

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

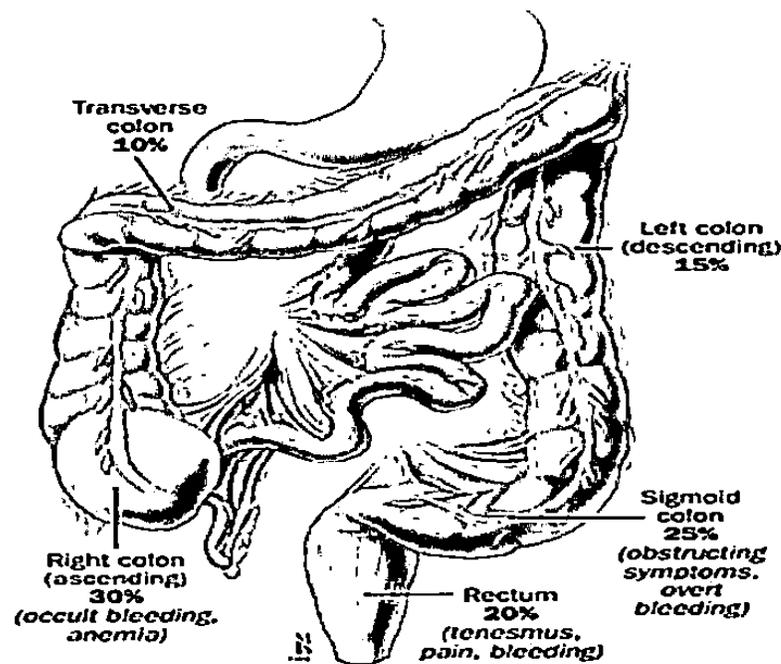
A. Tinjauan Pustaka

1. Anatomi dan histologi *colon* dan *rectum*

Colon dimulai dari perbatasan *ileum terminal-caecum*, sepanjang 90-150 cm, sampai perbatasan *sigmoid-rectum*. Terdiri dari *caecum*, *colon ascendens*, *colon transversum*, *colon descendens*, dan *colon sigmoid*. *Caecum* merupakan bagian terlebar (7,5 – 8,5 cm), dan *colon sigmoid* merupakan bagian tersempit (2,5 cm). Pada kasus obstruksi di distal, *caecum* merupakan bagian yang paling sering ruptur. Lapisan dinding *colon* adalah *mucosa*, *submucosa*, otot sirkular, otot longitudinal yang bergabung dengan *taenia coli*, dan *serosa*. Kekuatan mekanis dari dinding *colon* berasal dari lapisan *submucosa*, yang memiliki kandungan kolagen tertinggi. *Colon ascendens* dan *colon descendens* terfiksasi pada retroperitoneal, sedangkan *caecum*, *colon transversum*, dan *colon sigmoid* berada intraperitoneal dan mobil. Omentum menempel pada *colon transversum* (Brunicardi, 2005).

Mukosa *colon* terdiri dari epitel selapis silindris dengan sel goblet. Otot bagian sebelah dalam sirkuler dan sebelah luar longitudinal yang terkumpul pada tiga tempat membentuk *taenia coli*. Lapisan serosa membentuk tonjolan tonjolan kecil yang sering terisi lemak yang disebut *appendices epiploicae* (Cohen & Sidney, 1995).

Rectum memiliki panjang 12-15 cm, mulai dari perbatasan *sigmoid-rectum* sampai perbatasan *rectum-anus*. *Taenia coli* berakhir pada distal *colon sigmoideum*, dan lapisan otot longitudinal dari *rectum* terus berlanjut. Pada bagian atas *rectum* masih ditutupi dengan peritoneum di bagian anterior, sedangkan bagian bawahnya extraperitoneal. *Rectum* dikelilingi oleh fascia pelvis (Brunicardi, 2005).



Gambar 1. Anatomi *Colon* dan *Rectum*
(Johns Hopkins Medicine Colorectal Cancer, 2013)

2. Fungsi *colon* dan *rectum*

a. Pertukaran air dan elektrolit

Colon adalah tempat utama bagi absorpsi air dan pertukaran elektrolit. Sebanyak 90% kandungan air diserap di *colon* yaitu sekitar 1-2 liter per hari. Natrium diabsorpsi secara aktif melalui $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ pada distal *colon* yang mempunyai sebanyak 400 mikrovilus

perhari. Air diserap secara pasif mengikuti natrium melalui perbedaan osmotik. Kalium secara aktif disekresikan ke dalam lumen usus dan diabsorpsi secara pasif. Klorida diabsorpsi secara aktif melalui pertukaran klorida-bikarbonat. Degradasi bakteri dari protein dan urea di *colon* menghasilkan ammonia (Cohen & Sidney 1995). *Colon* menyerap air, natrium, klorida, dan asam lemak rantai pendek, serta mensekresikan kalium dan bikarbonat. Hal ini membantu mempertahankan keseimbangan cairan dan mencegah dehidrasi. Fungsi utama *rectum* adalah sebagai resevoir dan menahan 1200 cc cairan (Brunicardi, 2005).

b. Motilitas *colon*

Pola kontraksi *colon* adalah pergerakan retrograd, kontraksi segmental, dan pergerakan massa. Pergerakan massa akan menyebabkan perpindahan isi *colon* ke arah anus. Motilitas *colon* dipengaruhi oleh emosi, hormon, dan diet (Brunicardi, 2005).

c. Flora *colon*

Bakteri yang paling banyak pada *colon* adalah bakteri anaerob Bacteroides. Escherichia coli dan enterobacteria lainnya merupakan bakteri aerob. Bakteri *colon* berperan penting dalam produksi vitamin K. Supresi flora normal dengan antibiotik *broad-spectrum* dapat menyebabkan pertumbuhan berlebih dari patogen, khususnya Clostridium difficile (Brunicardi, 2005).

d. Gas *colon*

99% gas di *colon* adalah nitrogen, oksigen, carbon dioksida, hidrogen, dan metana. Gas dalam usus berasal dari udara yang tertelan, fermentasi karbohidrat dan protein oleh bakteri dalam lumen usus, dan difusi ke lumen usus dari darah. Dalam sehari, volume flatus sekitar 600 cc (Brunicardi, 2005).

3. Pengertian Kanker Kolorektal

Kanker merupakan suatu proses pembelahan sel-sel (proliferasi) yang tidak mengikuti jalur normal proliferasi yang terdapat dalam tubuh (proliferasi abnormal). Proliferasi ini dibagi atas non-neoplastik dan neoplastik (Siregar, 2007).

