

Hubungan Tingkat Imunoekspresi PHH3 Dan VEGF-A Pada Leiomioma, Leiomioma Atipik dan Leiomyosarkoma Uteri

Nurbaiti¹, Ismet M Nur², Bethy S Hernowo², Lasma R Pohan²

¹Laboratorium Biomedis Fakultas Kedokteran Unswagati Cirebon

²Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung

ABSTRAK

Leiomioma adalah tumor jinak otot polos dan merupakan tumor yang paling sering terjadi pada pelvis wanita, sedangkan leiomyosarkoma adalah bentuk tumor ganas pada otot polos. Diantaranya terdapat suatu klasifikasi border line yaitu leiomioma atipik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengklasifikasikan leiomioma atipik kedalam suatu leiomioma ataukah kedalam leiomyosarkoma dengan melihat tingkat imunoekspresi PHH3 dan VEGF-A. Enam belas kasus leiomioma, 16 kasus leiomyosarkoma, dan 8 kasus leiomioma atipik diperiksa pada penelitian ini. Tingkat imunoekspresi PHH3 dan VEGF-A dievaluasi sebagai salah satu parameter klasifikasi tumor. Secara statistik tingkat imunoekspresi dinilai menggunakan korelasi Spermans dan Kanonik dengan $p < 0,05$. Hasil dari penelitian menunjukkan terdapat korelasi bermakna antara PHH3 dan VEGF-A dengan klasifikasi tumor ($p < 0,00001$), dan tingkat imunoekspresi VEGF-A ($p < 6,98E-10$) lebih bermakna dibandingkan dengan PHH3 ($p < 1,06E-08$).

Kata kunci: leiomioma, leiomioma atipik, leiomyosarkoma, PHH3, VEGF-A

ABSTRACT

Leiomyoma is benign tumor of smooth muscle tumor and the most common tumor of women pelvis. Leiomyosarcoma is malignant tumor of smooth muscle, and the most common sarcoma of uterus. Between there is atypical leiomyoma which is classification in borderline tumor. The aim of this research is to classification atypical leiomyoma into benign or malignant tumor by assessed immunohistochemical level of PHH3 and VEGF-A. Sixteen cases of leiomyoma, 16 cases of leiomyosarcoma, and 8 cases of atypical leiomyoma constituted the basis of the study. PHH3 and VEGF-A level expression was evaluated as parameter for tumor classification. Immunostaining level assessed statistically by Spermans and Kanonik correlation, with $p < 0,05$. The result showed that there were significant correlation between PHH3 and VEGF-A immunoeexpression with tumor classification ($p < 0,00001$), and immunoeexpression level of VEGF-A ($p < 6,98E-10$) show more predictable value than PHH3 ($p < 1,06E-08$).

Keywords: leiomyoma, atypical leiomyoma, leiomyosarcoma, PHH3, VEGF-A.

PENDAHULUAN

Leiomioma adalah tumor jinak dari unsur otot polos.^(1,2,3,4,5,6,7,8,9) Lokasi terbanyak leiomioma adalah di daerah genitourinaria dan gastrointestinal⁽¹⁾ dan merupakan tumor yang paling sering terjadi pada pelvis wanita.^(10,11)

Leiomyosarkoma adalah tumor ganas dari unsur otot polos.^(1,2,5,6) Pada uterus, leiomyosarkoma adalah sarkoma yang paling sering terjadi dengan angka kejadian kurang lebih 1% dari seluruh sarkoma uterus.^(2,3,6,7)

Menurut klasifikasi *World Health Organization* (WHO) tahun 2003, leiomioma terdiri dari beberapa tipe yaitu tipe epitelioid, *myxoid*, selular, *haemorrhagic cellular*, lipoleiomioma, dan atipik. Pada tipe epitelioid, *myxoid*, *cellular*, *haemorrhagic cellular*,

lipoleiomioma, mempunyai gambaran mikroskopik berupa sel *uniform*, tidak ditemukan adanya sel-sel yang *bizarre* dan sel dengan multinuklear, inti dalam batas normal, dan kecuali untuk tipe *cellular*, tidak ditemukan peningkatan aktivitas mitosis. Sedangkan pada leiomioma atipik ditemukan gambaran mikroskopik terdiri dari sel-sel *bizarre*, inti hiperkromatis, sel-sel multinuklear tanpa adanya nekrosis dan peningkatan aktifitas mitosis.^(2,4,5,8,9,10,11) Leiomioma atipik adalah kasus yang jarang sehingga sampai saat ini belum ada data yang jelas mengenai insidensinya.^(2,6) Beberapa literatur mengemukakan bahwa leiomioma atipik dimasukkan kedalam golongan *benign tumor*,^(2,11) tetapi literatur lainnya memasukkan leiomyoma atipik termasuk kedalam *borderline tumor*.^(3,4,5,8,9,10)

Penilaian jumlah mitosis adalah salah satu penentuan yang penting dalam penilaian diagnosa tumor otot polos (sesuai ketentuan *Federation Nationale de Centres de Lutte Contre le Cancer* (FNCLCC)). Dengan penggunaan pewarnaan hematoxilin eosin (HE) adanya aktifitas mitosis pada leiomiosarkoma dapat mudah terlihat. ⁽¹⁾ sedangkan pada leiomioma atipik gambaran adanya peningkatan aktifitas mitosis tidak jelas terlihat. ^(2,5,6,11)

Untuk melihat aktifitas mitosis dengan lebih jelas diperlukan alat bantu berupa pemeriksaan imunohistokimia yang spesifik untuk mitosis. Penggunaan antibodi *phosphorilase histone H3* (PHH3) dapat diberikan sebagai suatu petanda imunohistokimia yang spesifik untuk mitosis. ^(12,13,14)

Pada sel eukariotik, saat mitosis pada fase profase ditemukan kadar histon H3 Ser 28 yang terfosforilasi 4-6 kali lebih tinggi dibanding saat metafase, sehingga hal ini dapat digunakan sebagai deteksi adanya suatu mitosis. Peninggian kadar histon H3 yang terfosforilasi pada Ser 28 tidak ditemukan pada fase-fase lain dalam siklus sel. ^(15,16,17,18,19,20,21,22,23,24)

Beberapa penelitian telah membuktikan terhadap hubungan yang bermakna antara PHH3 dengan *atypically granulosa cell tumour* ⁽¹⁴⁾ *atypically meningioma* ^(12,16) dan *anaplastik astrositoma*. ⁽¹²⁾

Pada penelitian ini penggunaan antibodi PHH3 diharapkan dapat melihat mitosis lebih tepat dan lebih akurat, sehingga dapat mengkatagorikan suatu leiomioma atipik termasuk ke dalam *benign tumor* atau leiomiosarkoma.

