

Hubungan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dengan Derajat Diferensiasi dan Invasi Limfovaskular pada Karsinoma Urotelial Infiltratif Kandung Kemih

Dini Andri Utami¹, Salmiah Agus¹, Yenita¹, Husna Yetti²

¹Departemen Patologi Anatomi, ²Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat
Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas
Padang

Received : 26-04-2021

Accepted : 25-05-2021

Published : 02-05-2022

Penulis korespondensi: Prof. dr. Salmiah Agus, SpPA(K)

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas

Jl. Perintis Kemerdekaan, Padang 30126.

e-mail: dinioks84@gmail.com salmiah.agus@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang

Karsinoma urotelial merupakan keganasan terbanyak di kandung kemih dengan insiden mencapai 95% dan 70-85% diantaranya merupakan karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih. Untuk meningkatkan penanganan pada karsinoma urotelial kandung kemih, diperlukan adanya faktor prognostik. Salah satu faktor tersebut adalah angiogenesis, yang mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan dan metastasis. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) adalah faktor pro-angiogenik utama untuk mengontrol angiogenesis. Ekspresi VEGF berhubungan dengan progresivitas karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih, seperti derajat diferensiasi, dan invasi limfovaskular. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hubungan ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi dan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian sebanyak 48 kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih di empat Laboratorium Patologi Anatomi di Sumatera Barat tahun 2018 dan 2019. Sampel diperoleh dari kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih kemudian dilakukan reevaluasi slide *Hematoxylin Eosin* (H&E) berupa derajat diferensiasi dan invasi limfovaskular. Ekspresi VEGF pada sel tumor dinilai dengan pewarnaan imunohistokimia. Analisis statistik bivariat menggunakan uji *Fisher's Exact* dengan $p < 0,05$ dianggap bermakna.

Hasil

Karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih derajat tinggi lebih banyak dengan ekspresi VEGF positif (91,7%), sedangkan pada derajat rendah lebih banyak dengan ekspresi VEGF negatif (58,3%). Pada invasi limfovaskular positif lebih banyak ditemukan ekspresi VEGF positif (75%). Analisis statistik menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi ($p = 0,001$) dan invasi limfovaskular ($p = 0,004$).

Kesimpulan

Ekspresi VEGF mempunyai hubungan bermakna dengan derajat diferensiasi dan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

Kata kunci: karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih, ekspresi VEGF, derajat diferensiasi, invasi limfovaskular.

The Correlation of VEGF Expression with Grade of Differentiation and Lymphovascular Invasion in Bladder Infiltrating Urothelial Carcinoma

ABSTRACT

Background

Urothelial carcinoma is the most common malignancy in the bladder with an incidence up to 95% and 70-85% of them are bladder infiltrating urothelial carcinoma. To improve the management of bladder urothelial carcinoma, prognostic factors are required. One such factor is angiogenesis, which affects growth, development and metastasis. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the main pro-angiogenic factor to control angiogenesis. Expression of VEGF is correlated with progression of bladder infiltrating urothelial carcinoma, such as grade and lymphovascular invasion. The aim of this study was to determine the correlation of VEGF expression with grade of differentiation and lymphovascular invasion in bladder infiltrating urothelial carcinoma.

Methods

This research was a retrospective observational cross sectional study with 48 cases of bladder infiltrating urothelial carcinoma in four Anatomical Pathology Laboratory in West Sumatera 2018 and 2019. Samples were reevaluated of HE slide for grade of differentiation and lymphovascular invasion. VEGF expressions in tumor cells were analyzed using immunohistochemistry staining. Bivariate statistical analysis used *Fisher's Exact* test and value $p < 0.05$ was considered significant.

Results

Bladder infiltrating urothelial carcinoma high grade had more positive VEGF expression (91.7%), while low grade had more negative VEGF expression (58.3%). Lymphovascular invasion positive was mostly found with positive VEGF expression (75%). Statistical analysis showed significant correlation between VEGF expression with grade of differentiation ($p = 0.001$) and lymphovascular invasion ($p = 0.004$).

Conclusion

The conclusion was VEGF expression had significant correlation with grade of differentiation and lymphovascular invasion of bladder infiltrating urothelial carcinoma.

Keywords: bladder infiltrating urothelial carcinoma, VEGF expression, grade of differentiation, lymphovascular invasion.