Kanker kolorektal ditujukan pada tumor ganas yang berasal dari *mucosa colon* atau *rectum*. Kebanyakan kanker kolorektal berkembang dari polip, oleh karena itu *polypectomy colon* mampu menurunkan kejadian kanker colorectal. Polip *colon* dan kanker pada stadium dini terkadang tidak menunjukkan gejala (Lurie, 2000). Secara histopatologis, hampir semua kanker kolorektal adalah adenokarsinoma (terdiri atas epitel kelenjar) dan dapat mensekresi mukus yang jumlahnya berbeda-beda. Tumor dapat menyebar melalui infiltrasi langsung ke struktur yang berdekatan, seperti ke dalam kandung kemih, melalui pembuluh limfe ke

ke hati karena *colon* mengalirkan darah ke sistem portal (Evensen, 2000).

4. Etiologi

Secara umum, kanker kolorektal terjadi dihubungkan dengan faktor genetik dan lingkungan. Kanker kolorektal juga dapat dihubungkan dengan faktor predisposisi diet rendah serat, kenaikan berat badan, dan intake alkohol (Dorundi, *et al.*, 2006). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa risiko kanker juga akan meningkat oleh aksi mutagenik dari radikal bebas yang diproduksi selama reaksi oksidasi berlangsung. Faktor makanan dan metabolit endogen turut juga berkontribusi terhadap produksi radikal bebas di *colon* (Stone, 1997).

Tabel 1. Faktor Risiko Kanker Kolorektal (Siregar, 2007)

<i>Sporadic Colorectal Cancer (88-94%)</i>
Usia Tua
Laki-laki
Kolesistektomi
Anastomosis Utero kolik
Faktor Hormonal: nullipara, usia tua kehamilan pertama, menopause dini
Faktor Lingkungan
Diet tinggi lemak, miskin serat, folat dan kalsium
Obesitas
Diabetes mellitus
Merokok
Konsumsi tinggi alcohol
Riwayat polip kolorektal
Riwayat kanker kolorektal, kanker usus halus, endometrium, payudara dan kanker ovarium.
<i>Kanker colon familial (20%)</i>
<i>Colorectal cancer in inflammatory bowel disease (1-2%)</i>
Kolitis ulseratif
Kolitis Crohn's
<i>Hereditary Colorectal Cancer (5-10%)</i>

5. Patofisiologi

a. Histopatogenesis

Hasil histopatologi biasanya didapatkan dari analisis jaringan yang diambil dari biopsi ataupun pembedahan. Tipe yang paling umum adalah *adenocarcinoma*, yang didapatkan pada 95% kasus. Tipe lain yang lebih jarang adalah *lymphoma* dan *squamous cell carcinoma*. Karsinoma pada *colon ascendens dan caecum* biasanya *exophytic*, di mana tumor tumbuh keluar dari dinding usus, maka jenis ini sangat jarang menyebabkan obstruksi usus dan biasanya muncul dengan gejala awal anemia. Sedangkan karsinoma pada *colon* kiri seringnya *sircumferential*, dan dapat menyebabkan obstruksi usus (Townsend, 2004).

Pada kebanyakan kasus, kanker kolorektal berkembang selama beberapa tahun. Kanker kolorektal berasal dari mukosa polip kolorektal. Secara histologi, polip kolorektal berpotensi untuk berubah menjadi ganas. Polip yang berada di daerah kolorektal dapat dibagi ke dalam kategori sebagai berikut: (1) hiperplasi; (2) adenomatosa, yang mempunyai tiga varian: tubular, tubulovisadan vilosa, dan (3) sindrom poliposis, yang biasanya bersifat hereditier. Polip hiperplasi merupakan gambaran dari proliferasi jinak yang terkontrol. Sebaliknya, polip adenomatosa merupakan neoplasma yang sifatnya bervariasi dari yang jinak sampai pada kelainan yang tadinya jinak tetapi dalam perkembangannya mengalami transformasi ke arah

keganasan, sehingga menimbulkan konsep urutan “adenomakarsinoma” (Robbins & Kumar, 1995). Polip hiperplasi mengandung lebih banyak sel kelenjar dengan mukus sitoplasma namun sedikit inti hiperkromatis, berlapis, atau atipik. Sedangkan polip adenomatosa memiliki inti yang hiperkromatis, membesar, *cigar-shaped*, dan padat dalam susunan yang berbentuk pagar (Cappel, 2004).

Pada pemeriksaan histopatologi polip *adenocarcinoma* adalah tumor ganas epitelial yang berasal dari kelenjar epitel dari mukosa kolorektal. Tumor ini akan menginvasi *mucosa*, menginvasi *muscularis mucosa*, *submucosa* lalu ke *muscularis propria*. Sel tumor memiliki struktur tubular yang *irregular*, inti yang beragam, berlumen banyak, dan stroma yang sedikit. Terkadang, sel tumor menginvasi jaringan intersistial dan menghasilkan banyak *mucus*. Pada pemeriksaan mikroskopis tampak sebagai daerah-daerah yang kosong, ini disebut *mucinous (colloid) adenocarcinoma*, dan merupakan jenis yang berdiferensiasi buruk. Jika *mucus* tertahan di dalam sel dan mendorong intinya ke tepi maka akan memberikan gambaran *signet ring cell*. Berdasarkan arsitektur kelenjarnya, pleomorfisme seluler, dan pola sekresi mucus, *adenocarcinoma* dapat dibedakan menjadi berdiferensiasi baik, sedang, ataupun buruk. Jika perubahan histologis

lebih responsif terhadap kemoterapi dan radioterapi (Townsend, 2004; GE., 2007; Barish, 2007).

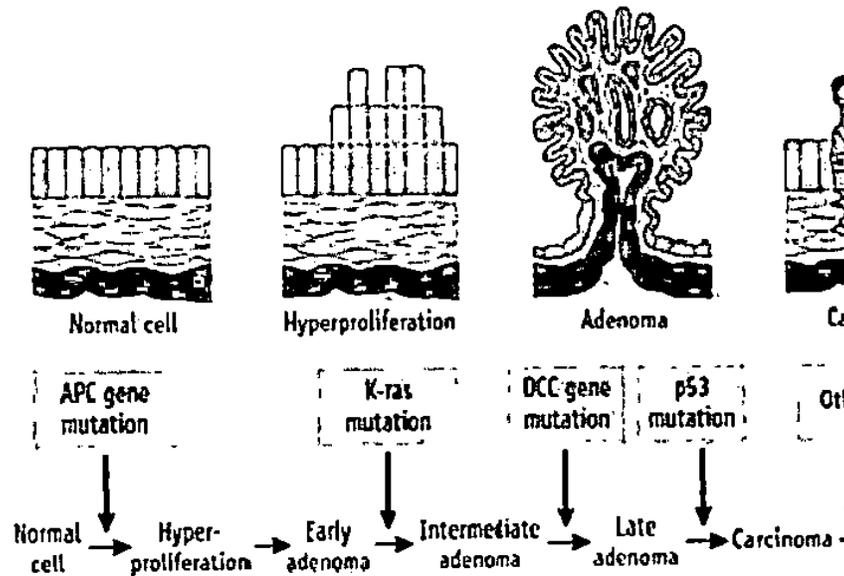
b. Patogenesis Molekuler

Perkembangan kanker kolorektal merupakan sebuah proses yang bertahap, dimana proses dimulai dari hiperplasia sel mukosa, pembentukan adenoma, perkembangan dari displasia menuju transformasi maligna dan invasif kanker. Aktifasi onkogen, inaktivasi gen penekan tumor dan DCC (*Deleted In Colorectal Cancer*) memungkinkan perkembangan dari formasi adenoma, perkembangan dan peningkatan displasia dan invasif karsinoma (Suzuki, *et al.*, 2006).