Untuk pertumbuhan dan metastasis tumor padat diperlukan adanya angiogenesis. *Vascular endothelial growth factor A (VEGF-A)* merupakan salah satu faktor penting dalam proses angiogenesis pada tumor. ^(25,26,27) Menurut beberapa literatur VEGF-A disekresikan oleh sel-sel karsinoma dan sel-sel mesenkim. ^(28,29,30) VEGF-A akan berikatan dengan reseptor *tyrosine kinase* yaitu *vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR) 1 dan 2 yang terletak pada permukaan sel endothel ⁽¹⁶⁾. Ikatan ini akan mengakibatkan terjadinya proliferasi, migrasi, dan diferensiasi sel-sel endothel dan menyebabkan pembentukan kapiler baru. ^(30,31,32,33,34,35,36,37,38,40)

Penelitian terhadap tumor epitelial pada tiroid ⁽³⁴⁾, *renal cell carcinoma* ⁽³³⁾, karsinoma payudara ⁽²⁷⁾, dan prostat ⁽³⁷⁾ menyimpulkan terdapat hubungan bermakna antara ekspresi VEGF-A dengan derajat keganasan tumor,

dimana semakin tinggi tingkat imunoekspresi VEGF-A semakin tinggi pula derajat keganasan tumor tersebut. Tetapi penelitian lain menyimpulkan sebaliknya, bahwa tidak terdapat hubungan bermakna antara tingkat imunoekspresi VEGF-A dengan derajat keganasan *squamous cell carcinoma* penis. ⁽³¹⁾

Pada penelitian ini diharapkan penggunaan antibodi VEGF-A dapat menentukan agresivitas dari tumor, sehingga dapat membantu mengkatagorikan suatu leiomioma atipik termasuk ke dalam *benign tumor* atau leiomiosarkoma

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Bentuk penelitian adalah penelitian uji analitik retrospektif dengan rancangan potong lintang (Dahlan 2005). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel sediaan leiomioma, leiomioma atipik, dan leiomiosarkoma uteri yang bearsal dari biopsi dan operasi yang diterima di bagian Patologi Anatomi RSHS, Bandung, periode Januari 2004 – September 2007. Bahan penelitian diambil secara retrospektif. Kriteria sampel penelitian ini adalah leiomioma, leiomioma atipik, dan leiomiosarkoma dengan lokasi pada daerah uteri. Semua sampel diseleksi berdasarkan kelengkapan data, blok parafin dan jenis tumor.

Pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia dilakukan di Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Perjan dr. Hasan Sadikin Bandung. Prosedur penelitian dilaksanakan dengan melakukan evaluasi sediaan hematoxilin-eosin, dan menggolongkan tumor berdasarkan kriteria: 1) struktur tumor, 2) bentuk sel tumor, 3) batas antara sel tumor, 4) bentuk sel tumor, 5) jumlah mitosis ^(2,5,11)

Blok parafin dari masing-masing sample sediaan dipotong setebal 4 mikron, kemudian dilakukan pewarnaan imunohistokimia menggunakan teknik streptavidin-biotin dengan antibodi PHH3 (*Ab Cam Inc, United Kingdom*) dan antibodi monoklonal VEGF-A (*Santa Cruz Biotechnology Inc, Singapura*), masing-masing dengan pengenceran 1:50. Penilaian PHH3 dilakukan pada inti sel yang terpulas coklat dan dihitung menjadi skala 1: mitosis $\leq 4/10$ LPB, skala 2: mitosis 5-19/10LPB, dan skala 3: mitosis $\geq 20/10$ LPB. ^(12,14) Penilaian VEGF-A dilakukan pada membran sel yang terpulas warna coklat dengan dinilai intensitas: +1= coklat samar-samar, +2=coklat keemasan, +3=coklat tua dan kuantitas sel yang terpulas 1 = jika terwarnai 1 – 25%, 2 = jika terwarnai 26 – 75%,

3 = jika terwarnai >75%, kemudian dilakukan skala 1 jika skor 1-2, skala 2 jika skor 3-4, skala 3 jika skor 5-6 ^(27,33,34,37)

HASIL

Pada penelitian ini jumlah sampel kasus yang diteliti adalah 16 kasus leiomioma, 16 kasus leiomiosarkoma, dan 8 kasus leiomioma atipik yang berasal dari bagian Patologi Anatomi RS Hasan Sadikin.

Tabel 1. Data Deskriptif Klinikopatologi Leiomioma Uteri

Karakteristik	Σ kasus	(%)
Usia (tahun, n=16)		
< 20	1	6,25%
20-29	3	18,75%
30-39	5	31,25%
40-49	3	18,75%
50-59	2	12,5%
60-69	1	6,25%
≥70	1	6,25%
Rata-rata usia:	34,2 tahun	
Rentang usia:	19-71 tahun	
Lokasi tumor		
Korpus	10	83,33 %
Serviks	2	16,67 %

Berdasarkan tabel 1 didapatkan:
Karakteristik klinis dari 16 kasus leiomioma uteri menurut usia adalah: rata-rata berusia 34,2 tahun dengan rentang usia 19-71 tahun.

Lokasi tersering leiomioma adalah dikorpus uteri 10 (83,33%), dan diserviks uteri 2 (16,67%).

Tabel 2. Data Deskriptif Klinikopatologi Leiomioma Atipik Uteri

Karakteristik	Σ kasus	(%)
Usia (tahun, n=8)		
20-29	1	12,5%
30-39	2	25,00%
40-49	3	37,5%
≥50	2	25,00%
Rata-rata usia :	39,7 tahun	
Rentang usia:	20-55 tahun	
Lokasi tumor		
Korpus	8	100%
Serviks	0	0%

Berdasar tabel 2 didapatkan:
Karakteristik klinis dari 8 kasus leiomioma atipik uteri menurut usia adalah: rata-rata berusia 39,7 tahun dengan rentang usia 20-55 tahun.

Lokasi seluruh leiomioma atipik adalah dikorpus uteri (100 %).

