker dapat terjadi bila ada perubahan proto onkogen menjadi onkogen dan perubahan pada tumor supresor gen. Ekspresi proto onkogen dalam keadaan normal diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel normal. Aktivitas ini dikontrol oleh tumor supresor gen. Aktivasi proto onkogen menjadi onkogen dapat terjadi

melalui perubahan struktural dalam gen, translokasi kromosom, amplifikasi gen atau mutasi beberapa elemen yang dalam keadaan normal berfungsi mengontrol ekspresi gen bersangkutan. Bila terjadi mutasi proto onkogen, merangsang ekspresi tumor supresor gen/anti onkogen menginduksi terhentinya siklus sel atau menginduksi terjadinya apoptosis. Apabila fungsi tumor supresor gen yang berfungsi sebagai surveillance terganggu akibat mutasi atau delesi/hilang, maka sel tersebut rentan untuk menjadi ganas.(Łukasiewicz et al., 2021)

Dengan demikian, apapun penyebabnya sudah diterima secara luas bahwa perkembangan kanker secara umum terjadi melalui beberapa tahap (multistep) yaitu inisiasi, promosi dan progresi. Walaupun ada beberapa modifikasi sesuai dengan jenis karsinogen ditingkat molekuler, efek biokimia dari berbagai jenis karsinogen adalah sama, yaitu pada umumnya menyebabkan perubahan proto-onkogen menjadi onkogen melalui aktivasi onkogen (activating mutation) atau inaktivasi gen supresor (inactivating mutation).(Łukasiewicz et al., 2021)

## 2.2 Klasifikasi

### a. Klasifikasi Histologis

Kanker payudara invasif (IBC) terdiri dari tumor berspektrum luas yang menunjukkan variasi dalam gambaran klinis, perilaku, dan morfologinya. *World Health Organization (WHO)* membedakan setidaknya 18 jenis kanker payudara histologis yang berbeda.(Feng et al., 2018)

Kanker payudara invasif tanpa tipe khusus, yang sebelumnya dikenal sebagai karsinoma duktal invasif adalah subkelompok yang paling sering terjadi (40-80%). Tipe ini didiagnosis secara default sebagai tumor yang gagal diklasifikasikan ke dalam salah satu tipe khusus histologis. Sekitar 25% kanker payudara invasif menunjukkan pola pertumbuhan dan gambaran sitologi yang berbeda. Oleh karena itu, kanker tersebut dikenali sebagai subtype spesifik (misalnya, karsinoma lobular invasif, tubular, musinous A, musinous B, neuroendocrine).(Feng et al., 2018)

Klasifikasi molekuler terlepas dari subtipe histologisnya, kanker payudara invasif dapat dibagi menjadi subtipe molekuler berdasarkan tingkat ekspresi gen mRNA. Pada tahun 2000, Perou dkk. pada sampel 38 kanker payudara mengidentifikasi 4 subtipe molekuler dari data ekspresi gen microarray: Luminal, *HER2-enriched*, *Basal-like*, dan *Normal breast-like*. Penelitian lebih lanjut memungkinkan untuk membagi kelompok Luminal menjadi dua subkelompok (Luminal A dan B). Subtipe *normal breast-like* kemudian dihilangkan, karena dianggap mewakili kontaminasi sampel oleh kelenjar susu normal. Dalam *the Cancer Genome Atlas Project* (TCGA) lebih dari 300 tumor primer diprofilkan secara menyeluruh (pada tingkat DNA, RNA, dan protein) dan digabungkan dalam kelompok tumor biologis yang homogen. Pengelompokan konsensus mengkonfirmasi perbedaan empat subtipe intrinsik kanker payudara utama berdasarkan tingkat ekspresi gen mRNA saja (Luminal A, Luminal B, *HER2-enriched*, dan *basal-like*). Selain itu, subtipe intrinsik ke-5 kanker payudara rendah claudin ditemukan pada tahun 2007 dalam analisis terpadu tumor payudara manusia dan murine. (Feng et al., 2018)

#### b. Kanker Payudara Luminal

Kanker payudara luminal adalah tumor ER-positif yang mencakup hampir 70% dari seluruh kasus kanker payudara di populasi Barat. Umumnya kanker mirip luminal muncul sebagai IBC tanpa subtipe khusus, namun jarang berdiferensiasi menjadi karsinoma mikropapiler invasif lobular, tubular, kribiform invasif, mucinous, dan invasif. Dua proses biologis utama: jalur terkait proliferasi dan jalur yang diatur luminal membedakan tumor mirip Luminal menjadi subtipe Luminal A dan B dengan hasil klinis berbeda. (Feng et al., 2018)

Tumor luminal A ditandai dengan adanya reseptor estrogen (ER) dan/atau reseptor progesteron (PR) dan tidak adanya HER2. Pada subtipe ini faktor transkripsi ER mengaktifkan gen, ekspresi yang merupakan karakteristik epitel luminal yang melapisi saluran susu. Hal ini juga menunjukkan rendahnya ekspresi gen yang berhubungan dengan

proliferasi sel. Secara klinis penyakit ini derajatnya rendah, pertumbuhannya lambat, dan cenderung mempunyai prognosis yang terbaik.(Feng et al., 2018)

Berbeda dengan subtipe A, tumor Luminal B memiliki derajat lebih tinggi dan prognosis lebih buruk. Mereka ER positif dan mungkin PR negatif dan/atau HER2 positif. Selain itu, ia memiliki ekspresi gen terkait proliferasi yang tinggi (misalnya MKI67 dan AURKA). Subtipe ini memiliki ekspresi gen atau protein yang lebih rendah yang khas untuk epitel luminal seperti PR dan FOXA1, tetapi tidak pada ER. ER diekspresikan dengan cara yang sama pada subtipe A dan B dan digunakan untuk membedakan penyakit luminal dan non-luminal.(Feng et al., 2018)

c. Kanker Payudara HER2

Kelompok yang HER2 menyumbang 10-15% kasus kanker payudara. Hal ini ditandai dengan tingginya ekspresi HER2 dengan tidak adanya ER dan PR. Subtipe ini terutama mengekspresikan gen dan protein yang berhubungan dengan proliferasi (misalnya, ERBB2/HER2 dan GRB7), daripada kelompok gen dan protein luminal dan basal. Selain itu, pada subtipe yang HER2 terdapat bukti mutagenesis yang dimediasi oleh APOBEC3B. APOBEC3B adalah subkelas dari APOBEC cytidine deaminase, yang menginduksi bias mutasi sitosin dan merupakan sumber cluster mutasi.(Feng et al., 2018)

Kanker yang HER2 tumbuh lebih cepat dibandingkan kanker luminal dan biasanya memiliki prognosis subtipe terburuk sebelum diperkenalkannya terapi bertarget HER2. Yang penting, subtipe HER2 tidak sama dengan kanker payudara positif HER2 secara klinis karena banyak tumor ER-positif/positif HER2 memenuhi syarat untuk kelompok luminal B. Selain itu, sekitar 30% tumor yang HER2- Enriched diklasifikasikan sebagai HER2-negatif secara klinis berdasarkan metode immunohistochemistry (IHC) dan/atau fluorescence in situ hybridization (FISH).(Feng et al., 2018)

d. Kanker Payudara Basal-Like/Triple-Negatif

Kanker Payudara Triple-Negatif (TNBC) adalah kumpulan kanker payudara heterogen yang ditandai dengan ER-negatif, PR-negatif, dan HER2-negatif. Penyakit ini menyumbang sekitar 20% dari seluruh kanker payudara. TNBC lebih sering terjadi pada wanita berusia kurang dari 40 tahun dan wanita Afrika-Amerika. Mayoritas (kira-kira 80%) kanker payudara yang timbul akibat mutasi germline BRCA1 adalah TNBC, sementara 11-16% dari seluruh TNBC mengandung mutasi germline BRCA1 atau BRCA2. TNBC cenderung agresif secara biologis dan sering dikaitkan dengan prognosis yang lebih buruk. Histologi yang paling umum terlihat pada TNBC adalah karsinoma duktal infiltrasi, namun dapat juga muncul sebagai kanker mirip meduler dengan infiltrasi limfositik yang menonjol; kanker metaplastik, yang mungkin menunjukkan diferensiasi sel skuamosa atau gelendong; dan kanker tipe khusus yang langka seperti karsinoma kistik adenoid (AdCC). (Petrucci et al., 2022)

Istilah basal-like dan TNBC telah digunakan secara bergantian; Namun, tidak semua TNBC bertipe basal. Pada profil ekspresi gen, TNBC dapat dibagi lagi menjadi enam sub tipe: basal-like (BL1 dan BL2), mesenchymal (M), mesenchymal stem-like (MSL), immunomodulatory (IM), dan luminal androgen receptor (LAR), serta sebagai unspecified group (UNS). Namun, relevansi klinis dari sub tipe tersebut masih belum jelas, dan diperlukan lebih banyak penelitian untuk memperjelas dampaknya terhadap keputusan pengobatan TNBC. (Feng et al., 2018; Petrucci et al., 2022).