Berkembangnya kanker kolorektal diawali dengan *alterasi* (perubahan) pada gen APC (*Adenopoliposis Coli*). Gen ini menyandi suatu protein yang berfungsi sebagai penekan tumor untuk mengatur pembelahan sel-sel epitel usus. Mutasi ini menyebabkan akumulasi kerusakan genetik yang menghasilkan keganasan dan aktivasi onkogen K-ras dan hilangnya gen penekan tumor DCC dan p53 (Powell, *et al.*, 1993).

Model genetik dari proses kanker kolorektal umumnya mulai dari penampakan *point mutation* K-ras dan kehilangan *allele* berturut-turut pada kromosom 5q (pada kasus kelainan APC), 18 q (DCC), dan 17 p (p53). Beberapa kelainan gen yang selanjutnya memungkinkan peran

yang penting dalam perkembangan kanker kolorektal (Kazi 2002).



Gambar 2. Karsinogenesis Kanker Kolorektal
(Precision Nutrition, 2009).

Mutasi K-ras menyebabkan ketidakmampuannya menghidrolisis guanosisin trifosfat (GTP) menjadi guanosisin difosfat (GDP). Hal ini yang menyebabkan pemecahan sel terkontrol. Mutasi gen DCC dan p-53 terjadi pada lebih banyak kasus karsinoma kolorektal. Terdapat 2 jalur utama dalam progresi dari tumor yaitu jalur *loss of heterozygosity* (LOH) dan jalur *replication error* (RER). Sekitar 80% dari karsinoma kolorektal merupakan mutasi dari jalur LOH, sisanya merupakan mutasi dari jalur RER yaitu kesalahan pasangan sewaktu replikasi DNA. Jalur RER diinisiasi oleh mutasi gen *mismatch repair* (MMR) seperti MSH1, MMS1, MMS2, dan MSH6 (Haver, et al., 1996).

Gen yang berimplikasi pada perkembangan kanker kolorektal dapat dibagi menjadi dua kategori atas dasar fungsi mereka : jalur replikasi gen (K-ras, APC, dan DCC) dan gen yang berperan dalam mempertahankan keutuhan struktur DNA selama replikasi (hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, dan p53) (Siregar, 2007). APC dan mutHLS gen berguna untuk *screening familial adenomatous poliposis* dan kanker hereditas nonpoliposis. Kehilangan alel pada kromosom 18q dan mutasi pada p53 telah dihubungkan dengan prognosis yang buruk maka deteksi fenotip dapat meramalkan prognosis atau menentukan terapi. Reaksi berantai *polymerase* dapat mendeteksi *point mutation oncogenic ras* pada sampel feses pasien. Prosedur ini menunjukkan kemaknaan molekuler yang tinggi. Pada eksperimen *in vitro* terlihat perkembangan neoplasia dapat ditekan dengan introduksi gen fungsional p53 dan hMLH1 ke dalam sel kanker kolorektal yang berpotensi untuk diterapkan sebagai modus gen terapi di kemudian hari (Bonelli, 2004).

Proses pembentukan kanker kolorektal merupakan suatu rangkaian kelainan genetik yang terjadi secara kumulatif. Hasil penelitian terakhir telah dapat diisolasi empat gen yang berhubungan dengan munculnya hereditas nonpoliposis kanker kolorektal yaitu ((hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2). Gen ini adalah homolog manusia dari bakteri mutHLS kompleks yang mengatur genetik *proofreading* atau perbaikan dari kelainan yang timbul pada pasangan DNA (Siregar

2007). Penelitian lain juga mengatakan bahwa kanker kolorektal disebabkan oleh kaskade mutasi genetik yang menyebabkan kerusakan progresif pada replikasi DNA lokal dan percepatan replikasi dari sel-sel *colon*. Akumulasi yang progresif dari banyak mutasi genetik tadi menyebabkan perubahan normal mukosa menjadi adenoma benigna kemudian mengarah ke displasia berat dan muncul sebuah karsinoma (Cappel, 2004).

Gen-gen yang dapat mengalami mutasi genetik dan berpengaruh pada patogenesis terjadinya kanker kolorektal antara lain APC (*Adenomatous Polyposis Coli*), K-ras *family*, p53, DCC (*Deleted in Colon Cancer*), dan *mismatch repair genes*. Akumulasi mutasi dari gen-gen tersebut menimbulkan manifestasi klinis kanker kolorektal (Cappel, 2004).

6. Patologi

a. Patologi anatomi

Secara makroskopis terdapat 3 tipe karsinomakolorektal. Tipe polipoid atau vegetatif tumbuh menonjol ke dalam lumen usus., berbentuk bunga kol dan terutama ditemukan di caecum dan *colonascendens*. Tipe skirus mengakibatkan penyempitan sehingga terjadi stenosis dan gejala obstruksi, terutama ditemukan di *colondescendens*, *sigmoid* dan *rectum*. Bentuk ulceratif terjadi karena nekrosis di bagian central, terdapat di *rectum*. Pada tahap lebih lanjut

sebagian besar karsinoma kolorektal dapat mengalami ulserasi dan menjadi ulcus maligna (Sjamsuhidajat, 2003).

b. Gross Pathology

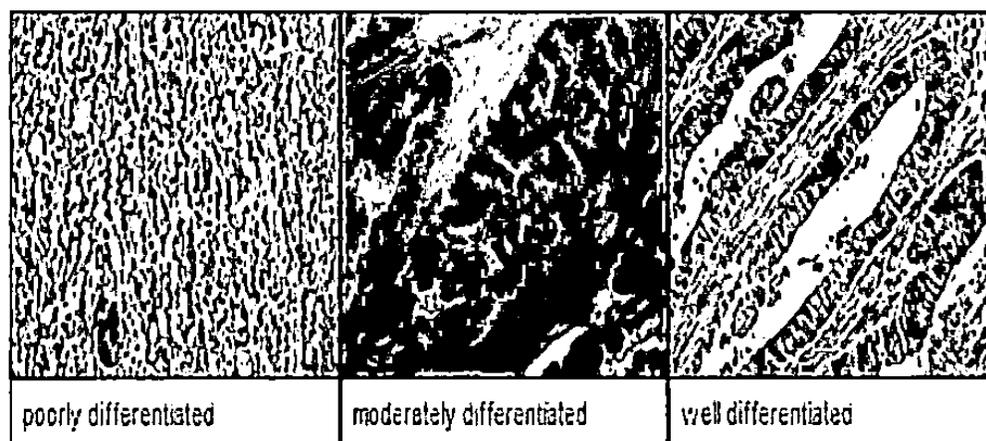
Sekitar 65% kanker kolorektal berada pada daerah distal dari *splenic flexure* dan berpotensi terdeteksi dengan *sigmoidoscopy* sedangkan sisanya sekitar 35% dari kanker kolorektal berada di daerah proksimal sehingga tidak dapat terdeteksi secara mudah dengan sigmoidoskopi. Kanker kolorektal dapat terjadi dalam polip pedunculata, polip sesil, massa, atau striktur. Polip kecil jarang mengandung kanker. Hanya sekitar 1% dari polip kecil mengandung kanker (Church, 2004). Kanker pada polip sesil dapat bermetastasis lebih cepat daripada kanker pada polip pedunculata karena letaknya berdekatan dengan aliran limfa (Nivatvongs, 2002).