Tabel 3. Data Deskriptif Klinikopatologi Leiomiosarkoma Uteri

Karakteristik	Σ kasus	(%)
Usia (tahun, n=16)		
30-39	1	6,25%
40-49	6	37,5%
50-59	5	31,25%
60-69	4	25%
Rata-rata usia :	52,5 tahun	
Rentang usia:	30-69 tahun	
Lokasi tumor		
Korpus	16	100%
Serviks	0	0%

Tabel 4 Hubungan antara tingkat imunoeksresi PHH3 dengan diagnosis

Eksresi PHH3 ^a (skala)	Diagnosis			Spearman (r) ^b	Nilai p ^c
	Leiomioma	Leiomioma atipik	Leiomiosarkoma		
1	15	3	3	0,7442	1,06E -08
2	1	3	6		
3	0	2	7		
Total	16	8	16		

a Nilai imunoeksresi PHH3 0 = tidak ada yang terwarnai, skala 1 = mitosis ≤ 4 /10LPB, skala 2 = mitosis 5-19 / 10LPB, skala 3 = mitosis ≥ 20 /10 LPB , b r = kekuatan korelasi antar variabel, c Batas kepercayaan =95% (α = 0,05) , d Jumlah kasus masing-masing diagnosis, dengan jumlah kasus 16 untuk leiomioma dan leiomiosarkoma, dan 8 kasus untuk leiomioma atipik., E Eksponen

Berdasarkan tabel 4 didapatkan hasil:
Hasil uji statistik Spearman antara variabel PHH3 dengan diagnosis didapat nilai korelasi sebesar 0,7442 atau R>0. Nilai p antara variabel

PHH3 dengan diagnosis adalah 1,06 E-08 atau $p < 0,05$.

Tabel 5 Hubungan antara tingkat imunoekspresi VEGF-A dengan diagnosis

Ekspresi VEGF-A ^a (skala)	Leiomioma	Leiomioma atipik	Leiomiosarkoma	Spearman (r) ^b	Nilai p ^c
0	0	0	0	0,7171	6,98E -10
1	9	2	1		
2	7	5	5		
3	0	1	10		
Total	16	8	16		

a Nilai imunoekspresi VEGF-A, 0 = tidak ada yang terwarnai, skala 1 = skor pewarnaan 1-2, skala 2 = skor pewarnaan 3-4, skala 3 = skor pewarnaan 5-6., b r = kekuatan korelasi antar variabel, c Batas kepercayaan =95% ($\alpha = 0,05$), d Jumlah kasus masing-masing diagnosis, dengan jumlah kasus 16 untuk leiomioma dan leiomiosarkoma, dan 8 kasus untuk leiomioma atipik, E Eksponen

Berdasarkan tabel 5 didapatkan hasil : Hasil uji statistik Spearman antara variabel VEGF-A dengan diagnosis didapat nilai korelasi sebesar 0,7171 atau $R > 0$. Nilai p antara variabel VEGF-A dengan diagnosis adalah 6,98E -10 atau $p < 0,05$

Tabel 6 Hubungan antara umur dengan diagnosis

Umur ^a	Leiomioma	Leiomioma atipik	Leiomiosarkoma	Spearman (r) ^b	Nilai p ^c
< 20	1	0	0	0,7744	6,98E-10
20-29	3	1	0		
30-39	5	2	1		
40-49	3	3	6		
50-59	2	2	5		
60-69	1	0	4		
≥ 70	1	0	0		
Total	16	8	16		

a Umur penderita, b r = kekuatan korelasi antar variabel, c Batas kepercayaan = 95% ($\alpha = 0,05$), E Eksponen

Hasil uji statistik Spearman antara variabel umur dan diagnosis didapat nilai korelasi sebesar 0,7744 atau $R > 0$. Nilai p antara variabel umur dan diagnosis adalah 6,98E-10 atau $p < 0,05$.

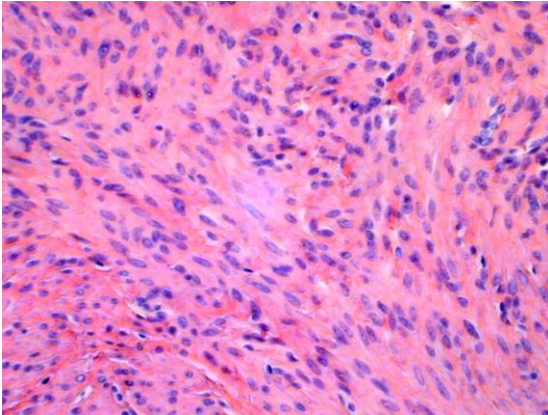
Tabel 7 Hubungan antara VEGF-A – PHH3 dengan Diagnosis

Variabel ^a	Kanonik (r)	Chi-kuadrat	Nilai p ^b	Keterangan ^c
VEGF-A-PHH3	0,75927	34,367	0,000012	Bermakna, dengan nilai korelasi VEGF-A lebih besar dari pada PHH3
Diagnosis : Leiomioma Leiomioma Atipik Leiomiosarkoma				

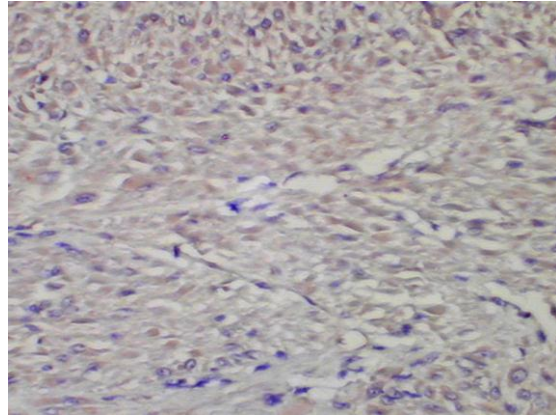
a Hubungan antara gabungan nilai VEGF-A dan PHH3, b Batas kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), c Hubungan VEGF-A terhadap nilai gabungan VEGF-A & PHH3 dan PHH3 terhadap nilai gabungan VEGF-A dan PHH3

Berdasarkan tabel 7 didapatkan hasil: sebesar 0,75927 dan nilai $p = 0,0000$ atau $p < 0,05$. Hasil uji kanonik antara imunoekspresi VEGF-A dan PHH3 dengan diagnosis didapat nilai r Nilai hubungan (r) VEGF-A (0,9492) lebih tinggi dibandingkan dengan nilai (r) PHH3 (0,9219)

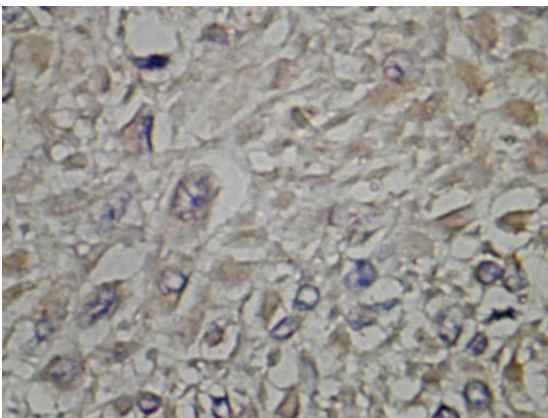
GAMBAR HASIL PENELITIAN



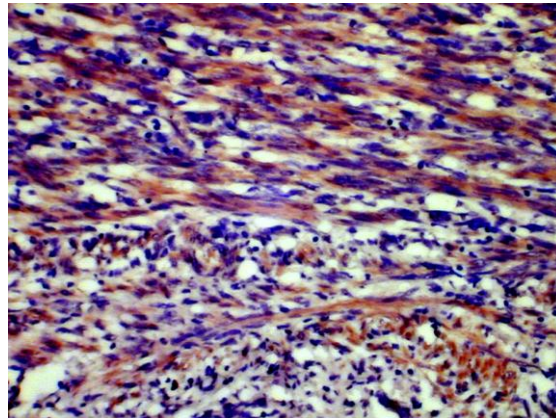
Gambar 1. Leiomioma pewarnaan HE (100X)