PENDAHULUAN

Karsinoma urotelial merupakan keganasan terbanyak di kandung kemih dengan insiden mencapai 95% dan 70-85% di antaranya merupakan karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.^{1,2} Secara epidemiologi, karsinoma ini banyak ditemukan pada laki-laki dan usia tua, menduduki peringkat ke-7 pada laki-laki dan ke-17 pada perempuan dari seluruh kasus keganasan di dunia.³ Insiden karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih yang diteliti sejak tahun 1973-2014 mengalami peningkatan setiap tahunnya berdasarkan *Surveillance, Epidemiology, and Result* (SEER), yaitu mencapai angka 47,21 kasus per 100.000 penduduk pada laki-laki dan 11,48 kasus per 100.000 penduduk pada perempuan.¹ Data dari Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (BRK-IAP) tahun 2014 melaporkan kanker kandung kemih menempati urutan ke-6 dari 10 tumor primer tersering pada laki-laki di Indonesia. Sedangkan data IAP cabang Padang tahun 2014 mencatat kanker kandung kemih menempati urutan ke-8 dari 10 tumor primer tersering pada laki-laki.⁴

Pada karsinoma urotelial kandung kemih, ada banyak perubahan molekuler yang terlibat dalam proses sel seperti proliferasi, diferensiasi, motilitas, angiogenesis, invasi, metastasis, dan apoptosis. Untuk meningkatkan penanganan pada karsinoma urotelial kandung kemih, diperlukan adanya faktor prognostik dan/atau biomarker prediktif.⁵ Berbagai penanda molekuler, seperti pengatur siklus sel, promotor proliferasi, modulator apoptosis, dan regulator angiogenesis, telah ditemukan terkait dengan derajat diferensiasi tumor.⁶

Proses metastasis karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih hampir sama dengan proses metastasis pada tumor ganas umumnya yaitu melalui pembuluh darah dan pembuluh limfatik.⁷ Proses penyebaran sel tumor melalui pembuluh darah dan limfatik ini dapat dilihat dengan ditemukannya sel-sel tumor dalam limfovaskular pada pemeriksaan histopatologik. Definisi invasi limfovaskular yaitu ditemukannya sel-sel tumor di dalam lumen atau menempel pada dinding pembuluh limfatik maupun pembuluh darah.⁸⁻¹⁰ Menurut Mazzhucelli *et al.* invasi limfovaskular ditemukan sekitar 25-50% pada kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih dan hal ini berhubungan dengan derajat keganasan.¹¹ Penelitian analisis multivariat mengungkapkan bahwa invasi limfovaskular terbukti menjadi faktor prognostik independen pada jaringan

biopsi yang diambil melalui tindakan *Trans urethral resection of bladder tumour* (TURBT) untuk karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih stadium T1.¹⁰ Leissner *et al.* dan Bassi *et al.* menyatakan bahwa invasi limfovaskular dapat menjadi faktor prognostik pada pasien karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.^{12,13} Invasi limfovaskular yang diidentifikasi pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih berhubungan dengan metastasis nodal pada 41% kasus.¹⁴

Pertumbuhan, perkembangan dan metastasis karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih dipengaruhi oleh angiogenesis.² Proses angiogenesis diregulasi oleh faktor pro-angiogenik. Beberapa contoh pro-angiogenik penting adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor β* (TGF- β), dan *angiopoietin*. Di antara faktor pro-angiogenik tersebut, VEGF adalah faktor pro-angiogenik utama/dominan dan memiliki kriteria sebagai *direct-acting angiogenesis growth factor* untuk mengontrol angiogenesis.¹⁵ Angiogenesis tumor terjadi sebagai respon terhadap interaksi antara sel kanker dan sel endotel dan dimediasi oleh sitokin dan faktor pertumbuhan. Sel kanker dan sel endotel mensekresikan faktor pertumbuhan yang dapat meningkatkan proliferasi dan migrasi kedua sel tersebut. Sitokin atau faktor pertumbuhan yang disekresikan oleh sel endotel vaskular atau sel kanker ke dalam lingkungan mikro tumor dapat mendorong proliferasi, migrasi, dan invasi sel karsinoma urotelial kandung kemih. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang disekresikan oleh sel tumor secara khusus mengikat reseptornya VEGFR-1 dan VEGFR-2 pada sel endotel melalui jalur pensinyalan PI3K/AKT dan *extracellular signal-regulated kinase* (ERK).²

Pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih ditemukan hubungan ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi, invasi limfovaskular, stadium penyakit dan metastasis kelenjar getah bening. Penelitian Behl *et al.* menemukan ekspresi VEGF lebih tinggi pada karsinoma urotelial infiltratif derajat tinggi dibandingkan dengan karsinoma urotelial infiltratif derajat rendah.¹⁶ Sebaliknya penelitian Al-Abbasi *et al.* pada 54 penderita karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih didapatkan tidak ada hubungan antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi.¹⁷

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang hubungan ekspresi *Vascular*