### **2.3 Derajat Histopatologi**

Derajat histopatologi adalah salah satu faktor prognostik yang paling umum dari KPD. Derajat histopatologi menggambarkan potensi agresif tumor, dan merupakan skor gabungan berdasarkan evaluasi mikroskopis dari pembentukan tubulus, jumlah mitosis, dan pleomorfisme inti. Tumor grade 3 adalah derajat yang paling agresif (sangat proliferasif) dan berdiferensiasi buruk. Tumor grade 2 berdiferensiasi sedang, dan tumor

grade 1 adalah yang paling tidak agresif (bertumbuh lambat) dan berdiferensiasi baik.(Rosen et al., 2008)

Kanker payudara dinilai berdasarkan bagian infiltrasi karsinoma duktal invasif. Pembentukan tubulus: pada bagian tumor, skor 1 berarti lebih dari 75% sel dalam pembentukan tubulus (lebih baik), skor 3 digunakan ketika kurang dari 10% sel dalam pembentukan tubulus (lebih buruk), skor 2 berada di antara 10% dan 75%. Pleomorfisme inti: skor diberikan dari 1 hingga 3 berdasarkan ukuran, bentuk, dan kromoplasma dari inti sel tumor, dengan 1 yang paling dekat dengan sel normal (lebih baik), 3 paling banyak variasinya (lebih buruk), dan 2 di di antara. Hitungan mitosis: skor 1 berarti 0-5 per 10 high power fields (HPF); skor 2 berarti 6-10 per 10 HPF; dan skor 3 berarti >11 per 10 HPF. Ketiga skor tersebut kemudian digabungkan menjadi skor total antara 3 (1+1+1) dan 9 (3+3+3). Skor ini diterjemahkan menjadi tingkat histologis: Skor 3-5: Tingkat 1 (atau berdiferensiasi baik); skor 6 atau 7: grade 2 (berdiferensiasi sedang); dan skor 8 atau 9: kelas 3 (berdiferensiasi buruk) (Lester, 2010).

## 2.4 Stadium Klinis

Sebagai dasar untuk memperkirakan kemungkinan prognosis pasien kanker payudara adalah sistem penentuan stadium AJCC yang mencakup penilaian, biomarker imunohistokimia, dan kemajuan anatomi penyakit. Sejak didirikan pada tahun 1977, American Joint Committee on Cancer (AJCC) telah menerbitkan sistem penentuan stadium yang diterima secara internasional berdasarkan temuan anatomi: ukuran tumor (T), status kelenjar getah bening (N), dan metastasis (M). Namun, profil ekspresi gen telah mengidentifikasi beberapa subtipe molekuler kanker payudara. Edisi kedelapan dari panduan penentuan stadium AJCC, menguraikan sistem penentuan stadium prognostik baru untuk kanker payudara yang, selain ciri anatomis, juga memperhitungkan faktor biologis. Faktor-faktor ini—uji ER, PR, HER2, grade, dan multigene—direkomendasikan dalam praktiknya untuk menentukan prognosis.(Petrucci et al., 2022)

Sistem penilaian histologis kanker payudara yang paling banyak digunakan adalah modifikasi Elston-Ellis dari sistem penilaian Scarff-Bloom-Richardson, juga dikenal sebagai sistem penilaian Nottingham. Tingkat tumor ditentukan dengan menilai ciri-ciri morfologi: (a) pembentukan tubulus, (b) jumlah mitosis, (c) variabilitas, serta ukuran dan bentuk inti sel. Skor antara 1 (paling disukai) dan 3 (paling tidak disukai) diberikan untuk setiap fitur. Kelas 1 setara dengan skor gabungan antara 3 dan 5, kelas 2 setara dengan skor gabungan 6 atau 7, dan kelas 3 setara dengan skor gabungan 8 atau 9.(Petrucci et al., 2022)

Selain penilaian dan biomarker, pengujian multigene yang tersedia secara komersial memberikan informasi prognostik tambahan yang cocok untuk dimasukkan dalam AJCC edisi ke-8. Uji 21 gen Oncotype DX® yang dinilai dengan reaksi berantai transkripsi-polimerase terbalik (RT-PCR) adalah satu-satunya uji yang cukup dievaluasi dan dimasukkan dalam sistem penentuan stadium. Uji ini berguna untuk menentukan stadium pasien dengan tumor reseptor hormon positif, negatif HER2, dan tumor nodus negatif yang berukuran <5 cm. Pasien dengan hasil pengujian (Recurrence Score) kurang dari 11 memiliki kelangsungan hidup bebas penyakit yang sangat baik pada 6,9 tahun sebesar 98,6% dengan terapi endokrin saja. Oleh karena itu, kemoterapi sistemik adjuvan dapat dihilangkan dengan aman pada pasien dengan uji multigene risiko rendah.(Petrucci et al., 2022)

Panduan penentuan stadium AJCC mencakup kelompok tahap patologis dan klinis. Kelompok tahap prognosis klinis harus digunakan pada semua pasien pada evaluasi awal sebelum terapi sistemik apa pun. Penentuan stadium klinis menggunakan informasi anatomi TNM, penilaian, dan ekspresi ketiga biomarker ini. Ketika pasien menjalani reseksi bedah pada tumor primernya, informasi anatomi pasca reseksi ditambah dengan temuan biomarker sebelum pengobatan akan menghasilkan Kelompok Tahap Prognostik Patologis akhir.(Kresno, 2011; WHO, 2023)

Stadium kanker payudara ditentukan berdasarkan Sistem Klasifikasi TNM (Tumor, Node, Metastasis) American Joint Committee on Cancer (AJCC) untuk Kanker Payudara. Sistem Klasifikasi TNM dinilai baik secara klinis sebelum dilakukan tindakan, juga setelah tindakan dan dilakukan pemeriksaan histopatologi. Pada kanker payudara, penilaian TNM oleh *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* edisi ke 8 untuk Kanker Payudara (Zhu & Doğan, 2021). Setelah masing-masing faktor TNM didapatkan, ketiga faktor tersebut kemudian digabungkan dan didapatkan stadium kanker payudara menurut AJCC edisi ke 8 (Tabel 2) (Zhu & Doğan, 2021).

Sistem staging secara TNM (Tumor, Node dan Metastasis) menurut AJCC digunakan untuk menetapkan status dari tumor primer, kelenjar limfe dan ada tidaknya metastase jauh. Secara umum dibagi empat stadium pada pasien kanker payudara dan dapat digunakan sebagai kesatuan dari outcomenya. Stadium I kanker payudara mempunyai disease-free survivalnya sekitar 80% saat ini. Stadium II merupakan grup yang heterogen, tetapi bernilai 50%-60% pada saat ini. Stadium III kanker payudara juga heterogen tetapi memiliki free survivalnya saat ini sekitar 30%-40%. Terakhir, hampir semua pasien dengan metastasis akan meninggal dengan kelainan ini, mayoritas wanita dengan stadium IV akan meninggal dalam 2 tahun pengamatan.

KPD stadium lokal lanjut merupakan tumor payudara besar (diameter lebih dari 5 sentimeter). Kanker yang melibatkan kulit payudara atau otot di bawah dada. Kanker yang melibatkan beberapa kelenjar getah bening lokal (yang terletak di ketiak atau jaringan lunak di atas dan di bawah tulang selangka). Kanker payudara inflamasi, jenis kanker yang berkembang pesat yang membuat payudara tampak merah dan bengkak (karenanya disebut inflamasi) Meskipun kemungkinan penyembuhan KPD stadium lokal lanjut lebih rendah daripada jika kankernya kecil dan terbatas pada payudara, penyembuhan dimungkinkan dengan pengobatan agresif (Masood, 1995).

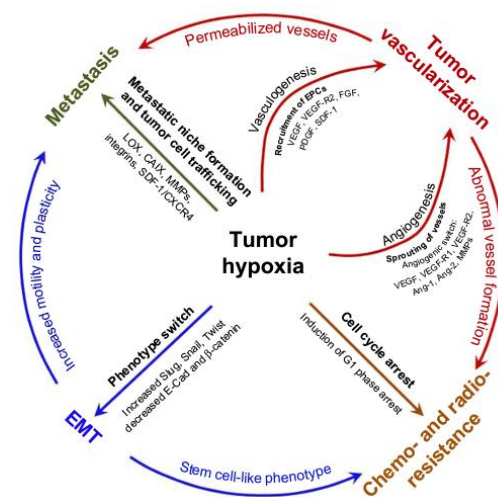
## 2.5 Angiogenesis

Proses angiogenesis terjadi dalam tubuh untuk memperbaiki luka atau memperbaiki sirkulasi darah dalam jaringan setelah kerusakan jaringan atau trauma. Proses ini dikendalikan oleh *switch on/off* yang diperankan oleh faktor yang meningkatkan angiogenesis (*pro-angiogenic/angiogenic growth factors*) dan menghambat angiogenesis (*anti-angiogenic/angiogenic inhibitors*) secara berimbang sesuai yang dibutuhkan.

Sudah diterima secara luas bahwa kemampuan tumor untuk menginduksi pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) pada penjamu sangat berpengaruh pada pertumbuhan tumor dan metastasis. Aktivitas angiogenesis mengakibatkan ekspansi pertumbuhan tumor dan meningkatkan resiko metastase. Sebaliknya tumor primer yang tidak memiliki kemampuan angiogenesis kecil kemungkinannya untuk berkembang menjadi tumor besar yang dapat dideteksi secara klinis karena besarnya akan terbatas hanya beberapa juta sel saja dengan volume samapai 2 mm<sup>3</sup>. Pertumbuhan tumor primer maupun sekunder akan berlangsung baik bila tumor mendapat cukup suplay darah melalui vaskularisasi untuk keperluan metabolisme dan proliferasi. Kemampuan angiogenesis menentukan tingkat keganasan tumor, karena itu analisis kemampuan angiogenesis tumor dapat berperan dalam menentukan prognosis dan penatalaksanaan penderita kanker.

Baik angiogenesis fisiologik maupun angiogenesis tumor diregulasi oleh faktor-faktor pertumbuhan host di lingkungan tumor, yang beberapa diantaranya, seperti VEGF, adalah sangat spesifik untuk sel endotel, dan yang lainnya seperti *basic fibroblast growth factor (bFGF)* dan *matrix metalloproteinases (MMPs)*, mempunyai kerja yang lebih luas. Faktor aktivasi dapat dihasilkan oleh tumor itu sendiri, oleh jaringan sekitar tumor, atau oleh makrofag dan fibroblast yang menginfiltrasi tumor. Pada umumnya material aktivasi bekerja melalui reseptor permukaan sel

endotel, dimana material aktifasi ini berperan sebagai ligan, yang utamanya menyebabkan sekresi faktor angiogenik lainnya. Selain itu, hipoksia, hipoglikemia, dan stres mekanik dapat menstimulir pelepasan faktor angiogenik (Muz et al., 2015).