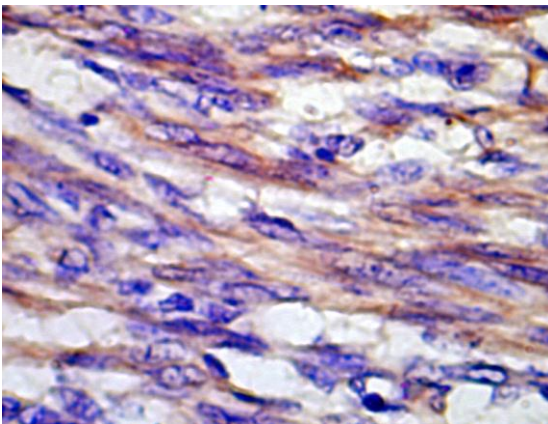
Gambar 2. Leiomioma imunoeksresi VEGF-A+1 (100X)



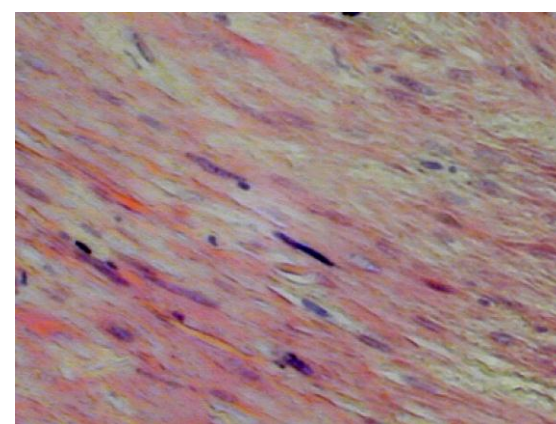
Gambar 3. Leiomioma imunoeksresi VEGF-A +1 (100x)



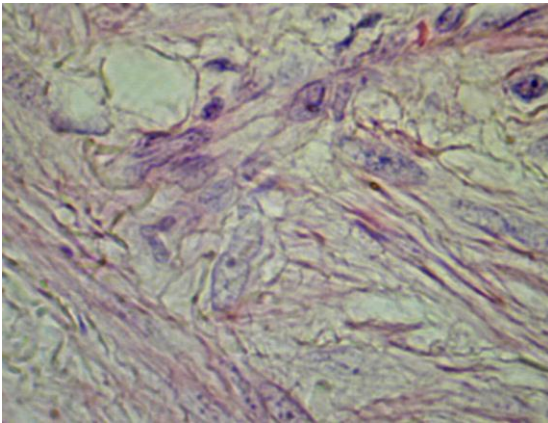
Gambar 4. Leiomioma imunoeksresi VEGF-A +2 (400X)



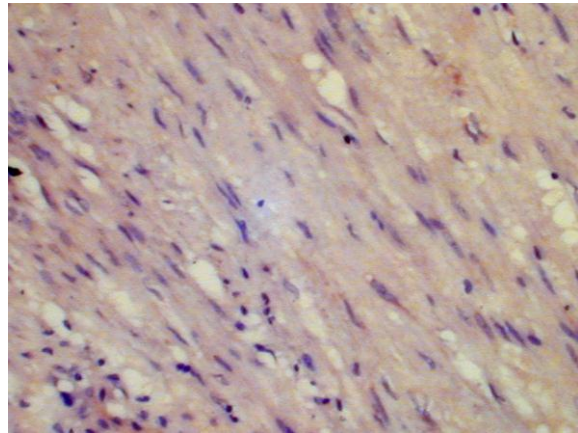
Gambar 5. Leiomioma imunoeksresi VEGF-A +2 (400x)



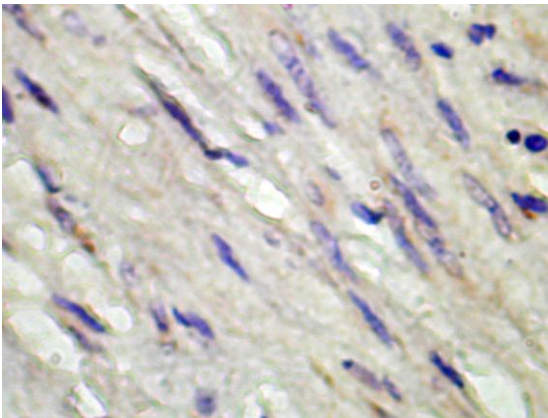
Gambar 6. Leiomioma Atipik pewarnaan HE (100x)



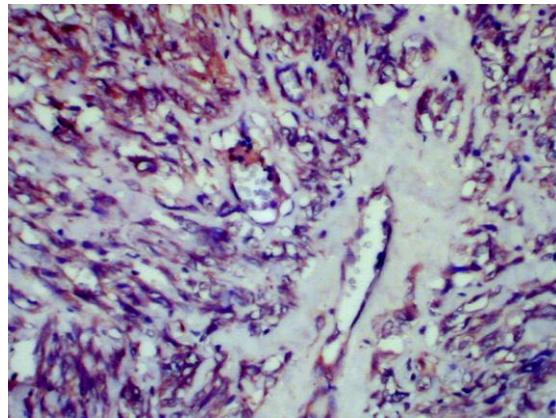
Gambar 7. Leiomyoma atipik pewarnaan HE (100x)



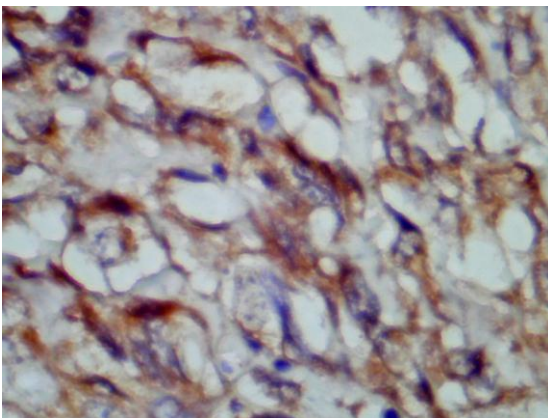
Gambar 8. Leiomyoma atipik imunoekspresi VEGF-A +1 (400X)