Endothelial Growth Factor (VEGF) dengan derajat diferensiasi dan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih di 4 laboratorium Patologi Anatomi di Sumatera Barat. Data ini dapat digunakan sebagai tambahan nilai prognosis dalam pemantauan kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan desain *cross sectional*. Populasi penelitian adalah semua kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih yang telah didiagnosis di empat laboratorium Patologi Anatomi di Sumatera Barat yaitu Sentra Diagnostik Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RSUP M. Djamil Padang, RSI Ibnu Sina Padang dan RS Ahmad Mochtar Bukittinggi tahun 2018 dan 2019. Sampel penelitian adalah kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih yang mempunyai data lengkap meliputi umur, jenis kelamin, melalui tindakan operasi TURBT dengan minimal 3 potongan jaringan tumor. Pada 48 sampel yang diambil secara *simple random sampling* dilakukan reevaluasi slide HE berupa derajat diferensiasi dan invasi limfovaskular.

Penilaian derajat diferensiasi karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih berdasarkan klasifikasi WHO 2016 yaitu derajat rendah dan derajat tinggi. Kriteria derajat rendah menunjukkan arsitektur sitologi dan variasi polaritas, inti menunjukkan pembesaran dan ketidakteraturan, kromatin vesikular, dan anak inti dapat terlihat, mitosis atipik dapat ditemukan. Sedangkan derajat tinggi menunjukkan polaritas yang jelas-jelas tidak teratur dengan atipia inti pleomorfik, dengan anak inti yang jelas, mitosis atipik mudah ditemukan.^{18,19} Invasi limfovaskular adalah ditemukannya sel-sel tumor di dalam lumen atau menempel pada dinding pembuluh limfatik maupun pembuluh darah. Hasil penilaian invasi limfovaskular adalah positif dan negatif.⁸⁻¹⁰

Blok parafin sampel penelitian dipotong ulang untuk dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi primer VEGF-A dengan pengenceran 1:200 (Finetest, *antibody monoclonal*). Metode pewarnaan imunohistokimia yang digunakan adalah *Avidin Biotin Complex* (ABC), yang dilakukan dengan prosedur manual di laboratorium Patologi Anatomi RS Sardjito, Yogyakarta. Penilaian ekspresi VEGF positif pada sitoplasma dan atau pada membran sel.²⁰ Penilaian ekspresi VEGF berdasarkan skoring intensitas warna

dan persentase sel yang imunopositif minimal 10 lapangan pandang dengan menggunakan lensa objektif 40x. Berdasarkan intensitas warna dibagi menjadi 4 level skor yaitu (0): tidak terwarnai, (1): terwarnai ringan/lemah (kekuning-kuningan), (2): terwarnai sedang (coklat-kuning), (3): terwarnai maksimal/kuat (coklat tua) (Gambar 2.11).^{16,21} Sedangkan persentase sel yang positif dibagi menjadi 4 level skor juga yaitu (0): tidak terwarnai, (1): <25%, (2): 25-50%, (3): >50%. Penilaian hasil akhir imunohistokimia untuk VEGF adalah nilai skor intensitas pewarnaan dan persentase sel positif yang ditambahkan yaitu (-): skor 0, (+): skor 1-2 poin, (++) : skor 3-4 poin, (+++) : skor 5-6 poin. Penilaian (-) yaitu negatif dan (+, ++, +++) positif.¹⁶

Analisis univariat berupa data deskriptif karakteristik karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih yaitu umur, jenis kelamin, derajat diferensiasi, invasi limfovaskular dan ekspresi VEGF. Uji statistik yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi dan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih adalah *Fisher's Exact test*. Uji statistik dianggap bermakna apabila nilai $p < 0,05$.

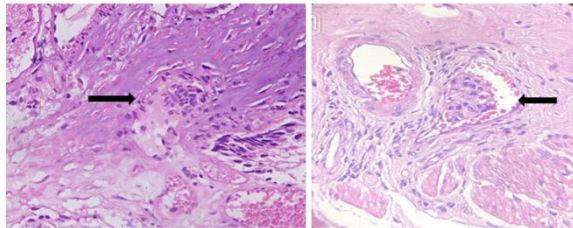
HASIL

Kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih terbanyak ditemukan pada kelompok usia 61-70 tahun yaitu 16 kasus (33,3%) dengan rata-rata usia penderita adalah 61 tahun. Jenis kelamin laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan dengan perbandingan 3,8:1. Derajat diferensiasi karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih terbanyak adalah derajat tinggi yaitu 38 kasus (79,2%). Invasi limfovaskular positif (Gambar 1) ditemukan sebanyak 62,5% dan ekspresi VEGF positif ditemukan pada 36 kasus (75%). Karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada derajat diferensiasi tinggi lebih banyak ekspresi VEGF positif (91,7%), sedangkan pada derajat rendah lebih banyak dengan ekspresi VEGF negatif (58,3%). Secara statistik terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih dengan nilai $p = 0,001$. Hasil pewarnaan imunohistokimia VEGF dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa invasi limfovaskular lebih banyak pada ekspresi VEGF positif (75%) dibandingkan ekspresi VEGF negatif (25%). Secara statistik

terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF dengan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih dengan nilai $p=0,004$.