7. Diferensiasi kanker kolorektal

Tumor terdiri atas dua komponen yaitu parenkim yang terdiri dari atas sel tumor yang berproliferasi dan stroma yang terdiri atas jaringan ikat dan pembuluh. Stroma mendukung parenkim dan memberikan makanan melalui pembuluh darah. Parenkim yaitu sel-sel tumor pada keadaan ganas sengan membelah diri akan mengalami perubahan-perubahan sel-sel tumor tidak mempunyai sel-sel sel-sel sel-sel (Chandrasekhar &

Diferensiasi yaitu derajat kemiripan sel tumor (parenkim tumor) jaringan asalnya yang terlihat pada gambaran morfologik dan fungsi sel tumor. Proliferasi neoplastik menyebabkan penyimpangan bentuk, susunan dari sel tumor. Hal ini menyebabkan set tumor tidak mirip sel dewasa normal jaringan asalnya (Kumar, *et al.*, 2007).

Derajat diferensiasi merupakan hasil penilaian mikroskopis sel kanker berdasarkan jumlah sel yang mengalami mitosis, kemiripan bentuk sel ganas dengan sel asal, dan susunan homogenitas dari sel (Damjanov, 2007; National Cancer Institute, 2009). Kemiripan bentuk sel ganas dengan sel asal dan jumlah mitosis menjadi poin utama dari sistem derajat diferensiasi ini, di mana sel dianggap semakin ganas jika perubahan bentuk yang terjadi semakin tidak terkendali dan tidak mirip dengan sel asalnya sehingga penentuan derajat diferensiasi ini berfungsi untuk menentukan keagresifan atau sifat biologis dari sel kankernya (E Article, 2009). Nomenklatur yang dipakai dalam menentukan derajat diferensiasi ini adalah dengan penomoran; *Grade I* untuk kanker dengan diferensiasi baik (*well differentiated*) di mana sel kanker masih mirip dengan sel asalnya; *Grade II* untuk kanker dengan diferensiasi moderat (*moderately/intermediate differentiated*); *Grade III* untuk kanker dengan diferensiasi jelek (*poorly differentiated*); dan *Grade IV* untuk kanker anaplastik atau *undifferentiated*. Umumnya *Grade III* dan *Grade IV* digabung menjadi satu dan dikategorikan sebagai *high grade* (Damjanov, 2007).



Gambar 3 Derajat Diferensiasi Kanker Kolorektal
(Johns Hopkins *Medicine Colorectal Cancer*, 2013)

Tumor yang berdiferensiasi baik terdiri atas sel-sel yang menyerupai sel dewasa normal jaringan asalnya, sedangkan tumor berdiferensiasi buruk atau tidak berdiferensiasi menunjukkan gambaran sel primitive dan tidak memiliki sifat sel dewasa normal jaringan asalnya. Semua tumor jinak umumnya berdiferensiasi baik. Sebagai contoh tumor jinak otot polos yaitu leiomioma uteri. Sel tumornya menyerupai sel otot polos. Demikian pula lipoma yaitu tumor jinak berasal dari jaringan lemak, sel tumornya terdiri atas sel lemak matur, menyerupai sel jaringan lemak normal (Kumar, *et al.*, 2007).

Tumor ganas berkisar dari yang berdiferensiasi baik sampai kepada yang tidak berdiferensiasi. Tumor ganas yang terdiri dari sel-sel yang tidak berdiferensiasi disebut anaplastik. Anaplastik berasal tanpa bentuk atau kemunduran, yaitu kemunduran dari tingkat diferensiasi tinggi ke tingkat diferensiasi rendah. Anaplasia ditentukan oleh sejumlah perubahan-perubahan morfologik dan perubahan sifat pada anaplasia

terkandung 2 jenis kelainan organisasi yaitu kelainan organisasi sitologik dan kelainan organisasi posisi (Kumar, *et al.*, 2007).

Anaplasia sitologik menunjukkan pleomorfi yaitu beraneka ragam bentuk dan ukuran inti sel tumor. Sel tumor berukuran besar dan kecil dengan bentuk yang bermacam-macam, mengandung banyak DNA sehingga tampak lebih gelap (hiperkromatik). Anaplasia posisional menunjukkan adanya gangguan hubungan antara sel tumor yang satu dengan yang lain, terlihat dari perubahan struktur dan hubungan antara sel tumor yang abnormal (Kumar, *et al.*, 2007).

Poorly differentiated dihubungkan dengan adanya mutasi genetik namun hal tersebut belum diketahui pasti. Sekitar 20% KKR adalah *poorly differentiated*, dan memiliki prognosis yang buruk (Cappell, 2005). Grade histologi secara signifikan mempengaruhi tingkat survival disamping stadium. Pasien dengan *well differentiated* karsinoma (grade 1 dan 2) mempunyai *5-year survival rates* yang lebih baik dibandingkan dengan *poorly differentiated* karsinoma (grade 3 dan 4) (Casciato, 2011).

8. Stadium

Setelah kanker kolorektal didiagnosa, maka penentuan stadium klinis harus segera ditentukan untuk menentukan pengobatan apa yang harus dilakukan. Stadium klinis dari kanker kolorektal adalah :

- a. Stadium 0 : stadium *Duke/Astler-Coller A*; pada stadium ini, sel yang abnormal masih ditemukan pada garis batas dalam dari muskularis mukosa *colon*.
- b. Stadium 1 : stadium *Duke/Astler-Coller A*; pada stadium ini, sel yang abnormal sudah ditemukan di muskularis mukosa *colon*, namun belum menembus tunika muskularis.
- c. Stadium 2 : stadium *Duke B*; belum ada keterlibatan kelenjar limfonodi
 - i. Kanker telah menyebar dalam lapisan tunika muskularis (*Astler-Coller stadium B1*)
 - ii. Kanker telah menyebar dalam lapisan subserosa (*Astler-Coller stadium B2*)
- d. Stadium 3 : stadium *Duke C*; bila sudah ada keterlibatan kelenjar limfonodi
 - i. Kanker telah menyebar dalam lapisan tunika muskularis (*Astler-Coller stadium C1*)
 - ii. Kanker telah menyebar dalam lapisan subserosa (*Astler-Coller stadium C2*)
- e. Stadium 4 : stadium *Duke/Astler-Coller D*; bila sudah ada metastasis baik secara limfatik atau hematogen