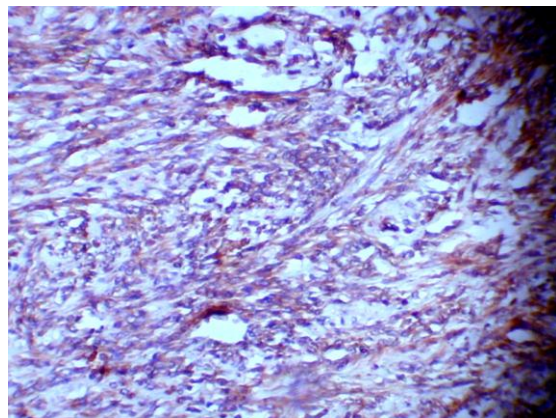
Gambar 9. Leiomyoma atipik imunoekspresi (400X)



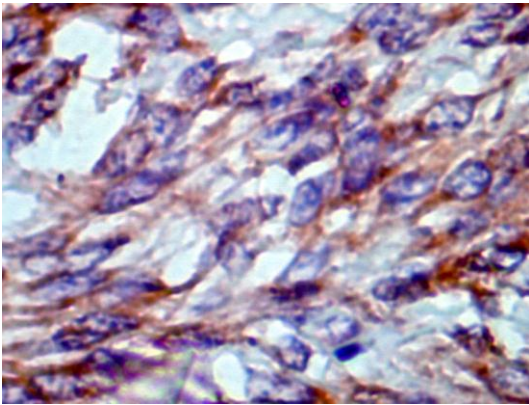
Gambar 10. Leiomyoma atipik imunoekspresi VEGF-A +1 VEGF-A +2 (100X)



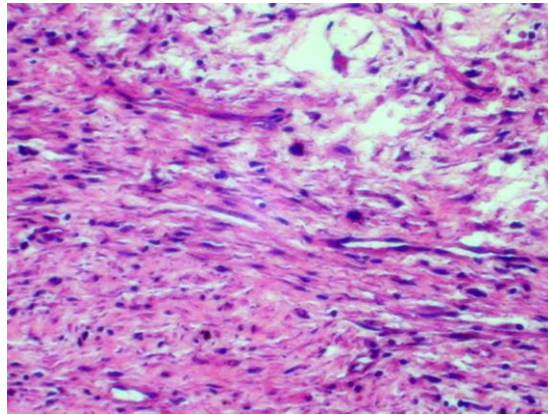
Gambar 11. Leiomyoma atipik imunoekspresi (400x)



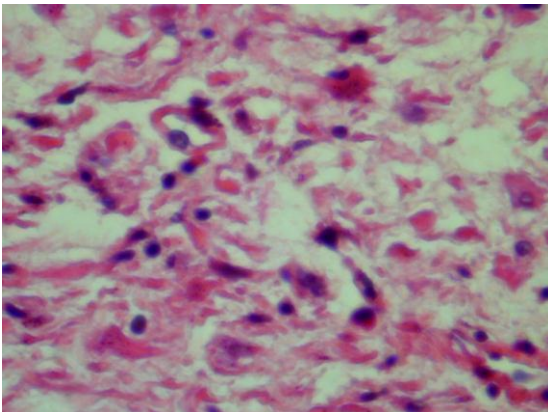
Gambar 12. Leiomyoma atipik imunoekspresi VEGF-A +2 VEGF-A +3 (100X)



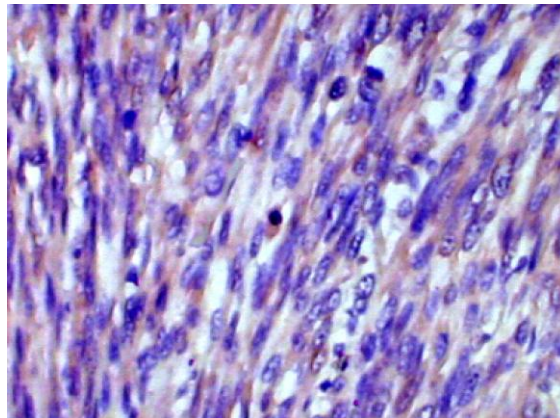
Gambar 13. Leiomyoma atipik imunoekspresi (400x)



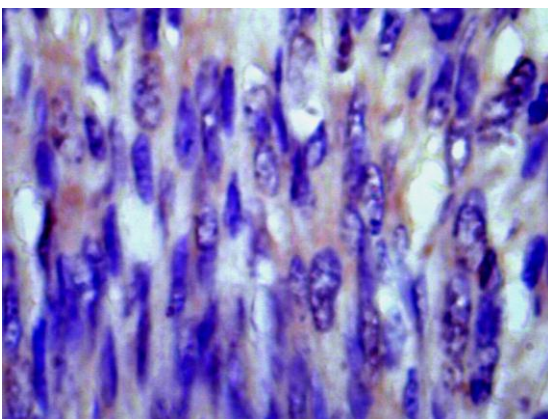
Gambar 14. Leiomyosarkoma pewarnaan HE VEGF-A +3 (100X)



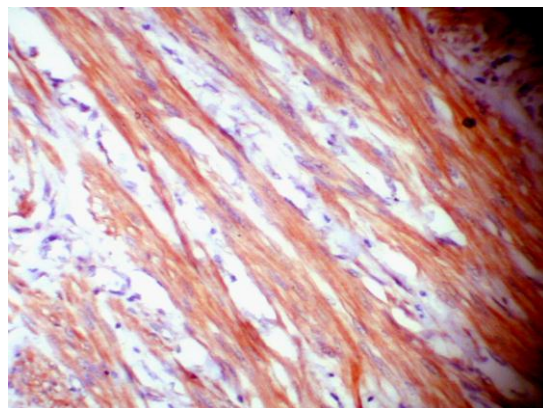
Gambar 15. Leiomyosarkoma pewarnaan HE VEGF-A +1 (100X)



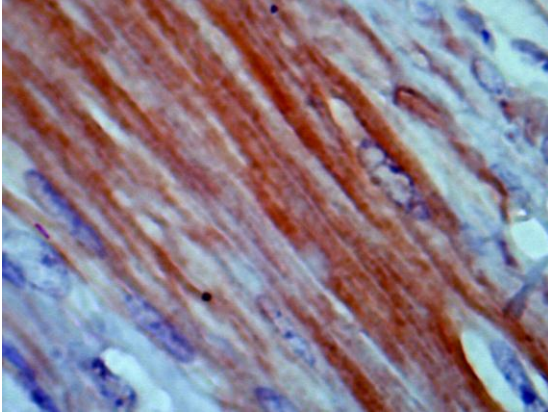
Gambar 16. Leiomyosarkoma imunoekspresi (400X)