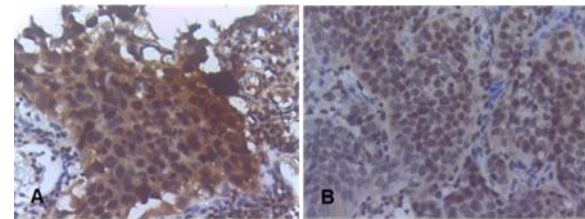
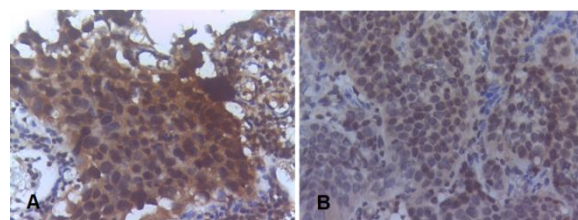
Gambar 1. Invasi limfovaskular positif (Panah), pewarnaan HE pembesaran 400x.

Tabel 1. Karakteristik klinikopatologik karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

Variabel	n = 48	%
Usia		
Rata-rata	61	
31-40 tahun	4	8,3
41-50 tahun	5	10,4
51-60 tahun	15	31,2
61-70 tahun	16	33,3
71-80 tahun	6	12,5
> 81 tahun	2	4,2
Jenis kelamin		
Laki-laki	38	79,2
Perempuan	10	20,8
Derajat diferensiasi		
Derajat tinggi	38	79,2
Derajat rendah	10	20,8
Invasi limfovaskular		
Positif	30	62,5
Negatif	18	37,5
Ekspresi VEGF		
Positif	36	75
Negatif	12	25

Tabel 2. Hubungan ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

Karakteristik	Derajat diferensiasi		Total f (%)	p-value
	Derajat rendah f (%)	Derajat tinggi f (%)		
Ekspresi VEGF				
Negatif	7 (58,3%)	5 (41,7%)	12 (100%)	0,001
Positif	3 (8,3%)	33 (91,7%)	36 (100%)	



Gambar 2. Gambaran Ekspresi VEGF pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih (pembesaran asli 400x). A. Ekspresi VEGF positif dengan intensitas kuat (derajat tinggi). B. Intensitas sedang (derajat tinggi). C. Intensitas lemah (derajat tinggi). D. Ekspresi negatif (derajat rendah).

Tabel 3. Hubungan ekspresi VEGF dengan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

Karakteristik	Invasi limfovaskular		Total f (%)	p-value
	Negatif f (%)	Positif f (%)		
Ekspresi VEGF				
Negatif	9 (75%)	3 (25%)	12 (100%)	0,004
Positif	9 (25%)	27 (75%)	36 (100%)	

DISKUSI

Pada penelitian ini kelompok usia terbanyak karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih adalah usia 61-70 tahun. Hal ini memiliki kesamaan dengan penelitian Syafa'ah dkk (2015) di RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang yang menunjukkan bahwa kasus karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih terbanyak pada kelompok usia 61-70 tahun yaitu 27,3%, dengan jenis kelamin laki-laki lebih banyak dari perempuan yaitu 80,3%.²² Penelitian Pandu dkk di RSUP NTB periode tahun 2017-2018 juga didapatkan hasil yang memiliki kesamaan yaitu kasus terbanyak berada pada rentang usia 50-80 tahun, sebanyak 32 kasus pada tahun 2017 dan meningkat menjadi 38 kasus pada tahun 2018, dengan perbandingan antara laki-laki dan perempuan adalah 3,8:1.²³ Usia rata-rata karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih yang didapatkan dari penelitian ini sejalan dengan data Rumah Sakit Hasan Sadikin (RSHS) Bandung dalam 7 tahun terakhir yaitu 60,8 tahun, dengan usia terbanyak >60 tahun, dan rasio laki-laki:perempuan adalah 6:1. Data di RS Soetomo selama 5 tahun (2008-2012), juga didapatkan hasil yang sama yaitu usia rata-rata 60,6 tahun dan terbanyak pada usia >60 tahun dengan rasio perbandingan laki-laki dan perempuan 4,2:1.²⁴

Karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih pada penelitian ini banyak ditemukan pada usia tua dan berdasarkan jenis kelamin banyak terjadi pada laki-laki yaitu 79,2%. Hal ini kemungkinan dikaitkan dengan faktor risiko

seperti kebiasaan merokok pada laki-laki lebih sering dibandingkan pada perempuan. Senyawa nitrosamin pada rokok dapat berikatan dengan tryptophan sehingga membentuk nitrosamin mutagenik. Nitrosamin mutagenik ini akan berikatan dengan DNA sehingga proses sintesis protein dan kerja enzim pada siklus sel mengalami gangguan yang akan memicu karsinogenesis.¹⁸ Teori penuaan dan mutasi genetik menjelaskan bahwa terdapat akumulasi material genetik yang mengalami penurunan fungsi seiring dengan pertambahan usia, khususnya inaktivasi p53. Seiring dengan pertambahan usia akan terjadi mutasi DNA yang terus terakumulasi, telomer akan memendek secara progresif, kerusakan mitokondria, dan beberapa kerusakan DNA lainnya yang dapat mengganggu kontrol dari proses proliferasi sel dan kontrol terhadap kerusakan sel. Kerusakan ini kemungkinan juga bisa didukung oleh faktor risiko eksternal yaitu efek akumulasi lamanya paparan terhadap zat karsinogen, seperti paparan rokok, paparan pekerjaan, dan paparan bahan kimia.^{18,25}

Derajat diferensiasi yang terbanyak pada penelitian ini adalah karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih derajat tinggi sebanyak 79,2%. Hal ini senada dengan penelitian Syafa'ah dkk (2015) di RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang tahun 2009-2013 yang mendapatkan karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih terbanyak pada derajat tinggi yaitu 71,2%.²² Hal ini kemungkinan bisa dikaitkan dengan salah satu faktor risiko karsinoma urotelial kandung kemih yang sering terjadi pada usia tua. Teori penuaan menjelaskan bahwa terdapat akumulasi material genetik yang mengalami penurunan fungsi seiring dengan pertambahan usia, khususnya inaktivasi p53. Mutasi TP53 yang mengkode protein supresor tumor p53, sangat penting dalam perkembangan karsinoma urotelial derajat rendah menjadi karsinoma urotelial derajat tinggi. Mutasi TP53 menyebabkan perubahan protein yang resisten terhadap degradasi melalui jalur *ubiquitin* dan menghasilkan akumulasi kerusakan p53. Hal ini mengakibatkan perkembangan disregulasi sel melalui *checkpoint* G1-S dan memicu perkembangan derajat diferensiasi tumor menjadi derajat tinggi.⁶

Invasi limfovaskular pada penelitian ini didapatkan hasil positif sebanyak 30 kasus (62,5%). Penelitian Fukumoto *et al.* (2016) ditemukan invasi limfovaskular sebanyak 30 kasus (25,9%).¹⁰ Invasi limfovaskular menjadi faktor prognostik penting untuk kelangsungan hidup pada pasien karsinoma urotelial

kandung kemih. Studi menunjukkan bahwa status invasi limfovaskular yang ditemukan pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih harus dipertimbangkan sebagai faktor penting dalam *staging* TNM untuk rencana terapi pada pasien dengan karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.^{26,27} Pada penelitian dikatakan invasi limfovaskular yang diidentifikasi pada karsinoma urotelial kandung kemih berhubungan dengan metastasis nodal pada 41% kasus.¹⁴ Secara relatif, invasi limfovaskular dan N1 secara prognostik serupa, dan keduanya terkait dengan prognosis yang lebih buruk bila dibandingkan dengan N0.⁹

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi VEGF positif yaitu 36 kasus (75%). Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil studi Yang, *et al.* (2015) di mana ekspresi VEGF positif diperoleh 74,4% kasus.²⁰ Temuan ini mendekati laporan Al-Abbasi, *et al.* (2009) dengan ekspresi VEGF positif sebanyak 77,77% kasus¹⁷ dan hasil studi Guntarno NC dkk (2020) diperoleh ekspresi VEGF positif 79,63% kasus.²¹

Vascular endothelial growth factor merupakan faktor pro-angiogenik utama untuk mengontrol angiogenesis pada kanker.¹⁵ Pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih dikatakan bahwa pertumbuhan, perkembangan dan metastasis tumor ini dipengaruhi oleh angiogenesis. Angiogenesis tumor terjadi sebagai respon terhadap interaksi antara sel kanker dengan sel endotel. VEGF mempromosikan angiogenesis melalui peningkatan permeabilitas, aktivasi, ketahanan hidup, migrasi, invasi dan proliferasi sel endotel.²