Tabel 2. Penentuan Stadium Kanker Kolorektal Berdasarkan Sistem TNM
(Greene, *et al.*, 2002)

Klasifikasi		Definisi
Tumor primer (T)	TX	Tumor primer sulit dinilai
	TO	Tak ada bukti tumor primer
	Tis	Karsinoma in situ; tumor terbatas intraepitel atau hanya mengenai tunika propria mukosa
	T1	Tumor menginvasi tunika submucosa
	T2	Tumor menginvasi tunika muskularis propria
	T3	Tumor menembus tunika muskularis propria mencapai subserosa atau mengenai kolon ekstrapéritoneal atau jaringan perirektal.
		<p>pT3a-minimal Invasi: <1 mm di luar batas propria muskularis</p> <p>pT3b-sedikit invasi: 1-5mm di luar batas propria muskularis</p> <p>pT3c-invasimoderat:>5-15mm di luar batas propria muskularis</p> <p>pT3d-invasi luas:>15mm di luar batas propria muskularis</p>
Kelenjar limfe regional (N)	NX	Kondisi kelenjar limfe regional tak dapat dinilai
	N0	Tak ada metastasis kelenjar limfe regional
	N1	Metastasis 1-3 kelenjar limfe regional
	N2	Metastasis >4 kelenjar limfe regional
Metastasis jauh (M)	MX	Tak dapat menilai ada tidaknya metastasis jauh
	M0	Tidak ada metastasis jauh
	M1	Ada metastasis jauh

B. Hypoxia Inducible Factor (HIF) -1 α

1. Definisi HIF-1 α

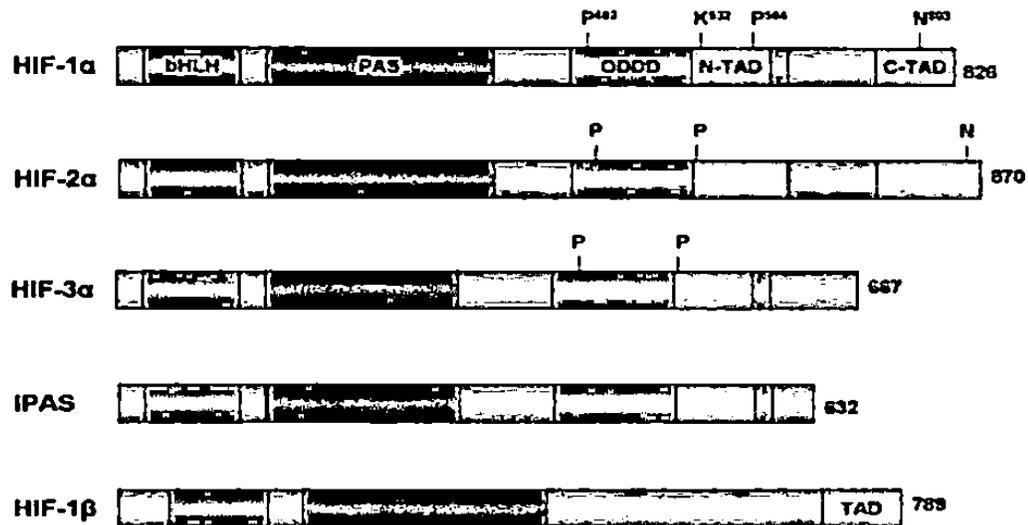
Hypoxia Inducible Factor (HIF) -1 α adalah protein yang berasal

HIF-1 α mengandung suatu ODDD yang menengahi stabilitas oksigen melalui hidroksilasi dua prolin (P) residu dan asetilasi dari lisin (K) (Ke, 2006). Protein ini merupakan penentu dari bentuk dan aktivitas transkripsi dari HIF-1 yang merupakan pengatur utama dari homeostasis oksigen dan berperan penting dalam proses fisiologi dan patologi adaptasi terhadap tekanan oksigen rendah (hipoksia) pada sel dan jaringan menyebabkan induksi transkripsi dari serangkaian gen yang berpartisipasi dalam angiogenesis, metabolisme besi, metabolisme glukosa, dan proliferasi sel. HIF-1 α merupakan aktivator angiogenik yang merangsang ekspresi gen pada keadaan hipoksia (*Hypoxia Responsive Genes*), misal gen yang menyandi enzim glikolitik seperti aldolase-A, anolase, LDH-A, dan VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) (Berra, et al., 2003). Faktor utama mediasi respon ini adalah *Hypoxia Inducible Factor-1* (HIF-1). Ekspresi dari HIF-1 secara pasti dikontrol oleh tekanan oksigen seluler (Chun, 2002).

2. Struktur HIF-1 α

Pada tingkat molekuler, kompleks HIF berisi subunit α dan subunit β . Keduanya masuk ke dalam kelompok faktor transkripsi yang berisi *basic helix-loop helix domain* dan *PAS domain* (*Per, Arnt/HIF-1 β* dan *Sim*). Subunit β HIF berespon xenobiotik, sedangkan subunit α berespon pada keadaan hipoksia. Terdapat 3 gen yang dikode oleh HIF

subunit α yang ditemukan pada mamalia, antara lain *HIF-1 α* , *HIF-2 α* dan *HIF-3 α* /*IPAS* (*IPAS* adalah inhibitor *PAS* protein).



Gambar 4. Domain Struktur Dari HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , HIF-1 β (Ke& Costa, 2006).

Kedua *domain transaktivasi*, *N-terminal (N-TAD)* dan *C-terminal (C-TAD)*. Pada *C-terminal* telah diketahui bahwa terdapat interaksi dengan koaktivators seperti *CBP/p300* untuk mengaktivasi transkripsi. HIF-1 α juga mengandung suatu *oksigen dependen degradation domain (ODDD)* yang diketahui sebagai mediasi stabilitas regulasi oksigen (Ke, 2006).