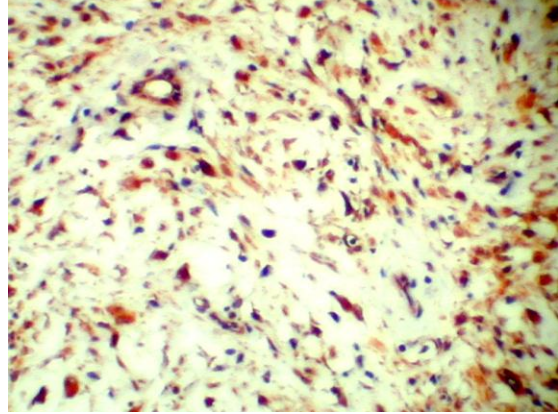
Gambar 17. Leiomyosarkoma imunoekspresi (400x)



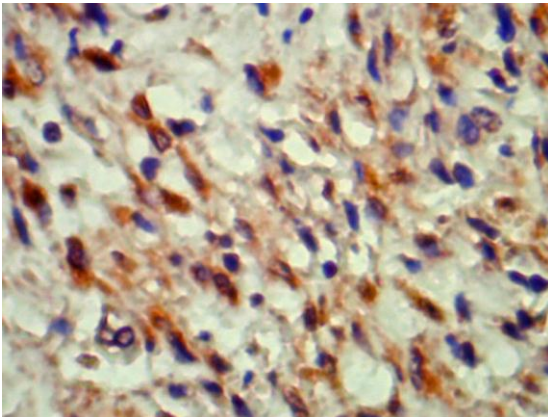
Gambar 18. Leiomyosarkoma imunoekspresi VEGF-A +2 (100x) (100X)



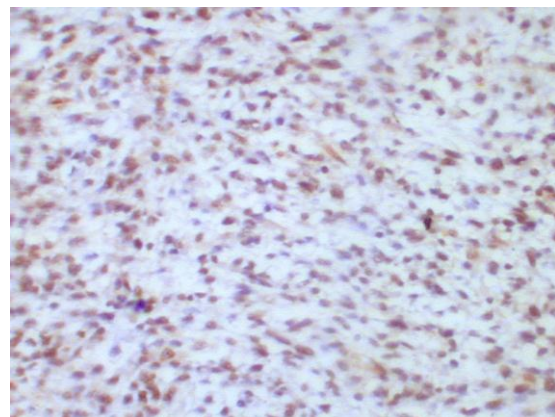
Gambar 19. Leiomyosarkoma imunoeksprei VEGF-A +2 (400X)



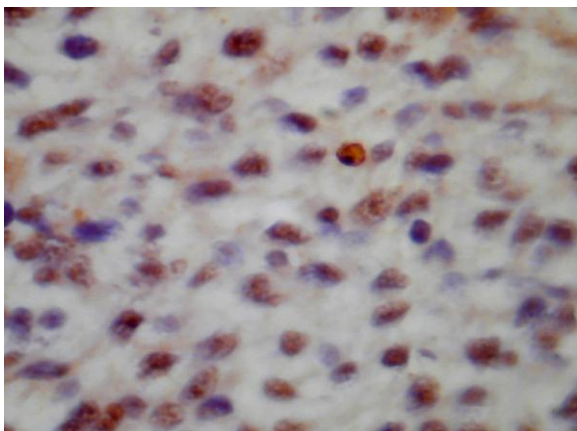
Gambar 20. Leiomyosarkoma imunoeksprei VEGF-A +3 (100X)



Gambar 21. Leiomyosarkoma imunoeksprei VEGF-A +3 (400x)



Gambar 22. Imunoeksprei PHH3 (100X)



Gambar 23. Imunoeksprei PHH3 (400X)

PEMBAHASAN

Leiomioma pada uterus merupakan tumor jinak dari unsur otot polos yang paling sering terjadi pada pelvis wanita. ^(3,5) Dari data rekam medis dibagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RS Hasan Sadikin, Bandung, dari Januari 2004 - September 2007 ditemukan 198 kasus

leiomioma, dengan 8 kasus diantaranya didiagnosa sebagai leiomioma atipik. Ditemukan pula 16 kasus leiomyosarkoma.

Penderita leiomioma pada umumnya terjadi pada usia dekade 4 dan 5, dan lebih sering terjadi di daerah korpus uteri ⁽¹³⁾. Dari data 16 kasus leiomioma uteri yang menjadi sampel penelitian ini, usia rata-rata penderita adalah 34,2

tahun, dengan frekwensi tersering pada usia dekade 3, dengan lokasi tersering di daerah korpus uteri. Belum ada penelitian mengapa kejadian leiomioma lebih sering terjadi di korpus uteri dibanding serviks uteri, tetapi beberapa pendapat menduga karena bagian korpus lebih aktif dan lebih dipengaruhi hormon estrogen melalui siklus haid.⁽³⁾

Penderita leiomioma atipik pada umumnya terjadi pada usia dekade 4 dan 5, dan lebih sering terjadi di daerah korpus uteri. Dari data 8 kasus leiomioma atipik uteri yang menjadi sampel penelitian ini, usia rata-rata penderita adalah 39,7 tahun, dengan frekwensi tersering pada usia dekade 4, dengan lokasi tersering di daerah korpus uteri.

Dari hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat bahwa kemungkinan leiomioma disebabkan karena faktor hormonal diantaranya estradiol yang dihasilkan pada wanita belum menopause. Pada wanita belum menopause paparan terhadap estradiol sering terjadi karena peningkatan kadar aromatase yang mengubah androgen menjadi estrogen, juga karena kadar enzim yang mengubah estradiol menjadi estron berkurang, sehingga akumulasi estradiol pada otot meningkat dan menyebabkan terjadi peningkatan regulasi reseptor estrogen dan progesteron, hipersensitif terhadap estrogen dan menyebabkan leiomioma.^(3,5,8,9,10)

Penderita leiomiosarkoma pada umumnya terjadi pada usia dekade 5. Dari data 16 kasus leiomiosarkoma uteri yang menjadi sampel penelitian ini, usia rata-rata penderita adalah 52,5 tahun, dengan frekwensi tersering pada usia dekade 5, dengan lokasi tersering di daerah korpus uteri.

Hal ini sesuai dengan pustaka bahwa penderita leiomiosarkoma banyak terjadi pada usia 43-53 tahun dan wanita postmenopause.^(6,7) Penyebab leiomiosarkoma belum diketahui secara pasti, dari hasil penelitian ini membuktikan kemungkinan resiko terjadinya leiomiosarkoma tidak dipengaruhi oleh faktor hormonal.