Ekspresi VEGF lebih tinggi pada jaringan karsinoma urotelial kandung kemih daripada di mukosa normal. Oleh karena itu, penanda ini dapat digunakan sebagai penanda diagnostik untuk pasien dengan karsinoma urotelial kandung kemih.. Ekspresi VEGF berhubungan dengan derajat diferensiasi, stadium tumor, dan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial kandung kemih. VEGF dapat menjadi penanda prognostik potensial pada karsinoma urotelial kandung kemih. Ekspresi VEGF yang tinggi dikaitkan dengan progresivitas tumor, metastasis pada kelenjar getah bening atau metastasis jauh, prognosis buruk, dan kelangsungan hidup. Pasien dengan ekspresi VEGF yang tinggi memiliki kelangsungan hidup yang lebih pendek. Mengingat peran penting VEGF pada patogenesis karsinoma urotelial kandung kemih, penargetan terapi antiangiogenik VEGF terus dikembangkan. Perannya terus berlanjut diselidiki sebagai terapi adjuvan dan

neoadjuvan untuk karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.²⁸

Penelitian ini menunjukkan hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi ($p=0,001$). Hasil yang sama dilaporkan oleh Behl, *et al.* (2017) bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi ($p<0,05$).¹⁶ Penelitian Yang, *et al.* (2015) juga memperoleh hubungan ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi ($p<0,05$).²⁰ Sebaliknya penelitian Nabeel Ahmed *et al.* (2015) dan Al-Abbasi *et al.* (2009) pada 54 penderita karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih, didapatkan tidak ada hubungan antara ekspresi VEGF dengan derajat diferensiasi.¹⁷ Perbedaan ini kemungkinan dapat disebabkan oleh perbedaan jumlah sampel, perbedaan kriteria skoring dan tipe antibodi yang digunakan. Saat ini belum ada metode standar yang seragam untuk menilai ekspresi VEGF. Metode penilaian yang digunakan yaitu secara semikuantitatif, mencakup penilaian persentase sel tumor yang terwarnai dan intensitas pewarnaan di dalam tumor. Sistem penilaian semikuantitatif ekspresi VEGF pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih terutama fokus pada penilaian manual dan kategorikal yaitu sel tumor menunjukkan pewarnaan sitoplasma yang terpulas jelas.^{5,16,17}

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah faktor pro-angiogenik dominan yang berhubungan dengan progresi tumor pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih. Sel kanker dan sel endotel mensekresikan faktor pertumbuhan yang dapat meningkatkan proliferasi dan migrasi kedua sel tersebut. Sitokin atau faktor pertumbuhan yang disekresikan oleh sel endotel vaskular atau sel kanker ke dalam lingkungan mikro tumor dapat mendorong proliferasi, migrasi, dan invasi sel karsinoma urotelial kandung kemih, dan hal ini akan mempengaruhi derajat diferensiasi. VEGF yang disekresikan oleh sel tumor secara khusus mengikat reseptornya VEGFR-1 dan VEGFR-2 pada sel endotel melalui jalur pensinyalan PI3K/AKT dan *extracellular signal-regulated kinase* (ERK).² VEGFR-2 merupakan mediator utama pada angiogenesis tumor yang distimulasi oleh VEGF untuk mempromosikan pembentukan pembuluh darah baru dan progresi tumor.^{29,30}

Vascular endothelial growth factor menggunakan peran parakrin dan autokrin dalam perkembangan tumor. Pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih, ekspresi VEGF yang tinggi secara signifikan berhubungan dengan derajat diferensiasi tinggi.³¹

Namun, studi lain ada yang menunjukkan kebalikan, di mana ekspresi VEGF lebih tinggi pada derajat diferensiasi rendah. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi VEGF ini sudah dimulai sejak perkembangan tumor primer. Levelnya meningkat hingga mencapai titik tertentu pada karsinoma urotelial kandung kemih. Setelah itu, terjadi pengurangan destabilisasi vaskular dan penurunan formasi pembuluh darah baru, menunjukkan adanya keseimbangan antara regresi pembuluh darah dan pertumbuhan vaskular.²⁸

Penelitian ini juga menunjukkan hubungan yang bermakna antara ekspresi VEGF dengan invasi limfovaskular pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih dengan nilai $p=0,004$ ($p<0,05$). Hasil ini sejalan dengan penelitian Poyet, *et al.* (2017) bahwa terdapat hubungan signifikan antara ekspresi VEGF dengan invasi limfovaskular ($p<0,05$).³²

Neovaskularisasi diperlukan untuk invasi dan metastasis sel tumor, diregulasi oleh angiogenesis, di mana mediator utama angiogenesis tumor adalah VEGF. Proses invasi dan metastasis sel tumor melalui tahapan lepasnya sel tumor dari tumor primer, degradasi membran basal, intravasasi sel tumor, ekstrasvasi ke organ target, dan akhirnya melakukan proses proliferasi pada organ target tersebut.³¹