3. Regulasi HIF-1 α

Menurut penelitian Chun (2002) HIF-1 α tidak hanya diregulasi oleh tekanan oksigen seluler tetapi juga distimulasi oleh banyak faktor, antara lain nitrit oksida, jenis oksigen reaktif, *growth factors* dan stress

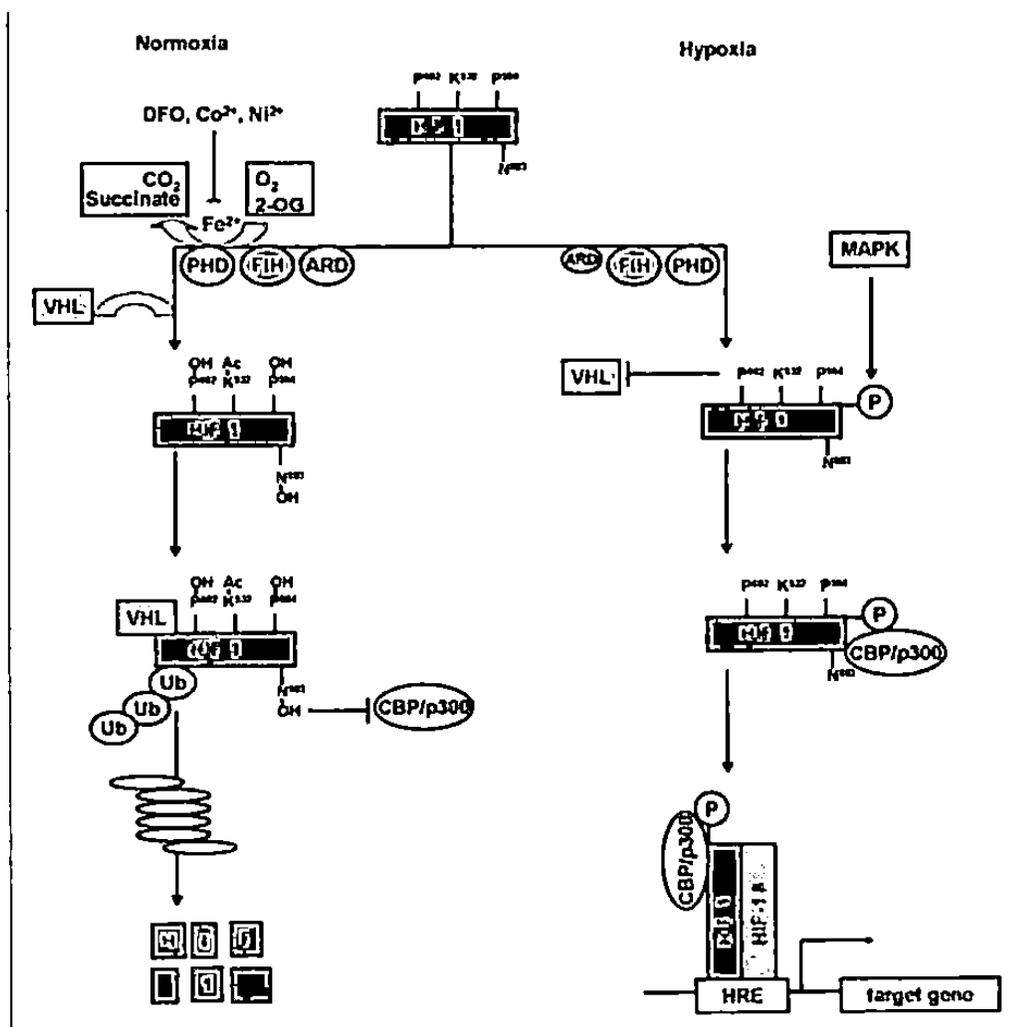
mekanik. Dikti lebih banyak mempunyai bab yang menggunakan bahasa pengantar non biokimia

pro-inflamasi termasuk sitokin di dalamnya dapat mengaktifkan HIF-1 α dalam kondisi normoksia dan memodulasi transkripsi gen yang terkait hipoksia. Dalam konteks yang lain juga komponen lipopolisakarida (LPS) dari bakteri yang sangat berpotensi menyebabkan peradangan mungkin berperan penting sebagai stimulator HIF-1 α yang terdapat di usus pada kondisi normoksia (Simiantonaki, *et al.*, 2008).

Suatu penelitian menyebutkan bahwa aktifitas HIF-1 α juga dipengaruhi oleh HER-2 (*Human Epidermal Growth Factor 2*). HER2 adalah suatu protein yang dikode oleh gen ERBB2 pada kromosom 17(17q21-q22) yang merupakan suatu protoonkogen yang menekan fungsi potensial dari *tumor suppressor gen* seperti p53, PTEN, dan VHL (*Von Hippel-Lindau*) dan meningkatnya aktivitas dari onkogen yang mengaktifasi fosfatidylinositol 3 kinase (PI3K), SRC, *Mitogen-Activated Protein (MAP) kinase signal* melalui *PI3K-AKP-FRAP pathway* yang menyebabkan kanker. Overekspresi HER-2 menyebabkan seluruh proses tersebut menstimulasi sintesis HIF-1 α (Laughner, *et al.*, 2001).

Protein HIF-1 mempunyai waktu hidup yang singkat (1/2-5 menit) dan diregulasi erat oleh oksigen. Pada keadaan normoksia, protein HIF-1 α secara cepat didegradasi, sehingga pada akhirnya tidak ada HIF-1 α yang terdeteksi. Saat hipoksia, HIF-1 α menjadi stabil dan mengalami translokasi dari sitoplasma ke nukleus, lalu bergabung dengan HIF-1 β dan menjadi aktif secara transkripsi. Aktivasi kompleks dari HIF-1 α berkolaborasi dengan HIF-1 β pada regulasi dari target gen dan

mengikat koaktifator proses transkripsi untuk menghasilkan ekspresi gen. Modifikasi dari HIF-1 α terjadi melalui beberapa mekanisme, pada normoksia, hidroksilasi dari dua residu proline dan asetilasi dari residu lisin pada ODDD menyebabkan interaksi dari HIF-1 α dengan protein *von hippel-lindau* (pVHL) ubiquitin kompleks E3 ligase. Setelah itu HIF-1 α akan didegradasi oleh 26S proteasome. Hidroksilasi dari asparagin pada C-TAD juga menghambat asosiasi dari HIF-1 α dengan CBP/p300 dan menghambat juga aktivitas transkripsi.



Gambar 5. Regulasi HIF-1 α Dan Proses Penstabilan Pada Keadaan

Pada keadaan normal atau normoxia, HIF asparaginil hidroksilase menambahkan sebuah atom oksigen ke karbon β -Asn803 untuk mencegah aktivasi dari CBP/P300. Stabilitas HIF dikendalikan oleh hidroksilasi prolyl. Keadaan normoxia menyebabkan hydroxylase prolyl HIF menambahkan sebuah atom oksigen ke Pro403 dan atau Pro564 untuk mengubah residu menjadi 4-hidroksiprolin. Multiprotein ligase E3 dikomplekskan dengan VHL menyebabkan *polyubiquitylation* dari subunit HIF- α , yang kemudian dihancurkan oleh proteasome (Maxwell, 2005).

Terdapat tiga *prolyl hidoksilase* HIF yang telah diidentifikasi antara lain, PHD1 (Falkor atau EglN3), PHD2 (C1ORF12 atau EglN1) dan PHD3 (SM-20 atau EglN3). Sampai sekarang, pengaruh kelebihan enzim tidak jelas, namun terdapat penelitian bahwa penurunan aktivitas PHD2 akan mengaktifkan HIF (Berra, *et al.*, 2003; Appelhoff, *et al.*, 2004).