Gambar 1. Peranan hipoksia pada angiogenesis tumor.(Muz et al., 2015)

Selama pembentukan tumor terjadi gangguan keseimbangan antara produksi faktor pro dan anti angiogenik (Tabel 3), dikenal dengan istilah *angiogenic switch*, yang memungkinkan berlangsungnya proliferasi dan pertumbuhan sel tumor. Banyak faktor yang memberi kontribusi dalam perubahan keseimbangan itu, diantaranya adalah faktor pertumbuhan yang diproduksi oleh tumor sendiri, perubahan lingkungan mikro (*microenvironment*), rekrutmen progenitor sel endotel dari sumsum tulang dan penekanan inhibitor angiogenesis alami (Gambar 1) (Muz et al., 2015; Skoog et al., 2017).

Tabel 3. Regulator angiogenesis

(Frisca & Sandra, 2009; Muz et al., 2015; Skoog et al., 2017)

Pro-angiogenik	Anti angiogenik
Ang-1	Ang-2

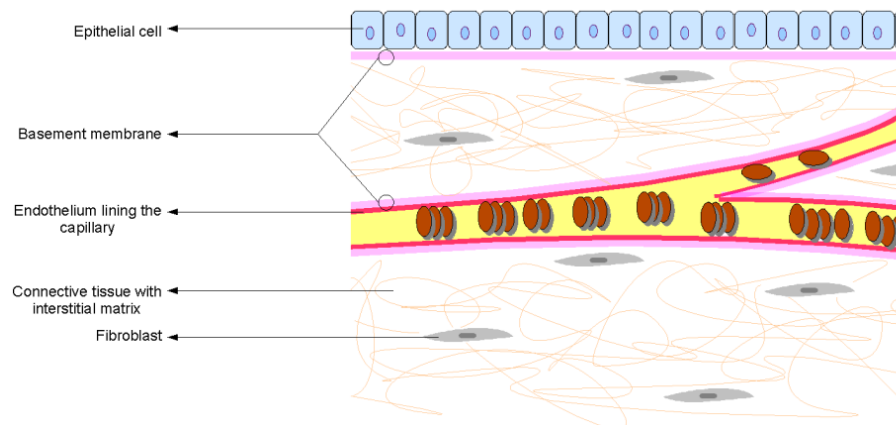
a-FGF dan b-FGF	Angiostatin
<i>Platelet Derived Growth Factor (PDGF)</i>	Endostatin
TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$	Interferon (IF)- $\alpha/\beta$
VEGF	Interleukin-4, 12, 18
<i>Hepatocyte growth factor (HGF)</i>	Vasostatin
<i>Epidermal Growth Factor (EGF)</i>	
<i>Insulin Growth Factor (IGF)</i>	

## 1. Proses Angiogenesis

Tahapan-tahapan angiogenesis dapat dijelaskan sebagai berikut:

### A. Pelepasan factor stimulus angiogenik

Kumpulan sel pada jaringan yang mengalami kerusakan (luka) atau mengalami hipoksia, akan melepaskan faktor angiogenik (berupa faktor pertumbuhan dan protein rantai pendek lainnya) yang dapat berdifusi ke sel-sel pada jaringan sekitarnya. Menyusul proses tersebut, terjadi pula proses inflamasi. Pada proses inflamasi, pembuluh darah kecil yang terdapat secara lokal memegang peranan penting dalam proses yang terjadi selanjutnya karena pembuluh darah merupakan suatu jaringan yang dilapisi oleh sel endotel, yang akan berinteraksi dengan faktor peradangan dan angiogenik. Faktor-faktor angiogenik ini dapat menarik dan mendorong proliferasi sel endotel dan sel radang. Menjelang proses migrasi, sel-sel radang juga mensekresi molekul-molekul yang juga berperan sebagai stimulus angiogenik. (Frisca & Sandra, 2009)

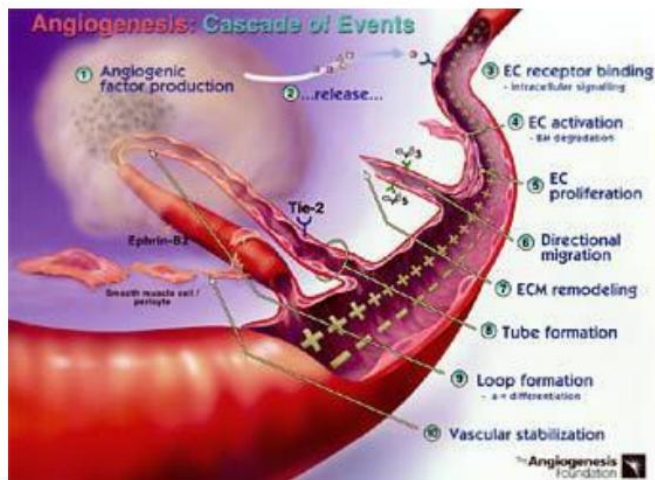


Gambar 2. Struktur Matriks Ekstraseluler

Membrana basalis dan matriks interstitialis merupakan bagian dari matriks ekstraseluler (Gambar 2). Terlihat adanya ikatan antar sel epitel dan endotel, yang melapisi pembuluh darah, pada ECM (Frisca & Sandra, 2009)

B. Pelepasan enzim protease dari sel endotel yang teraktivasi

Faktor angiogenik berupa faktor pertumbuhan kemudian berikatan dengan reseptor yang spesifik terdapat pada reseptor sel endotel (EC) di sekitar lokasi pembuluh darah lama. Ketika faktor angiogenik berikatan dengan reseptornya, sel endotel akan teraktivasi dan menghasilkan sinyal yang kemudian dikirim dari permukaan sel ke nukleus. Organel- organel sel endotel kemudian mulai memproduksi molekul baru antara lain adalah enzim protease yang berperan penting dalam degradasi matriks ekstraseluler untuk mengakomodasi percabangan pembuluh darah (Gambar 3) (Frisca & Sandra, 2009)



Gambar 3. Tahap-tahap Proses Angiogenesis(Francies et al., 2020)

Proses ini melibatkan aktivasi sel endotel (EC) oleh faktor angiogenik, proliferasi EC, degradasi membran basal (ECM), pembentukan struktur tabung pembuluh darah, dan stabilisasinya

- C. Disosiasi sel endotel dan degradasi ECM yang melapisi pembuluh darah lama.

Disosiasi sel endotel dari sel-sel di sekitarnya, yang distimulasi oleh faktor pertumbuhan angiopoietin, serta aktivitas enzim-enzim yang dihasilkan oleh sel endotel yang teraktivasi, seperti urokinase-plasminogen activator (uPA) dan matrix metalloproteinases (MMPs), dibutuhkan untuk menginisiasi terbentuknya pembuluh darah baru. Dengan sistem enzimatik tersebut, sel endotel dari pembuluh darah lama akan mendegradasi ECM dan menginvasi stroma dari jaringan-jaringan di sekitarnya sehingga sel-sel endotel yang terlepas dari ECM ini akan sangat responsif terhadap signal angiogenik.

- D. Migrasi dan proliferasi sel endotel

Degradasi proteolitik dari ECM segera diikuti dengan migrasinya sel endotel ke matriks yang terdegradasi. Proses tersebut kemudian diikuti dengan proliferasi sel endotel yang distimulasi oleh faktor angiogenik, yang

beberapa di antaranya dilepaskan dari hasil degradasi ECM, seperti fragmen peptide, fibrin, atau asam hialuronik.

E. Pembentukan lumen dan pembuatan ECM baru

Sel endotel yang bermigrasi tersebut kemudian mengalami elongasi dan saling menyejajarkan diri dengan sel endotel lain untuk membuat struktur percabangan pembuluh darah yang kuat. Proliferasi sel endotel meningkat sepanjang percabangan vaskular. Lumen kemudian terbentuk dengan pembengkokan (pelengkungan) dari sel-sel endotel. Pada tahap ini kontak antar sel endotel mutlak dibutuhkan.

F. Fusi pembuluh darah baru dan inisiasi aliran darah

Struktur pembuluh darah yang terhubung satu sama lain akan membentuk rangkaian atau jalinan pembuluh darah untuk memediasi terjadinya sirkulasi darah. Pada tahap akhir, pembentukan struktur pembuluh darah baru akan distabilkan oleh sel mural (sel otot polos dan pericytes) sebagai jaringan penyangga dari pembuluh darah yang baru terbentuk. Tanpa adanya sel mural, struktur dan jaringan antar pembuluh darah sangat rentan dan mudah rusak.(Frisca & Sandra, 2009; Skoog et al., 2017)

## 2. Faktor Pencetus Angiogenesis

### a. Hipoksia

Faktor utama penyebab angiogenesis adalah hipoksia. Hipoksia meningkatkan ekspresi VEGF melalui peningkatan transkripsi dan stabilisasi mRNA. Tekanan oksigen yang rendah menstimulus *Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$* (HIF-1 $\alpha$ ) dan memicu sekresi faktor proangiogenik, utamanya *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang menstimulasi pembentukan pembuluh darah baru untuk mensuplai kebutuhan. Dalam kondisi hipoksia HIF-1 $\alpha$  akan berdimerisasi dengan HIF-1 $\beta$  dan kompleks ini bertranslokasi ke nukleus dan berikatan dengan promotor VEGF. Jika tekanan oksigen dipulihkan, produksi faktor proangiogenik dihambat, pembuluh darah matur bertahan dan berbagai regresi pembuluh darah immatur terjadi.(CDC, n.d.; B.-N. Zhang et al., 2012).