Dari tabel 4 diketahui terdapat hubungan yang searah dan bermakna antara tingkat imunoekspresi PHH3 dengan diagnosis, dimana nilai p antara imunoekspresi PHH3 dan diagnosis secara statistik bermakna, yaitu 1,06E-08. Nilai p yang sering dipakai pada uji hipotesis adalah $\alpha=0,01$, $0,05$ dan $0,10$.⁽³⁹⁾ Pada penelitian ini menggunakan nilai $\alpha=0,05$. hal ini dianggap bermakna sehingga dapat dikatakan semakin tinggi imunoekspresi PHH3 terdapat kecenderungan tumor semakin agresiv. Pada

penelitian yang dilakukan oleh Ribalta *et al* dan Tapia *et al*, penghitungan mitosis setelah menggunakan PHH3 sebagai petanda menjadi lebih mudah dan menyebabkan perubahan diagnosa.

Pada penelitian ini ditemukan bahwa penghitungan mitosis pada leiomioma atipik menjadi lebih mudah dan lebih akurat sehingga didapatkan perubahan diagnosis. Pada leiomioma atipik dengan penggunaan PHH3 dapat menunjukkan sel yang mengalami mitosis normal dan sel yang mengalami mitosis atipik. Penghitungan ditujukan pada sel yang mengalami mitosis atipik dan didapatkan 3 kasus leiomioma atipik memperoleh skala 2 dengan jumlah mitosis 5-19 mitosis/10LPB dan 2 kasus leiomioma atipik memperoleh skala 3 dengan jumlah mitosis ≥ 20 mitosis/10LPB, dan menurut Ribalta *et al*, termasuk kedalam tumor ganas. Sehingga dari penelitian ini terbukti penggunaan PHH3 memudahkan penghitungan mitosis, dan apabila digabungkan dengan parameter lain untuk sarkoma jaringan lunak dapat merubah diagnosis leiomioma atipik menjadi leiomiosarkoma.

Dari tabel 5 diketahui terdapat hubungan yang searah dan bermakna antara tingkat imunoekspresi VEGF-A dengan diagnosis, dimana nilai p antara imunoekspresi VEGF-A dan diagnosis secara statistik bermakna, yaitu 4,36E-08. Nilai p yang sering dipakai pada uji hipotesis adalah $\alpha=0,01$, $0,05$ dan $0,10$.⁽³⁹⁾ Pada penelitian ini menggunakan nilai $\alpha=0,05$. hal ini dianggap bermakna sehingga dapat dikatakan semakin tinggi imunoekspresi VEGF-A terdapat kecenderungan tumor semakin agresivitas. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dvorak dan Soh *et al* dan berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Martins *et al*.

Hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Dvorak dan Talbot *et al*, adalah imunoekspresi VEGF-A bermakna berkaitan dengan agresivitas ($p=0,00028$) pada penelitian oleh Dvorak dan ($p=0,000046$) pada penelitian oleh Soh *et al*. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Martins *et al* menunjukkan sebaliknya dimana imunoekspresi VEGF-A tidak berkaitan dengan agresivitas dengan nilai $p=0,06$.

Pada penelitian ini dihasilkan data tingkat imunoekspresi VEGF-A dengan skala 2 banyak ditemukan pada leiomioma atipik sebanyak 5 kasus, pada leiomiosarkoma ditemukan sebanyak 5 kasus, dan skala 3 ditemukan pada leiomiosarkoma sebanyak 10

kasus. Sehingga dapat dikatakan semakin agresiv sifat tumor semakin tinggi tingkat imunoekspresi VEGF-A.

mRNA dari VEGF-A tinggi pada sel tumor yang mengalami hipoksia. Keadaan hipoksia pada tumor-tumor ganas menyebabkan banyaknya sel yang mengalami nekrosis. Keadaan nekrosis ini menyebabkan terganggunya keseimbangan antara inhibitor dan aktivator angiogenesis, yang menyebabkan terjadinya angiogenesis. Sesuai dengan teori ini maka pada tumor-tumor ganas semakin berat keadaan hipoksia sehingga sel-sel tumor yang akan melakukan kompensasi dengan mengeluarkan banyak aktivator angiogenesis dibanding inhibitor angiogenesis. Tidak seperti angiogenesis pada peradangan atau keadaan fisiologis, VEGF-A mempunyai peran yang penting pada angiogenesis pada tumor baik ganas maupun jinak. Selain itu pada tumor pada tumor ganas dihasilkan banyak MMP (matrixmetalloproteinase)-9 yang merupakan salah satu komponen penting yang menyebabkan VEGF-A mampu untuk berinteraksi dengan reseptornya. VEGF-A menembus endotel dengan cara memutuskan kompleks VEGF-A- β -catenin dengan cara aktivasi Src dan memfasilitasi ekstrasvasasi dan metastasis sel tumor. ⁽²²⁾

DAFTAR PUSTAKA

1. Enzinger FM, Enzinger SW. 2001. Benign Tumors of Smooth Muscle. *Soft tissue tumors*, 4th ed. St Louis, MO: Mosby:b695-726.
2. Hendricksons MR, Tavasolli FA, Kempson RL, McCluggage WG, Haller U, Kubik-Huch RA. 2003. Mesenchymal Tumor and Related Lesions. *Pathology And Genetics Of Tumours Of The Breast And Female Genital Organs*. Lyon: IARC Press :218-244.
3. Vanni R. 2002. *Uterus: Leiomyoma. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. Melalui:<http://AtlasGeneticsOncology.org/Tumors/leiomyomID5031.html>
4. Kim NR, Sung CO, Han J.2003. Bizzare Leiomyoma of Scrotum. *Journal Korean Medical Science*: 452-454.
5. Al-Nafussi A. 2004. Uterine Smooth-Muscle Tumours: Practical Approach to Diagnosis. *Current Diagnostic Pathology*:140-156
6. Blom R. Sarcoma of The Female Genital Tract : Histopathology, DNA Cytometry, p53

Nilai imunoekspresi VEGF-A-PHH3 dengan diagnosis menunjukkan hubungan yang bermakna ($p=0,000012$) dengan kontribusi VEGF-A ($r=0,9492$) lebih besar dibandingkan dengan kontribusi PHH3 ($r=0,9219$). Hasil ini sesuai dengan nilai hubungan VEGF-A-PHH3 dengan diagnosa yang bermakna ($p=000012$). Hal ini berarti agresivitas tumor lebih dipengaruhi oleh imunoekspresi VEGF-A, semakin tinggi ekspresi VEGF-A semakin tinggi agresivitas tumor.

Pada penelitian ini penggunaan anti VEGF-A sebagai petanda dianggap lebih bermakna dari pada anti PHH3, karena imunoekspresi PHH3 hanya digunakan untuk menghitung mitosis yang merupakan salah satu kriteria untuk menentukan tingkat agresivitas tumor jaringan lunak. Sedangkan tingkat imunoekspresi VEGF-A dianggap lebih bermakna karena sesuai dengan pustaka pengeluaran VEGF-A pada tumor ganas, salah satunya karena rangsangan hipoksia pada sel tumor, lebih tinggi dibanding tumor jinak.