Pada keadaan hipoksia, aktivasi dari PHD dan FIH-1 dihambat karena kurangnya oksigen, mengakibatkan tidak adanya proline dan hidroksilasi asparagin. Maka tidak ada juga ikatan dengan VHL sementara HIF-1 α menjadi stabil. Stabilisasi HIF-1 α mengakibatkan translokasi ke nukleus dan mengikat MAPK yang menginduksi bentuk fosforilasi dari HIF-1 α . N803 yang tidak terhidroksilasi akan memudahkan ikatan CBP/p300 dengan struktur HIF-1 α yaitu C-TAD, mengakibatkan transkripsi gen. Ekspresi dari ARD1 juga menurun pada keadaan hipoksia, menyebabkan HIF-1 α kurang teraktivasi (Ko, 2006).

4. Target Gen dari HIF-1 α

Sel dan organ membutuhkan adaptasi pada saat perubahan suplai oksigen, tidak mengejutkan bila kita menemukan berbagai macam gen target yang diregulasi oleh HIF-1 α pada beberapa jaringan. Sampai sekarang lebih dari 100 gen turunan HIF-1 α telah teridentifikasi dengan berbagai macam fungsi. Selebihnya dengan menggunakan mikroarrays, sekarang telah dilaporkan bahwa lebih dari 2% dari semua gen manusia diregulasi oleh HIF-1 α di sel arteri endotelial, secara langsung maupun tak langsung.

a. Eritropoiesis / Metabolisme Zat Besi

Untuk merespon keadaan hipoksia, kapasitas eritrosit untuk transport oksigen akan ditingkatkan oleh gen yang terlibat dalam proses eritropoiesis dan metabolisme zat besi. Hipoksia meningkatkan kadar *EPO*, yang dibutuhkan untuk pembentukan eritrosit. Peningkatan jumlah dari eritrosit akan memudahkan pengiriman oksigen ke jaringan (Ke, 2006).

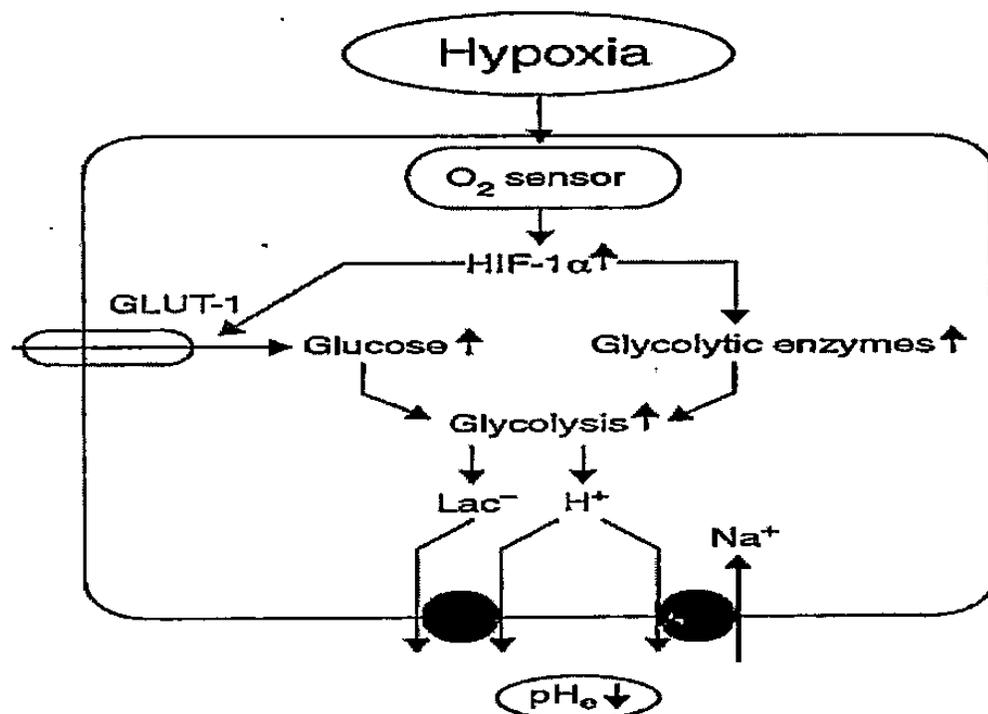
b. Angiogenesis

Angiogenesis adalah suatu proses kompleks yang melibatkan banyak gen yang di ekspresikan berbagai tipe sel. Banyak dari gen yang terlibat proses angiogenesis telah teridentifikasi melalui berbagai macam proses, diantar semuanya *vascular endothelial growth factor (VEGF)* adalah yang paling besar perannya, dan secara

terlibat dalam proses angiogenesis dengan menstimulasi sel

endothel ke area hipoksia dan avaskular (tidak ada vaskularisasi) dan menstimulasi proliferasi. Induksi dari VEGF dan berbagai macam faktor proangiogenik lainnya mengakibatkan peningkatan dari densitas vaskular dan menjaga tekanan oksigen tetap stabil. HIF-1 α meregulasi gen yang terlibat dalam proses vaskular seperti *nitric oxide synthase (NOS2)*, *heme oxygenase 1*, *endothelin1*, *adrenomedulin (ADM)*, dan *1 β adrenergic receptor*. HIF-1 α juga menginduksi gen untuk maturasi dan metabolisme matrix seperti *matrix metalloproteinase (MMPS)*, *plasminogen activator receptor and inhibitors (PAI)*, dan *collagen prolyl hydroxylase* (Ke, 2006).

c. Metabolisme glukosa



Gambar 6. Mekanisme HIF Dalam Glikolisis (Peter, 2004)

Keadaan hipoksia menyebabkan HIF memediasi perubahan proses glikolisis. Glikolisis adalah serangkaian reaksi biokimia di mana glukosa di oksidasi menjadi molekul asam piruvat. Proses glikolisis sendiri menghasilkan lebih sedikit energi per molekul glukosa dibandingkan dengan oksidasi aerobik yang sempurna. Energi yang dihasilkan disimpan dalam senyawa organik berupa *adenosine triphosphate* atau yang lebih umum dikenal dengan istilah ATP dan NADH (Goodsell, 2004).