b. Peran onkogen dan tumor supresor gen

Hipoksia menstimulus ekspresi VEGF dengan pola yang sama seperti produksi eritropoetin distimulai oleh tekanan oksigen rendah. Regulasi dari ekspresi VEGF melalui tekanan oksigen melibatkan supresor tumor yaitu protein von Hippel Lindau (vHL) yang menekan ekspresi VEGF melalui degradasi cepat dan transkripsi HIF1 $\alpha$  dibawah kondisi normal. Sebaliknya saat hipoksia HIF-1 $\alpha$  menjadi stabil dan menuju nukleus kemudian berikatan dengan HIF-1 $\beta$ . Kompleks ini kemudian terkait pada sekuens gen VEGF yang disebut Hypoxia respons element (HRE) yang menstimulasi transkripsi gen VEGF dan menimbulkan ekspresi VEGF. Gen supresor p53 berperan dalam angiogenesis tumor dengan menekan transkripsi VEGF melalui trombospondin. Mutasi p53 berakibat trombospondin tidak bekerja sebagai inhibitor angiogenik.(CDC, n.d.; B.-N. Zhang et al., 2012)

Banyak onkogen mempunyai implikasi pada proses angiogenesis tumor solid, karena kemampuannya menginduksi faktor pertumbuhan angiogenik seperti VEGF. Proto onkogen c-src mengkode protein tyrosine kinase yang terlibat dalam regulasi ekspresi VEGF dan dalam membuat neovaskularisasi tumor yang sedang tumbuh. Onkogen BCR-ABL telah diidentifikasi mempunyai peran kunci dalam patogenesis molekular leukemia yang diketahui sebagai keganasan yang tergantung pada angiogenesis. Ekspresi onkogen Ras mutan merupakan salah satu perubahan genetik yang paling banyak dideteksi dan menginduksi ekspresi VEGF oleh onkogen H atau K-ras mutan yang telah dilaporkan pada berbagai macam sel kanker seperti kanker pankreas, kanker kolon dan kanker paru non small cell (B.-N. Zhang et al., 2012).

c. Sitokin dan mediator lain

Sejumlah faktor pertumbuhan, sitokin dan mediator lipid dapat meningkatkan ekspresi VEGF, termasuk epidermal growth factor, transforming growth factor (TGF $\alpha$  dan TGF $\beta$ ), FGF-2, Keratinocyte growth factor, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, Insulin like growth factor 1, hepatocyte growth

factor, prostaglandin E1 dan E2.(KPKN-Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2015)

d. Hormon

VEGF diekspresikan oleh berbagai sel yang memproduksi hormon steroid (korteks adrenal, korpus luteum, sel leydig) dan sel yang dipengaruhi oleh hormon regulasi (ovarium dan uterus). Ekspresi VEGF berkorelasi dengan pasien karsinoma payudara dengan estrogen reseptor positif (Naoum et al., 2020; Ziemer et al., 2001).

Ekspresi VEGF pada berbagai keganasan telah dihubungkan dengan prognostik yang jelek pada beberapa tumor seperti karsinoma payudara, ginjal, kolon, otak, ovarium, cervix, tiroid, prostat dan juga tulang. Namun data lain mengenai karsinoma hepatoselluler, menunjukkan tidak ada hubungan signifikan antara ekspresi VEGF dengan derajat differensiasi karsinoma hepatoselluler.

Bahwa kadar VEGF memicu sel bermitosis pada sel otot jantung dan adanya peningkatan formasi tubular sel endotel. Hal ini memungkinkan untuk dijadikan dasar adanya hubungan antara mitosis dan perubahan formasi tubuler pada karsinoma payudara (Muz et al., 2015; Okano t al., 2006).

## 2.6 Limfangiogenesis

Limfangiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh limfatik baru yang memainkan peran penting dalam perkembangan dan penyebaran kanker, termasuk kanker payudara (Cao, 2005). Proses ini melibatkan proliferasi dan migrasi sel-sel endotel limfatik, yang diatur oleh berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin (Zhao et al., 2012). Salah satu faktor kunci dalam limfangiogenesis adalah VEGF-C, yang berinteraksi dengan reseptor VEGFR-3 pada sel-sel endotel limfatik untuk memicu pembentukan pembuluh limfatik baru (Kola et al., 2025).

Dalam konteks kanker payudara, limfangiogenesis berkontribusi signifikan terhadap metastasis limfatik, yang merupakan jalur utama penyebaran sel-sel kanker ke kelenjar getah bening regional dan organ-organ jauh (Skobe et al., 2001; Matsumoto et al., 2013; Eroğlu et al., 2017). Peningkatan densitas pembuluh limfatik intratumoral dan peritumoral telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk pada pasien kanker payudara (Zhang et al., 2017). Sel-sel tumor dapat memanfaatkan pembuluh limfatik baru ini sebagai rute untuk menyebar ke kelenjar getah bening sentinel dan selanjutnya ke organ-organ lain dalam tubuh (He et al., 2005).

VEGF-C, sebagai regulator utama limfangiogenesis, telah menjadi fokus penelitian dalam upaya memahami mekanisme metastasis kanker payudara (Jennbacken et al., 2005; Hoshida et al., 2006; Chen et al., 2019). Ekspresi VEGF-C yang meningkat dalam jaringan tumor telah dilaporkan berkorelasi dengan peningkatan metastasis limfatik dan penurunan tingkat kelangsungan hidup pada pasien kanker payudara (Nakamura et al., 2006). Selain itu, kadar VEGF-C dalam serum juga telah diusulkan sebagai biomarker potensial untuk memprediksi risiko metastasis dan hasil klinis pada pasien kanker payudara (Nakamura et al., 2006; Shivakumar et al., 2009). Pemahaman yang lebih baik tentang peran VEGF-C dalam limfangiogenesis dan metastasis kanker payudara dapat membuka jalan bagi pengembangan strategi terapeutik baru yang ditargetkan untuk menghambat penyebaran tumor melalui sistem limfatik.

Proses limfangiogenesis dapat diuraikan secara lebih detail sebagai berikut (Skobe et al., 2001; Jennbacken et al., 2005; Zhao et al., 2012; Matsumoto et al., 2013; Eroğlu et al., 2017; Kola et al., 2025):

1. Inisiasi:
  - Stimulus awal seperti hipoksia, inflamasi, atau faktor pertumbuhan tumor memicu pelepasan faktor pro-limfangiogenik.
  - VEGF-C dan VEGF-D dilepaskan oleh sel-sel tumor atau sel-sel stroma.
2. Aktivasi sel endotel limfatik:
  - VEGF-C/D berikatan dengan reseptor VEGFR-3 pada sel endotel limfatik.
  - Aktivasi VEGFR-3 memicu kaskade sinyal intraseluler.
  - Sel endotel limfatik teraktivasi mulai berproliferasi dan bermigrasi.
3. Degradasi matriks ekstraseluler:
  - Sel endotel limfatik teraktivasi mengeluarkan enzim proteolitik seperti matriks metalloproteinase (MMP).
  - Enzim ini mendegradasi matriks ekstraseluler di sekitarnya, membuat ruang untuk pembentukan pembuluh baru.
4. Sprouting dan elongasi:
  - Sel-sel endotel limfatik berproliferasi dan membentuk tunas (sprouts).
  - Tunas ini memanjang mengikuti gradien faktor pro-limfangiogenik.
  - Sel-sel tip memimpin arah pertumbuhan, diikuti oleh sel-sel stalk yang berproliferasi.
5. Lumenisasi:
  - Sel-sel endotel limfatik mengatur diri membentuk struktur tabung.
  - Lumen terbentuk di dalam struktur tabung ini.
6. Pematangan dan stabilisasi:
  - Pembuluh limfatik baru dilapisi oleh sel-sel otot polos dan matriks ekstraseluler.
  - Faktor seperti angiopoietin-2 dan ephrin-B2 berperan dalam stabilisasi pembuluh.
7. Anastomosis:

- Pembuluh limfatik baru terhubung dengan jaringan limfatik yang sudah ada.
- Pembentukan katup-katup untuk memastikan aliran limfa searah.

#### 8. Remodeling:

- Pembuluh limfatik baru terus mengalami remodeling sesuai kebutuhan jaringan.
- Proses ini dipengaruhi oleh faktor mekanis dan biokimia dari lingkungan sekitar.

Dalam konteks pada kanker:

- Sel-sel tumor dapat meningkatkan produksi VEGF-C/D, mempercepat limfangiogenesis.
- Pembuluh limfatik baru di sekitar tumor sering kali memiliki struktur yang abnormal dan lebih permeabel.
- Peningkatan densitas pembuluh limfatik intratumoral dan peritumoral memfasilitasi penyebaran sel kanker.

Pemahaman mendalam tentang setiap tahap ini dapat membantu pengembangan terapi yang ditargetkan untuk menghambat limfangiogenesis patologis dalam kanker.

## 2.7 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

*Vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah glikoprotein proangiogenik yang berfungsi meningkatkan proliferasi, migrasi, survival pada sel endotel serta meningkatkan permeabilitas kapiler. VEGF adalah faktor proangiogenesis yang memainkan peran penting dalam proses angiogenesis. (Melincovici et al., 2018) Enzim ini ditemukan banyak diekspresikan pada karsinoma payudara (Madu et al., 2020).