Pertumbuhan, perkembangan, dan metastasis pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih tergantung pada angiogenesis ini. VEGF dikatakan berperan dalam invasi dan penyebaran tumor dengan meningkatkan ekspresi faktor yang terlibat dalam perkembangan dan pematangan pembuluh limfatik. Telah terlihat bahwa ekspresi VEGF dan reseptornya VEGFR-2 secara signifikan lebih tinggi pada karsinoma urotelial infiltratif dibandingkan pada karsinoma urotelial non-infiltratif, dan temuan ini terkait dengan kekambuhan penyakit. Selain itu, penelitian yang sama juga menunjukkan ekspresi VEGF yang lebih tinggi secara signifikan pada jaringan tumor dibandingkan pada mukosa kandung kemih normal yang berdekatan. Pada karsinoma urotelial kandung kemih yang menginfiltrasi otot dengan invasi limfovaskuler (+) menunjukkan overekspresi *microvascular endothelial cells* (MEC) setelah distimulasi oleh VEGF-A. Peran VEGF-A dikatakan sebagai pemicu metastasis pada kelenjar getah bening dan menunjukkan keterlibatannya dalam perkembangan *non-muscle invasive bladder carcinoma* (NMIBC) menjadi *muscle invasive bladder carcinoma* (MIBC).

Faktanya, pasien dengan metastasis karsinoma urotelial yang diobati dengan antibodi monoklonal (yaitu, *bevacizumab*) target terapi VEGF-A menunjukkan hasil yang lebih baik.³²

KESIMPULAN

Ekspresi VEGF menunjukkan hubungan yang bermakna dengan derajat diferensiasi dan invasi limfovasklar pada karsinoma urotelial infiltratif kandung kemih.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al-Husseini MJ, Kunbaz A, Saad AM, Santos JV, Salahia S, Iqbal M, *et al.* Trends in the incidence and mortality of transitional cell carcinoma of the bladder for the last four decades in the USA: a SEER-based analysis. *BMC Cancer*. 2019;19(1):46. doi: 10.1186/s12885-019-5267-3.
2. Huang Z, Zhang M, Chen G, Wang W, Zhang P, Yue Y, *et al.* Bladder cancer cells interact with vascular endothelial cells triggering EGFR signals to promote tumor progression. *Int J Oncol*. 2019; 54:1555-66.
3. Redondo-Gonzalez E, de Castro LN, Moreno-Sierra J, Maestro de las Casas ML, Vera-Gonzalez V, Ferrari DG, *et al.* Bladder carcinoma data with clinical risk factors and molecular markers: a cluster analysis. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1-14.
4. Kanker di Indonesia tahun 2014 data histopatologik. Jakarta: Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia; 2018.
5. Mirzaei H, Sabetrasekh P, Sabetrasekh P, Parvin M, Torbati P, Hajian P. Prevalence of the vascular endothelial growth factor receptor (VEGER) in transitional cell carcinoma (TCC) of bladder and its relationship with other prognostic factors. *Int J Cancer Manag*. 2018;In Press. Available from: <https://sites.kowsarpub.com/ijcm/articles/66188.html>
6. Zhao M, He X-L, Teng X-D. Understanding the molecular pathogenesis and prognostics of bladder cancer: an overview. *Chin J Cancer Res*. 2016;28(1):7.
7. Afonso J, Lara L, Longatto-Filho A. Angiogenesis, Lymphangiogenesis and lympho-vascular invasion: prognostic impact for bladder cancer patients. In: Canda AE, editor. *Bladder Cancer- From Basic Science to Robotic Surgery* [Internet]. InTech; 2012 [cited 2020 Oct 19]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/bladder-cancer-from-basic-science-to-robotic-surgery/angiogenesis-lymphangiogenesis-and-lymphovascular-invasion-prognostic-impact-for-bladder-cancer-pati>
8. Ukai R, Hashimoto K, Nakayama H, Iwamoto T. Lymphovascular invasion predicts poor prognosis in high-grade pT1 bladder cancer patients who underwent transurethral resection in one piece. *Japanese J Clin Oncol*. 2017;47:447-52.
9. Yuk HD, Jeong CW, Kwak C, Kim HH, Ku JH. Lymphovascular invasion have a similar prognostic value as lymph node involvement in patients undergoing radical cystectomy with urothelial carcinoma. *Scientific Reports* [Internet]. 2018 Dec [cited 2020 Apr 22];8(1). Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-34299-6>
10. Fukumoto K, Kikuchi E, Mikami S, Miyajima A, Oya M. Lymphovascular invasion status at transurethral resection of bladder tumors may predict subsequent poor response of T1 tumors to bacillus Calmette-Guérin. *BMC Urol* [Internet]. 2016 Dec [cited 2020 Aug 12];16(1):5. Available from: <http://bmcurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12894-016-0122-1>
11. Mazzuchelli R, Cheng L, Beltran A, Scarpelli M, Montironi R. Clinicopathological significance of lymphovascular invasion of urothelial carcinoma. *Anal Qu Cyt Histol*. 2012;34:173-9.
12. Leissner J, Koeppen C, Wolf HK. Prognostic significance of vascular and perineural invasion in urothelial bladder cancer treated with radical cystectomy. *J Urol*. 2003;169:955-60.
13. Bassi P, Ferrante GD, Piazza N, Spinadin R, Carando R, Pappagallo G, *et al.* Prognostic factors of outcome after radical cystectomy for bladder cancer: a retrospective study of a homogeneous patient cohort. *J Urol*. 1999;161:1494-7.
14. Mazzucchelli R, Scarpelli M, Lopez-Beltran A, Cheng L, Di Primio R, Montironi R. A Contemporary Update and Pathology Reporting for Urinary Bladder Cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012;25:565-71.
15. Piulats J, Mitjans F. *Angiogenesis Switch Pathways*. New Jersey: Humana Press. 2008;p.239-51.
16. Behl V, Harsh M, Chauhan N, Biswas M. Expression of vegf in patients of urinary bladder carcinoma. 2017;4:3393-6.