Proses glikolisis aerob berganti dengan anaerob dengan cara pengaktifan *gen transporter glukosa (GLUT-1)* dan *enzim glikolisis* seperti aldolase A, phosphoglycerate kinase 1, dan piruvat kinase M yang akan meningkatkan proses glikolisis. Glikolisis merupakan pengubahan glukosa ($C_6H_{12}O_6$) menjadi piruvat ($CH_3COCOO^- + H^+$). Ion H^+ yang dihasilkan diangkut oleh laktat/ H^+ symporter dan Na^+/H^+ antiporter, menyebabkan penurunan pH ekstraseluler sehingga tingkat ATP dapat terjaga meski dalam keadaan aerob sekalipun (Peter, 2004).

d. Proliferasi sel

Hipoksia dan HIF-1 α menginduksi faktor pertumbuhan, seperti *insuline-like growth factor-2 (IGF-2)* dan *transforming growth factor (TGF)*. Berikatan dengan beberapa growth factors akan mengaktifasi sinyal transduksi untuk proliferasi sel dan

dan *growth factors* bisa mengaktifkan sinyal *MAPK* dan *P13K*, yang akan menstimulasi proliferasi sel seperti halnya HIF-1 α . Yang pada akhirnya akan meningkatkan aktivitas transkripsi dari HIF- α (Ke, 2006).

e. Apoptosis

Adaptasi sel pada keadaan hipoxia tidak hanya mengakibatkan sel berproliferasi tapi juga kematian sel pada beberapa bagian. Hipoxia telah dibuktikan mampu menstimulasi apoptosis, dimana HIF-1 α mempunyai peran kompleks. Aktivasi dari *caspase-3* dan *Apaf-1* yang memediasi *capcase-9* dan dilepaskannya *sitokrom c*, telah dilaporkan pada beberapa keadaan hipoxia. Hipoxia mengurangi kerja protein antiapoptosis *Bcl-2* sedangkan protein proapoptosis *Bcl-2/ adenovirus E1B 19-kDa interacting protein 3 (Bnip3)* dan homolognya *Nip-3* justru dinaikkan pada keadaan hipoxia. Beberapa gen juga mempunyai peran, seperti p53 dan p21. P53 telah diidentifikasi bahwa terlibat dalam regulasi apoptosis melalui stimulasi *apoptosis-related genes* seperti *Bax*, *NOXA*, *PUMA*, dan *PERP* (Ke, 2006).

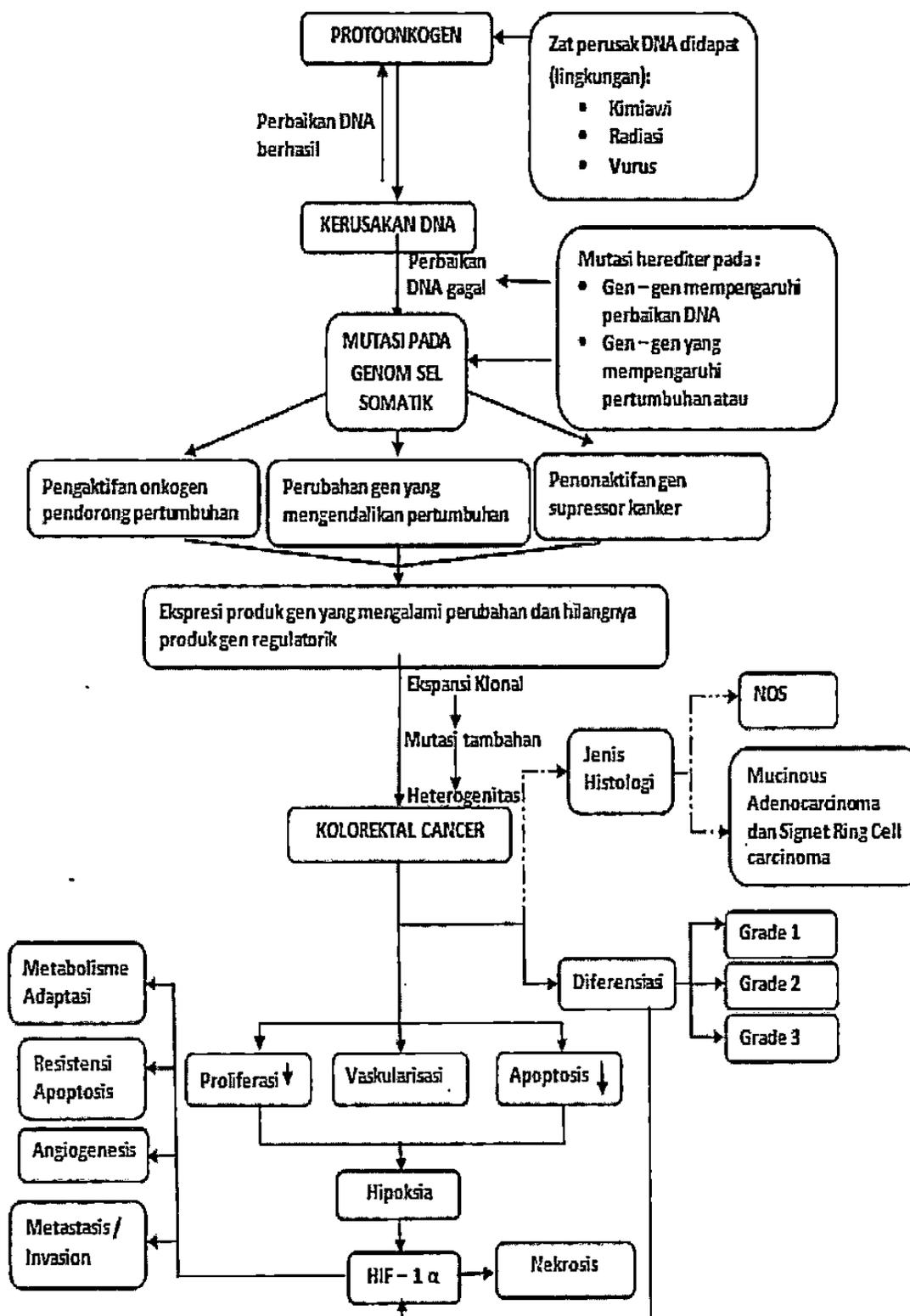
5. Peran HIF-1 α dalam Perkembangan Kanker

HIF-1 α merupakan satu faktor kunci yang mengawali terjadinya proses karsinogenesis dinilai secara histologi dan genetiknya. Ekspresi

diamati pada prostat, lambung, payudara, rongga servik, endometrium dan *colon*. Ekspresi faktor ini dalam berbagai kanker yang diderita manusia adalah bentuk konsekuensi dari hipoksia intratumor atau perubahan genetik. Bagian dalam dari massa tumor mengalami keadaan hipoksia yang progresif dan ukurannya membesar sampai tumor mendapat nutrisi yang adekuat dari pembuluh darah (Costa, 2006). Kondisi yang hipoksia pada tumor meningkatkan stabilitas dan aktivitas dari HIF-1. Analisis imunohistokimia menunjukkan bahwa level protein HIF-1 α dapat dideteksi di tumor jinak, peningkatan level pada tumor primer ganas, dan pada metastasis tumor, dan tidak ditemukan pada jaringan normal (Harris, 2002).

Hilangnya fungsi dari gen p-53 yang ditemukan pada sebagian besar kanker, dapat meningkatkan level HIF-1 α dan memacu transkripsi yang tergantung oleh HIF pada kanker meningkat (Costa, 2006)

B. Kerangka Konsep



— = Hubungan yang diteliti

— = Hubungan yang tidak diteliti

C. Hipotesis

Terdapat hubungan ekspresi HIF-1 α yang berbanding lurus dengan derajat diferensiasi kanker kolorektal