Sel tubuh memerlukan oksigen, yang digunakan sebagai energi menjalankan proses molekuler. Oksigen tersebut dikirimkan melalui darah, dan sebagian besar sel berada dalam rentang 10 milimeter dari pembuluh kapiler. Sel tumor juga tanpa pengecualian. Bila massa sel tumor telah

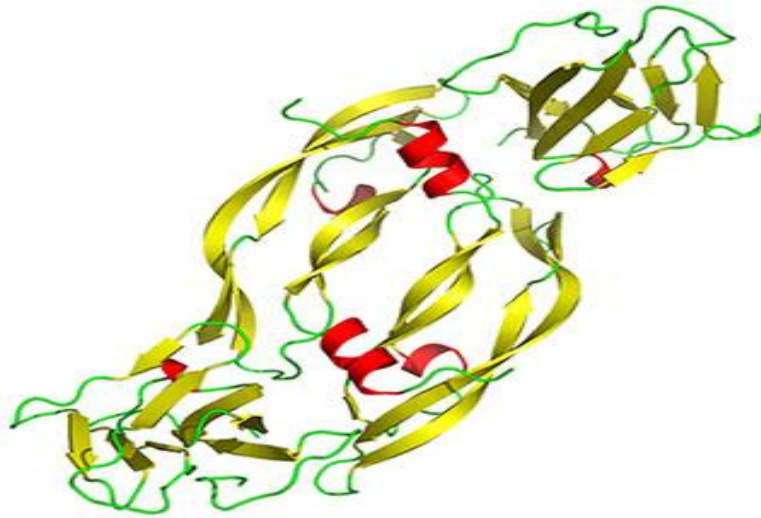
lebih besar dari 1 milimeter, hal tersebut menyebabkan sel kekurangan oksigen dan energi kecuali dibentuk pembuluh darah baru. *Vascular endothelial growth factor* atau VEGF adalah sinyal kunci yang digunakan oleh sel yang kekurangan oksigen (*oxygen-hungry cells*) untuk memicu pertumbuhan pembuluh darah (Skoog et al., 2017).

### 2.7.1 Biologi Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Perkembangan pembuluh darah adalah kebutuhan utama dalam perkembangan dan diferensiasi organ selama embriogenesis, demikian juga pada penyembuhan luka serta fungsi reproduksi pada manusia dewasa. Angiogenesis juga terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit seperti retinopati proliferatif, artritis rheumatoid, termasuk pertumbuhan tumor (Skoog et al., 2017).

### 2.7.2 Struktur VEGF dan Reseptor VEGF

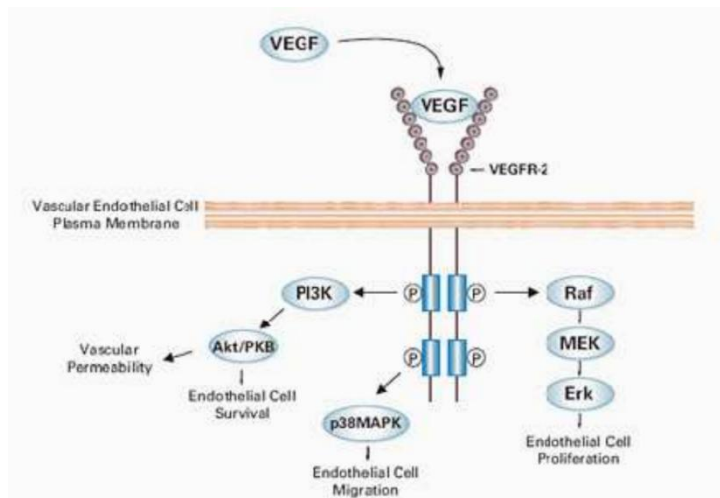
VEGF pertama kali dideskripsikan sebagai protein yang mampu merangsang permeabilitas vaskuler dan proliferasi sel endotel dan diidentifikasi sebagai perangsang utama angiogenesis dan vaskulogenesis. VEGF adalah sebuah basa, 34-46-kDa *homodimeric*, *heparin-binding glycoprotein* dan gen VEGF berada di kromosom 6p12 (Gambar 4). VEGF, yang juga disebut VEGF-A atau *vascular permeability factor* (VPF), termasuk kedalam keluarga *supergene VEGF-platelet-derived growth factor (PDGF)*. Anggota keluarga yang lain adalah VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan VEGF-E. Semua menunjukkan derajat yang bervariasi homolog dengan VEGF. *Splicing* alternatif gen VEGF menghasilkan empat asam amino isoform 121, 165, 189 dan 206 serta varian-varian lain yang lebih jarang. VEGF-165, adalah bentuk dominan dan sebagian terkait dan disekresi oleh matriks. VEGF meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel endotel lewat tiga reseptor tirosin kinase: VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (Flk-1 in mice, KDR in humans), VEGFR-3 (Flt-4).



Gambar 4. Molekul VEGF (Frisca and Sandra, 2009)

VEGF akan berinteraksi dengan reseptor FLK-1 atau KDR (VEGFR-2) sehingga menstimulasi proliferasi, migrasi, ketahanan, dan permeabilisasi sel endotel (Gambar 5). Sedangkan VEGFR-1 berfungsi sebagai inhibitor dari aksi VEGFR-2. Peranan VEGF terhadap sel endotel dapat dilihat pada gambar 6. VEGF-189 dan VEGF-206 merupakan dasar, dengan afinitas tinggi terhadap heparin dan tetap terkucil dalam matriks ekstra-selular, terikat pada proteoglikan-proteoglikan heparan sulfat. VEGF-121 bersifat asam, tidak mengikat heparin dan disekresikan. Bentuk matriks sekuester mungkin dilepaskan oleh kerja enzimatik, baik melalui kerja heparanase atau melalui celah plasmin untuk melepaskan suatu fragmen yang bersifat difusif (VEGF-110).

Kerja VEGF-165 terkait dengan aktivasi kaskade proteinase, termasuk yang mengarah kepada pembentukan plasmin, sehingga penglepasan isoform VEGF yang terikat matriks menimbulkan mekanisme amplifikasi. (Skoog et al., 2017)



Gambar 5. Pengikatan VEGF pada VEGFR-2 yang Menstimulasi Proliferasi Migrasi, Ketahanan, dan Permeabilisasi Sel Endotel

## 2.8 Vascular Endothelial Growth Factor-C (VEGF-C)

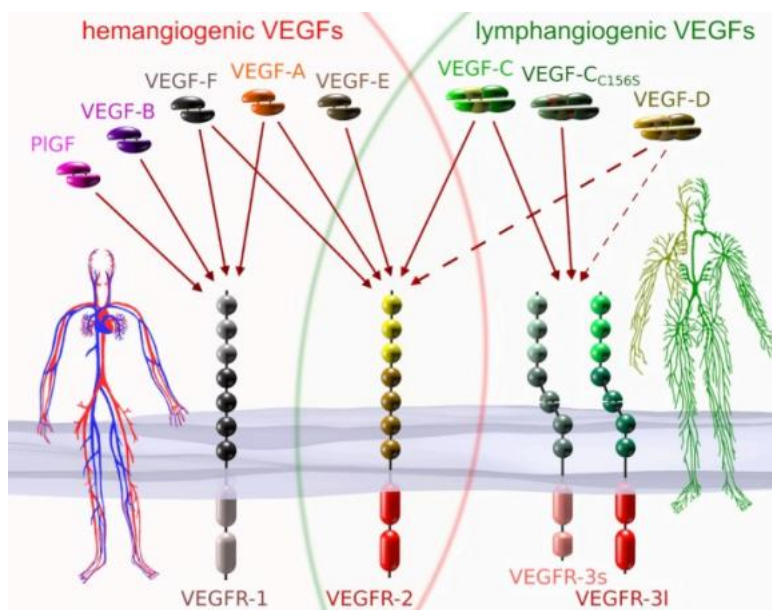
### 2.8.1 Biologi Vascular Endothelial Growth Factor-C (VEGF-C)

Vascular Endothelial Growth Factor-C (VEGF-C) adalah protein yang berperan penting dalam proses pembentukan dan angiogenesis serta dalam pengaturan aliran limfatik (lymphangiogenesis). Protein ini termasuk dalam keluarga faktor pertumbuhan pembuluh darah yang juga mencakup VEGF-A, VEGF-B, VEGF-D, dan placental growth factor (PlGF). (Ronca et al., 2017)

VEGF-C biasanya dihasilkan oleh berbagai jenis sel, termasuk sel-sel endotel pembuluh darah, sel-sel otot polos, dan sel-sel kanker tertentu. Fungsi utamanya adalah merangsang pertumbuhan pembuluh limfatik, yang penting untuk transportasi cairan dan sel-sel ke dalam dan keluar dari jaringan serta untuk respon imun. Selain peran utamanya dalam pembentukan pembuluh limfatik, VEGF-C juga telah dikaitkan dengan proses patologis seperti kanker, di mana overekspresi VEGF-C dapat mempromosikan metastasis melalui jalur limfatik. Karena perannya yang penting dalam regulasi pembentukan pembuluh darah dan limfatik, VEGF-C juga menjadi target potensial untuk pengembangan terapi dalam

berbagai kondisi medis, termasuk kanker dan penyakit vaskular. (Ronca et al., 2017)

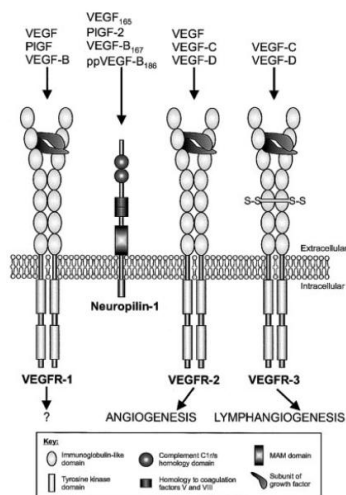
Reseptor utama semua anggota keluarga VEGF adalah reseptor tirosin kinase. Pada manusia, lima gen berbeda mengkode anggota keluarga VEGF (Gambar 6): VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD, dan PGF (faktor pertumbuhan plasenta). VEGF dapat dikategorikan menjadi hemangiogenik (VEGF-A, PIGF, dan VEGF-B) atau limfangiogenik (VEGF-C dan VEGF-D). Semua anggota kelompok VEGF dicirikan oleh domain homologi VEGF sentral (VHD, alias domain PDGF/VEGF). sebagian besar VEGF memiliki rangkaian aksesori yang selanjutnya menggambarkan sifat spesifik masing-masing VEGF: afinitas, misalnya, VEGF-A dengan Co-reseptor neuropilin-1 dan -2 (NP-1 dan NP-2), atau VEGF-C ke Co-reseptor NP-2, heparan sulfat proteoglikans (HSPGs) (Ferrari et al., 2009; Frisca and Sandra, 2009), dan ke matriks ekstraseluler<sup>27</sup>. Pada VEGF-C dan VEGF-D, rangkaian aksesori terminal N dan C sangat panjang dan berfungsi sebagai propeptida, yang terlipat menjadi domainnya sendiri dan perlu dihilangkan untuk aktivasi dengan dua pembelahan proteolitik. (Ferrari et al., 2009)