17. Al-Abbasi DS, Al-Janabi AA, Al-Toriahi KM, Jabor TA, Yasseen AA. Expression of VEGF in urinary bladder transitional cell carcinoma in an Iraqi population subjected to depleted uranium. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2009;17:307-11.
18. Holger Moch, Peter A. Humphrey, Thomas M. Ulbright, Victor E. Reuter. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2016.
19. Bostwick DG, Cheng L, editors. *Urologic surgical pathology*. Third edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2014. 966 p.
20. Yang H, Wang Z, Guo Y, Wang Z. Correlation and Significance of Urinary Soluble Fas and Vascular Endothelial Growth Factor in Bladder Urothelial Cancer. *Dis Markers*. 2015; 2015:383509. doi: 10.1155/2015/383509. Epub 2015 Dec 20.
21. Guntarno NC, Rahaju AS, Kurniasari N. The Role of MMP-9 and VEGF in the Invasion State of Bladder Urothelial Carcinoma. *Indones Biomed J*. 2021;13:61-7.
22. Syafa'ah AN, Maulani H, Suciati T. Angka Kejadian Karsinoma Urothelial di Bagian Patologi Anatomi RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang Periode Tahun 2009-2013. 2015;(1):7.
23. Pandu PA, Pandu IN, Marie YA. Insidensi Penyakit Kanker Buli-buli di RSUD Provinsi Nusa Tenggara Barat periode 2017-2018. *JKU*. 2019;8(2):1. Available from: <http://jku.unram.ac.id/article/view/332>
24. Umbas R, Hardjowijoto S, Mochtar CA, Safriadi F, Djatisoesanto W, Oka AAG, *et al*. Panduan Penanganan Kanker Kandung Kemih Tipe Urotelial. :56.
25. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 1391 p.
26. Mathieu R, Lucca I, Rouprêt M, Briganti A, Shariat SF. The prognostic role of lymphovascular invasion in urothelial carcinoma of the bladder. *Nat Rev Urol*. 2016;13:471-9.
27. Streeper NM, Simons CM, Konety BR, Muirhead DM, Williams RD, O'Donnell MA, *et al*. The significance of lymphovascular invasion in transurethral resection of bladder tumour and cystectomy specimens on the survival of patients with urothelial bladder cancer. *BJU Int*. 2009;103:475-9.
28. Siregar GP. Vascular endothelial growth factor polymorphism in bladder cancer: a review. *Open Access Maced J Med Sci*. 2020;8(F):31-6.
29. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *JCO*. 2005; 23: 1011-27.
30. Lukasz PF, Barbara G. Role of angiogenesis in urothelial bladder carcinoma. *Cent European J Urol*. 2016; 69: 258-63.
31. Yang C-C, Chu K-C, Yeh W-M. The expression of vascular endothelial growth factor in transitional cell carcinoma of urinary bladder is correlated with cancer progression. *Urologic Oncol*. 2004;6.
32. Poyet C, Thomas L, Benoit TM, Aquino Delmo D, Luberto L, Banzola I, *et al*. Implication of vascular endothelial growth factor A and C in revealing diagnostic lymphangiogenic markers in node-positive bladder cancer. *Oncotarget*. 2017; 8:21871-83.