Gambar 6. VEGF dan reseptor VEGF (VEGFR) (Ferrari et al., 2009)

## 2.8.2 Struktur VEGF-C dan Reseptor VEGF-C

VEGF meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel endotel lewat tiga reseptor tirosin kinase: VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (Flk-1 in mice, KDR in humans), VEGFR-3 (Flt-4). Walaupun VEGFR-2 dilaporkan dapat mengekspresi sel endotel limfatik in vivo, namun tidak esensial untuk limfangiogenesis. Namun, ternyata pada sepanjang proses limfangiogenesis dapat dilibatkan heterodimerisasi VEGFR-2 dan VEGFR-3 (Gambar 7). Pada awal embriogenesis, VEGFR-3 diekspresi pada semua sel endotel, setelah itu terjadi penurunan regulasi, awalnya pada arteri lalu vena. Selanjutnya, sepanjang pembentukan limfatik, VEGFR-3 bertambah banyak dalam endotel limfatik, dan di luar bentukan limfatik, hanya terekspresi pada beberapa pembuluh darah fenestrasi. Signal VEGFR-3 dibutuhkan untuk perkembangan normal vaskuler darah dan sistem limfatik. Menariknya, dalam salah satu penelitian terakhir ada indikasi bahwa penghambatan VEGFR-3 pada jaringan dewasa dengan inhibitor spesifik dapat memblokir pertumbuhan limfatik baru tanpa mempengaruhi pembuluh limfe yang sudah ada atau angiogenesis. (Ziemer et al., 2001)



Gambar 7. VEGF-C dapat menginduksi VEGFR-2 dan -3 sehingga terjadi proses angiogenesis dan limfangiogenesis. (Ziemer et al., 2001)

### 2.8.3 Regulasi Ekspresi VEGF-C

Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa inflamasi berhubungan erat dengan perkembangan tumor dan metastasis. Misalnya, pensinyalan yang dimediasi interleukin-6 (IL-6) dapat mengatur ekspresi VEGF-C melalui jalur PI3K-Akt, yang menyebabkan limfangiogenesis pada karsinoma sel skuamosa mulut manusia. Pada Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) Cells, interleukin-17 (IL-17), sitokin pro-inflamasi yang terutama disekresi oleh sel T helper teraktivasi, dapat mendorong limfangiogenesis melalui peningkatan regulasi ekspresi VEGF-C, sebagian melalui aktivasi jalur ERK 1/2.

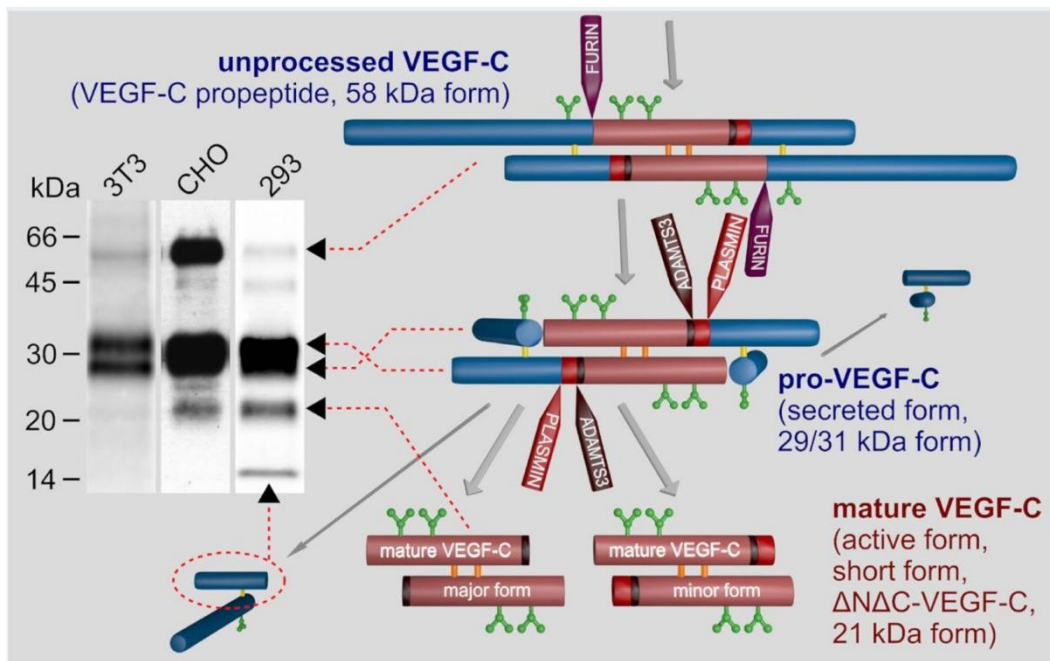
Lebih jauh lagi, jika terjadi mutasi, aktivasi proto-onkogen menjadi onkogen terjadi pada hampir semua jenis kanker, yang berpotensi mendorong transformasi neoplastik. Protein proto-onkogen Wnt1 dapat menginduksi pertumbuhan tumor dan angiogenesis. Namun, berkaitan dengan limfangiogenesis, penelitian terbaru menunjukkan bahwa Wnt1 dapat melindungi terhadap perkembangan melanoma dengan menekan ekspresi VEGF-C yang berasal dari melanoma, diikuti dengan penurunan limfangiogenesis dan metastasis.

Sel tumor yang berinteraksi dengan matriks ekstraseluler (ECM) sangat terlibat dalam invasi dan metastasis tumor. Berbagai penelitian telah menyelidiki ECM dan komponen terkaitnya, berkaitan dengan ekspresi VEGF-C. Fibronektin (FN), suatu glikoprotein perekat sel matriks ekstraseluler, diekspresikan dalam berbagai keganasan dan tampaknya memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit metastasis. Salah satu domain penyambungan alternatifnya, domain ekstra A (EDA), dapat mendorong sekresi VEGF-C dalam sel kanker kolorektal; sebuah proses yang terkait dengan jalur PI3K/Akt. Demikian pula, heparanase termasuk dalam sejenis endoglikosidase, yang terlibat dalam degradasi dan remodeling ECM melalui pembelahan heparan sulfat. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa aktivitas heparanase sangat berimplikasi pada limfangiogenesis dan metastasis tumor, yang sebagian dapat

dikaitkan dengan induksi ekspresi VEGF-C. Molekul adhesi sel terkait Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1, juga dikenal sebagai bilier glikoprotein atau CD66a), dapat menginduksi angiogenesis melalui peningkatan ekspresi VEGF-C dalam sel kanker.(Okano et al., 2006)

#### 2.8.4 Sintesis dan Aktifitas Biologis VEGF-C

VEGF-C disintesis oleh berbagai jenis sel, termasuk sel-sel endotel pembuluh darah, fibroblas, serta sel-sel tumor. Produksi VEGF-C dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk faktor pertumbuhan dan sitokin. Sintesis VEGF-C, seperti halnya banyak protein lainnya, melibatkan transkripsi dan translasi dari mRNA yang dihasilkan dari gen VEGF-C. Setelah transkripsi, mRNA VEGF-C akan diubah menjadi protein VEGF-C melalui proses translasi di ribosom.



Gambar 8. Biosintesis dan aktivasi Vascular Endothelial Growth Factor-C (VEGF-C) (Ferrari et al., 2009).

VEGF-C diproduksi sebagai propeptida yang tidak aktif. Konvertase proprotein seperti furin, PC5, atau PC7 membelah domain homologi VEGF

dan domain homologi silk terminal-C yang menghasilkan pro-VEGF-C (Gambar 8). Domain homologi silk tidak dihilangkan oleh pembelahan ini, namun tetap terhubung secara kovalen melalui jembatan sistein ke seluruh pro-VEGF-C. Pro-VEGF-C mampu mengikat VEGFR-3, namun tidak mengaktifkannya. Pembelahan proteolitik kedua oleh disintegrin A dan metalloproteinase dengan motif trombospondin 3 (ADAMTS3) menghilangkan kedua domain terminal sehingga menghasilkan VEGF-C yang matang dan aktif. Tiga situs N-glikosilasi ditemukan di VEGF-C (ditunjukkan dalam warna hijau). Nama alternatif untuk berbagai bentuk VEGF-C diberikan dalam tanda kurung. Pola pita VEGF-C yang dihasilkan dari cDNA full-length yang diselesaikan oleh SDS-PAGE bergantung pada garis sel yang mengekspresikan, tingkat ekspresi dan antibodi yang digunakan untuk imunopresipitasi dan/atau Western blotting. Fibroblas 3T3 menghasilkan hampir secara eksklusif pro-VEGF-C. Dalam sel CHO yang berekspresi tingkat tinggi, sebagian besar protein yang disekresikan tetap tidak diproses. Di antara sel yang memproses paling efisien adalah 293 sel, namun pro-VEGF-C masih mewakili sebagian besar protein VEGF-C. (Ferrari et al., 2009)

Aktivitas biologis VEGF-C melibatkan interaksi dengan reseptornya, terutama VEGFR-3 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 3), yang terletak pada permukaan sel-sel endotel pembuluh limfatik. Aktivitas biologis utama VEGF-C termasuk: (Okano et al., 2006; Milovanović et al., 2023)

- Stimulasi Limfangiogenesis: VEGF-C merupakan salah satu faktor utama yang merangsang pertumbuhan dan perkembangan pembuluh limfatik (limfangiogenesis). Ini berperan penting dalam pembentukan sistem limfatik selama perkembangan embrio, serta dalam proses regenerasi dan penyembuhan jaringan dewasa.
- Pengaruh pada Migrasi Sel: VEGF-C dapat mempengaruhi migrasi sel-sel endotel pembuluh limfatik, memungkinkan pembentukan pembuluh limfatik

baru di tempat-tempat yang diperlukan, seperti pada daerah-daerah yang mengalami peradangan atau trauma.

- Peran dalam Metastasis Kanker: Ekspresi VEGF-C oleh tumor dapat memfasilitasi metastasis kanker dengan merangsang pertumbuhan pembuluh limfatik di sekitar tumor. Ini memungkinkan sel-sel kanker untuk menyebar melalui sistem limfatik dan mencapai kelenjar getah bening dan organ-organ lain dalam tubuh.
- Pertumbuhan Vaskular: Selain itu, VEGF-C juga dapat mempengaruhi pertumbuhan pembuluh darah, meskipun efeknya pada angiogenesis cenderung lebih moderat daripada pada limfangiogenesis.

#### 2.8.5 Peran onkogen VEGF-C

VEGF-C dan VEGF-D penting untuk perkembangan sistem limfatik dan juga dapat meningkatkan permeabilitas vaskular serta merangsang angiogenesis. VEGF-C berikatan dengan VEGFR-3/Flt-4, yang diekspresikan pada endotel limfatik, dan menyebabkan fosforilasi tirosin dari VEGFR-2 dan VGFR-3, yang terlibat dalam limfangiogenesis. Baik VEGF-C maupun VEGF-D mitogenik bagi sel endotel limfatik dan mempromosikan melalui VEGFR-3 kelangsungan hidup sel ini. VEGF-C dapat merangsang pertumbuhan pembuluh darah baru (angiogenesis) di sekitar tumor. Pembuluh darah baru memberikan suplai oksigen dan nutrisi ke tumor, memungkinkannya untuk berkembang secara agresif. Ini adalah salah satu cara utama di mana VEGF-C mendukung pertumbuhan tumor.

VEGF-C juga memainkan peran kunci dalam merangsang pertumbuhan pembuluh limfatik baru (limfangiogenesis) di sekitar tumor. Ini memfasilitasi penyebaran sel-sel kanker ke kelenjar getah bening dan organ-organ lain melalui sistem limfatik, yang mempercepat metastasis dan progresi penyakit. VEGF-C meningkatkan kemampuan sel-sel kanker untuk menyebar dan bermetastasis, melalui promosi limfangiogenesis dan penyebaran melalui pembuluh limfatik. (Johns et al., 2016)

## **2.9 Hubungan VEGF C dan Metastasis Kelenjar Getah Bening Kanker payudara**

Data klinis yang ada menunjukkan bahwa perkembangan penyebaran penyakit secara metastatik bertanggung jawab atas setidaknya 90% kematian akibat kanker, dan tingkat kelangsungan hidup turun dari 90% pada kanker payudara lokal menjadi 20% pada kanker payudara metastatik. Ekspresi VEGF-C baru-baru ini dilaporkan berkorelasi dengan metastasis kelenjar getah bening di payudara, lambung, kolorektal, paru-paru, prostat, kepala dan leher, dan kanker kandung empedu. Kelompok VEGF merupakan pemeran yang penting dalam kanker.. Fungsi utama VEGF-C tampaknya adalah pengaturan pembentukan pembuluh limfatik. Sampai saat ini, banyak penelitian telah melaporkan bahwa ekspresi berlebih VEGF-C berkorelasi signifikan dengan metastasis kelenjar getah bening dan limfangiogenesis pada tumor primer, seperti tiroid, prostat, lambung, kolorektal, ovarium, dan kanker payudara.(Jha et al., 2017)

Dalam konteks kanker payudara stadium lanjut, VEGF-C dapat memainkan peran penting dalam proses metastasis, terutama melalui jalur limfatik. VEGF-C merangsang pertumbuhan pembuluh limfatik, yang memungkinkan sel-sel kanker untuk menyebar melalui sistem limfatik ke area yang lebih jauh dalam tubuh. Ini dapat mempercepat kemajuan penyakit dan membuatnya lebih sulit diobati. Peningkatan ekspresi VEGF-C dalam kanker payudara juga telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk dan resistensi terhadap terapi, termasuk terapi anti-angiogenesis yang ditargetkan pada pembuluh darah yang mendukung pertumbuhan tumor.(Rauniyar, Jha and Jeltsch, 2018)

## **2.10 Sistem Limfatik Mammae dan Mekanisme Biologis Metastasis Limfatik**

Sistem limfatik mammae merupakan komponen integral dalam anatomi payudara yang berperan tidak hanya dalam fungsi imunologis dan drainase cairan interstisial, tetapi juga menjadi jalur utama penyebaran sel

kanker dari tumor primer ke kelenjar getah bening regional (Dieterich & Detmar, 2022a). Sistem ini terbentuk dari jejaring pembuluh limfatik superfisial dan dalam yang terhubung secara kompleks serta berakhir ke dalam kelompok nodus limfatik regional, terutama kelenjar getah bening aksila, parasternal, dan supraklavikula (Brogowska et al., 2023). Pemahaman anatomi limfatik mammae menjadi sangat penting karena jalur metastasis kanker payudara tidak acak, melainkan mengikuti pola aliran limfatik fisiologis yang kini terbukti dapat dimodifikasi secara biologis oleh tumor melalui proses limfangiogenesis (S. Banerjee et al., 2023b).

Secara anatomi, jaringan limfatik pada mammae dibagi menjadi dua jaringan utama yaitu superficial lymphatic plexus yang terdapat pada lapisan subkutan dan dermis termasuk kompleks puting-areola, serta deep lymphatic plexus yang terdapat di ruang interlobular, jaringan penunjang, dan sepanjang duktus laktiferus (Y. Huang et al., 2022) Plexus superfisial memiliki hubungan utama dengan kulit dan areola, sedangkan plexus dalam merupakan sistem yang menghubungkan jaringan glandular dengan pembuluh limfatik yang lebih besar. Dari kedua sistem ini, aliran limfatik kemudian mengalir menuju kumpulan nodus aksila melalui vessels of Rotter, kemudian ke level I (lateral pectoral group), level II (subscapular group), dan level III (apical group) sesuai klasifikasi Berg, yang masih menjadi dasar sistem staging nodal modern.

## **2.11 Mekanisme Biologis Metastasis Limfatik**

Secara klasik, metastasis limfatik dianggap terjadi secara pasif mengikuti aliran cairan interstisial menuju nodus regional. Namun, temuan molecular oncology dalam 15 tahun terakhir membuktikan bahwa metastasis limfatik bukan proses pasif, melainkan proses aktif, terprogram, dan dipicu oleh tumor melalui mekanisme limfangiogenesis-driven metastasis (L. Chen et al., 2021) (Dieterich & Detmar, 2022a) Limfangiogenesis pada kanker payudara ditandai oleh tiga proses

utama yaitu ekspansi saluran limfatik pre-existing melalui proliferasi endotel limfatik, pembentukan saluran limfatik baru di sekitar tumor (*peritumoral hyperplastic lymphatics*), serta Peningkatan permeabilitas dan diameter lumen, sehingga memfasilitasi transmigrasi sel tumor. Proses ini dimediasi terutama oleh aktivasi reseptor VEGFR-3 (FLT4) oleh ligan VEGF-C, yang merupakan mediator paling dominan dalam sistem limfangiogenik kanker (Brogowska et al., 2023; Xu et al., 2024). Selain VEGF-C, beberapa faktor pendukung lain meliputi CCBE1, ADAMTS3, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan tumor-associated macrophages (TAMs) (S. Banerjee et al., 2023a).

Limfangiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh limfatik baru dari struktur limfatik yang sudah ada, yang dikendalikan oleh berbagai mediator molekuler, sel imun, dan faktor mikro-lingkungan jaringan (Dieterich & Detmar, 2022b) Pada kondisi fisiologis, proses ini berperan dalam homeostasis cairan interstisial, transportasi lipid, dan respons imun adaptif. Namun, dalam konteks kanker, terutama kanker payudara, limfangiogenesis mengalami aktivasi patologis yang tidak wajar, menjadi mekanisme kunci metastasis regional melalui jalur limfatik (Brogowska et al., 2023). Evolusi pemahaman mengenai limfangiogenesis dalam 10 tahun terakhir menunjukkan bahwa proses ini bukan sekadar reaksi pasif jaringan terhadap pertumbuhan tumor, melainkan bagian dari strategi biologis tumor untuk meningkatkan potensi invasi dan penyebaran (Banerjee et al., 2023).

Pemahaman modern membagi limfangiogenesis kanker menjadi tiga tingkatan proses yang saling berhubungan, yaitu:

1. Induksi molekuler oleh sel tumor yang melepaskan mediator limfangiogenik.
2. Remodeling struktural pembuluh limfatik pre-existing di dalam dan sekitar tumor.
3. Kondisioning mikro-lingkungan nodus limfatik untuk menciptakan *pre-metastatic niche* (Chen et al., 2021).

Proses ini dimediasi terutama oleh aktivasi reseptor VEGFR-3 (FLT4) oleh ligan VEGF-C, yang merupakan mediator paling dominan dalam sistem limfangiogenik kanker (Brogowska et al., 2023; Xu et al., 2024). Selain VEGF-C, beberapa faktor pendukung lain meliputi CCBE1, ADAMTS3, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan tumor-associated macrophages (TAMs) (Banerjee et al., 2023).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa metastasis limfatik tidak hanya bergantung pada pembentukan kanal baru, tetapi juga pembentukan lingkungan mikro pada nodus limfatik, yang disebut *pre-metastatic niche* (Banerjee et al., 2023).

Elemen yang terlibat antara lain fibroblast limfatik yang mengalami aktivasi, makrofag pro-limfangiogenik (TAM-L), ekspresi CCL21/CCR7 yang memandu navigasi sel tumor, dan pembesaran sinus limfatik, hal ini menjelaskan mengapa metastasis nodal dapat terjadi bahkan sebelum ada deteksi sel tumor secara histologis, yang memperkuat urgensi biomarker prediktif seperti VEGF-C.

## 2.12 Konsep Limfangiogenesis Modern dan Regulasi Biologisnya pada Kanker Payudara

Limfangiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh limfatik baru dari struktur limfatik yang sudah ada, yang dikendalikan oleh berbagai mediator molekuler, sel imun, dan faktor mikro-lingkungan jaringan (Dieterich & Detmar, 2022). Pada kondisi fisiologis, proses ini berperan dalam

homeostasis cairan interstisial, transportasi lipid, dan respons imun adaptif. Namun, dalam konteks kanker, terutama kanker payudara, limfangiogenesis mengalami aktivasi patologis yang tidak wajar, menjadi mekanisme kunci metastasis regional melalui jalur limfatik (Brogowska et al., 2023). Evolusi pemahaman mengenai limfangiogenesis dalam 10 tahun terakhir menunjukkan bahwa proses ini bukan sekadar reaksi pasif jaringan terhadap pertumbuhan tumor, melainkan bagian dari strategi biologis tumor untuk meningkatkan potensi invasi dan penyebaran (Banerjee et al., 2023).

Pemahaman modern membagi limfangiogenesis kanker menjadi tiga tingkatan proses yang saling berhubungan, yaitu Induksi molekuler oleh sel tumor yang melepaskan mediator limfangiogenik, remodeling struktural pembuluh limfatik pre-existing di dalam dan sekitar tumor, kondisioning mikro-lingkungan nodus limfatik untuk menciptakan *pre-metastatic niche* (Chen et al., 2021).

Ketiga proses ini menghasilkan peningkatan jumlah, diameter, densitas, dan permeabilitas pembuluh limfatik peritumoral yang pada akhirnya menjadi “gerbang transportasi” sel kanker menuju sistem nodal regional (L. Chen et al., 2021). Regulator paling penting dalam limfangiogenesis tumor adalah Vascular Endothelial Growth Factor-C (VEGF-C) sebagai ligan utama, dan VEGFR-3 (FLT4) sebagai reseptor dominan yang diekspresikan oleh sel endotel limfatik (Dieterich & Detmar, 2022). VEGF-C diproduksi oleh sel kanker, fibroblas stroma, perisit, sel imun innate, dan terutama tumor-associated macrophages (TAM-L) (Banerjee et al., 2023). Dalam kondisi tumor yang mengalami hipoksia, acidifikasi mikro-lingkungan, inflamasi kronik, dan stres oksidatif, jalur transkripsi HIF-1 $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B teraktivasi sehingga secara signifikan meningkatkan sintesis VEGF-C (Hossain et al., 2024).

VEGF-C awalnya disekresikan sebagai pro-VEGF-C (immature form) yang tidak aktif, kemudian mengalami pemrosesan proteolitik oleh ADAMTS3

dengan bantuan kofaktor CCBE1, sehingga terbentuk VEGF-C mature form yang memiliki afinitas tinggi terhadap VEGFR-3 (Jha et al., 2020). Aktivasi reseptor VEGFR-3 pada membran endotel limfatik memicu sinyal downstream melalui PI3K/AKT, MAPK/ERK, dan JAK/STAT, yang masing-masing berkontribusi pada proliferasi, diferensiasi, migrasi, dan pemanjangan tubulus limfatik (Brogowska et al., 2023; Xu et al., 2024).

### Konsep “Intratumoral vs Peritumoral Lymphangiogenesis”

Dua jenis limfangiogenesis memiliki signifikansi klinis berbeda:

Tipe	Lokasi	Karakteristik	Relevansi Metastasis
Intratumoral	Di dalam massa tumor	Tekanan interstitial tinggi, lumen kolaps	Tidak efektif untuk metastasis
Peritumoral	Sekitar batas tumor	Dinding lebih stabil, tekanan rendah, lumen lebar	Jalur utama metastasis

Peritumoral lymphatics menunjukkan kapasitas transpor sel tumor lebih besar, sehingga menjadi target penelitian terkini (Dieterich & Detmar, 2022; Huang et al., 2022).

Metastasis via limfatik tidak terjadi spontan, tetapi melalui pembentukan *pre-metastatic niche*, yaitu perubahan mikro-lingkungan nodus agar reseptif terhadap kolonisasi sel kanker, bahkan sebelum keberadaan sel kanker itu sendiri (Banerjee et al., 2023).

Perubahan yang terjadi meliputi ekspansi sinus limfatik, peningkatan permeabilitas kapiler, penurunan *immune surveillance*, aktivasi fibroblast nodal, rekrutmen sel imun tolerogenik seperti Treg dan M2-TAM.

Dengan pemahaman ini, metastasis nodal bukan hanya “endpoint aliran limfe”, tetapi “target biologis yang dipersiapkan”.

### **2.13 Hubungan VEGF-C dengan Metastasis Kelenjar Getah Bening Berdasarkan Penelitian Global**

Keterlibatan kelenjar getah bening (KGB) merupakan indikator prognostik terkuat dalam kanker payudara modern dan digunakan sebagai dasar penentuan stadium klinis, risiko metastasis jauh, serta strategi penatalaksanaan (Lyman et al., 2022). Metastasis KGB pada kanker payudara awalnya dipahami sebagai konsekuensi anatomis dari aliran limfatik, namun dalam dua dekade terakhir paradigma berubah, menempatkan limfangiogenesis-driven spread sebagai proses biologis aktif, melalui pembentukan pembuluh limfatik baru yang dimediasi oleh VEGF-C (Dieterich & Detmar, 2022). Oleh sebab itu, hubungan antara kadar VEGF-C dengan keterlibatan KGB menjadi area penelitian penting dalam upaya identifikasi biomarker non-invasif prediktif metastasis nodal.

Berbagai penelitian klinis dan molekuler menunjukkan bahwa peningkatan kadar VEGF-C, baik pada jaringan tumor maupun serum, berkorelasi dengan metastasis KGB pada kanker payudara. Studi klinik awal menggunakan imunohistokimia (IHC) menunjukkan bahwa ekspresi VEGF-C tinggi berkaitan dengan densitas pembuluh limfatik peritumoral yang lebih tinggi dan peluang metastasis limfatik lebih besar dibandingkan ekspresi rendah (Chen et al., 2021). Meta-analisis terbaru oleh Xu et al. (2024) melibatkan 22 studi (total 2.176 pasien) dan melaporkan bahwa ekspresi tinggi VEGF-C meningkatkan risiko metastasis nodal sebesar Odds Ratio (OR) 2.67; CI 95%: 1.94–3.48, mengonfirmasi peran VEGF-C sebagai prediktor metastasis nodal.

Studi berbasis jaringan tumor menggunakan IHC dan RT-PCR menunjukkan hubungan signifikan antara ekspresi VEGF-C pada sel

kanker maupun stromal dengan metastasis nodal. Hal ini diperkuat oleh bukti bahwa ekspresi VEGFR-3, sebagai reseptor target VEGF-C, juga meningkat pada sel endotel limfatik peritumoral, menjadikan axis VEGF-C/VEGFR-3 sebagai jalur biologis penting (Brogowska et al., 2023; Banerjee et al., 2023).

Tabel berikut merangkum hasil penelitian jaringan tumor 10 tahun terakhir:

Peneliti	Metode	Subjek	Temuan	Kesimpulan
Chen et al. (2021)	IHC VEGF-C & LYVE-1	156	Ekspresi VEGF-C tinggi → P-value <0.01	Korelasi signifikan metastasis KGB
Huang et al. (2022)	IHC + PCR	124	VEGF-C ↑ Densitas limfatik ↑	= VEGF-C prediktor independen nodal
Banerjee et al. (2023)	Multiplex immuno-profiling	78	TAM-derived VEGF-C dominan	Sumber stromal signifikan

Dari bukti ini dapat disimpulkan bahwa VEGF-C tidak hanya diproduksi oleh sel tumor tetapi juga oleh sel mikro-lingkungan, memperluas sudut pandang patogenesis metastasis nodal.

Selain studi jaringan, penelitian berbasis serum menggunakan metode ELISA memberikan peluang untuk menjadikan VEGF-C sebagai biomarker non-invasif, yang jauh lebih praktis dibandingkan IHC atau biopsi (El-Hefnawy et al., 2023).

Studi oleh El-Hefnawy et al. (2023) pada 90 pasien melaporkan bahwa kadar VEGF-C pada kelompok metastasis nodal (mean  $556 \pm 115$  pg/mL) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok tanpa metastasis (mean  $312 \pm 88$  pg/mL;  $P < 0.001$ ). Studi ini menunjukkan sensitivitas 82.1% dan spesifisitas 78.3% dalam memprediksi keterlibatan KGB.

Namun, terdapat studi yang melaporkan hasil berbeda. Zhang et al. (2020) tidak menemukan korelasi signifikan antara kadar VEGF-C sirkulan dan metastasis nodal pada 71 pasien kanker payudara stadium awal. Penulis menyatakan bahwa variabilitas subtipe tumor dan jumlah sampel kecil dapat memengaruhi hasil. Perbedaan hasil ini menegaskan pentingnya analisis lanjutan berbasis populasi dan validasi cut-off lokal, terutama karena faktor genetik, imunologis, dan etnis dapat memengaruhi kadar VEGF-C

VEGF-C meningkatkan jumlah pembuluh limfatik peritumoral, pembuluh limfatik baru memiliki diameter lebih besar dan tekanan interstisial lebih rendah, memudahkan transmigrasi sel tumor. VEGF-C menyiapkan lingkungan nodal melalui *pre-metastatic niche conditioning*. Potensi metastasis nodal dapat terjadi bahkan sebelum sel kanker terdeteksi histologis (Huang et al., 2022; Banerjee et al., 2023)