Hasil penelitian ini adalah seluruh sampel leiomioma, leiomioma atipik, dan leiomiosarkoma imunoreaktif dengan VEGF-A dan PHH3. Agresivitas lebih dipengaruhi oleh tingkat imunoekspresi VEGF-A dibandingkan dengan PHH3.

and mdm-2 Analysis Related To Prognosis. 1999.

7. Dohi O, Hatori M, Ohtani H, Watanabe M, Kokubun S. 2003. Leiomyosarcoma of the Sacral Bone in a Patient with a Past History of Resection of Uterine Leiomyoma. *Upsala J Med Sci*: 213-220.
8. Lefebvre G, Vilos G, Allaire C, Jeffrey J. 2003. The Management Of Uterine Leiomyomas. *SOG Clinical Practice Guidelines*:1-10
9. Lynch AM, Morton CC. 2007. *Uterus: Leiomyoma. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. Melalui:<http://AtlasGeneticsOncology.org/Tumors/leiomyomID5031.html>
10. Parker WH. 2007. Etiology, Symptomatology, And Diagnosis Of Uterine Myomas. *Fertility and Sterility* : 725-736
11. Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 2004. Edinburgh: Mosby: 764-839.
12. Ribalta T, McCutcheon IE, Aldape KD, Bruner JM & Fuller GN. 2004. The Mitosis Specific Antibody Anti

- Phosphohistone H3 (PHH3) Facilitates Rapid Reliable Grading of Meningiomas According to WHO 2000 Criteria. *American Journal of Surgical Pathology*; 1532-1536.
13. Tapia C, Kutzner H, Metzger T, Savic S, Baumhoer D & Glatz K. 2006. Two Mitosis Specific Antibodies, MPM-2 and Phospho-Histone H3 (Ser28), Allow Rapid and Precise Determination of Mitotic Activity. *American Journal of Surgical Pathology* : 83-89.
 14. Kapur P, Rakheja D, Balani JP, Roy L, Amirkhan RH & Hoang MP. 2007. Phosphorylated Histone H3, Ki-67, p21, Fatty Acid Synthase, and Cleaved Caspase-3 Expression in Benign and Atypical Granular Cell Tumors. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*: 57–64
 15. Goto H, Yasui Y, Nigg EA & Inagaki M. 2002. Aurora-B phosphorylates Histone H3 at Serine28 with Regard to The Mitotic Chromosome Condensation. *Genes to Cells*: 11–17.
 16. Takei H, Bhattacharjee MB, Rivera A, Dancer Y & Powell SZ. 2007. New Immunohistochemical Markers in the Evaluation of Central Nervous System Tumors: A Review of 7 Selected Adult and Pediatric Brain Tumors. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*: 234–241
 17. Choi HS, Choi BY, Cho YY, Zhu F, Bode AM & Dong Z. 2005. Phosphorylation of Ser28 in Histone H3 Mediated by Mixed Lineage Kinase-like Mitogen-activated Protein Triple Kinase. *The Journal of Biological Chemistry*: 13545–13553.
 18. Gurley LR, Walters RA, Tobey RA. 1974. Cell Cycle-Specific Changes in Histone Phosphorylation Associated with Cell Proliferation and Chromosome Condensation. *The Journal of Cell Biology*: 356-864.
 19. Ewen ME. 2000. Where The Cell Cycle and Histones Meet. *Genes & Dev* : 2265-2270
 20. Espinos E, Van Thai A, Pomies C & Weber M. 1999. Cooperation Between Phosphorylation and Acetylation Processes in Transcriptional Control. *Molecular and Cellular Biology*: 3474-3484.
 21. Jackson JR, Patrick DR, Dar MM & Huang P S. 2007. Targeted Anti Mitotic Therapies: Can We Improve on Tubulin Agents? *Nature Publishing Group*: 107-117.
 22. Ota T, Suto S, Katayama H, Han ZB, Suzuki F, Maeda M, Tanino M, Terada Y & Tatsuka M. 2002. Increased Mitotic Phosphorylation of Histone H3 Attributable to AIM-1/Aurora-B Overexpression Contributes to Chromosome Number Instability. *Cancer Research*: 5168–5177.
 23. Prigent C & Dimitrov S. 2003. Phosphorylation of Serine 10 in Histone H3, What For? *Journal of Cell Science*: 3677-3685
 24. Shibata K, Inagaki M, Ajiro K. Mitosis Specific Histone H3 Phosphorylation In Vitro In Nucleosome Structures. *Europe Journal of Biochemistry*: 87-93.
 25. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiya K, Brown LF & Detmar M. 2005. VEGF-A Induces Tumor And Sentinel Lymph Node Lymphangiogenesis And Promotes Lymphatic Metastasis. *The Journal of Experimental Medicine*: 1089-1099.
 26. Stacker SA, Achen MG, Jussila L, Baldwin ME & Alitalo K. 2002. Lymphangiogenesis And Cancer Metastasis. *Cancer Nature Reviews*: 573-583.
 27. Shankar R, Tiwary SK, Khanna R, Kumar M, Khanna AK. 2006. Tumor Angiogenesis: Determined By VEGF Expression, MAGS Scoring, Doppler Study, As Prognostic Indicator In Carcinoma Breast. *The Internet Journal of Surgery*: 1-5
 28. Takahashi Hiroyuki dan Shibuya Masabumi. 2005 The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical Science*:: 227–241
 29. Ding S, Li C, , Lin S, Han Y, Yang Y, Zhang Y, Li L, Zhou L, Kumar S. 2007. Distinct roles of VEGF-A and VEGF-C in tumour metastasis of gastric carcinoma. *Oncology Reports*: 369-37.
 30. Dvorak HF. 2002. Vascular Permeability Factor/Vascular Endothelial Growth Factor: A Critical Cytokine in Tumor Angiogenesis and a Potential Target for

- Diagnosis and Therapy. *Journal of Clinical Oncology*: 4368-4380.
31. Martins ACP, Britto S, Takata C, Suaid H, Cologna AJ, Tucci Jr S & Araujo WM. 2002. VEGF Immunoeexpression In Penile Carcinoma. *Acta Cirúrgica Brasileir*: 53-54.
 32. Nayha V, Laitakari J & Stenback F. 2003. Stage Dependent Expression of an Angiogenic Agent and Vascular Organization in Experimental Skin Tumot Development. *Toxicologic Pathology*: 539-548
 33. Rini BI. 2005. VEGF-Targeted Therapy in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *The Oncologist*: 191-197
 34. Soh EY, Duh QY, Sobhi SA, Young DM, Epstein HD, Wong MG, Garcia YK, Min YD, Grossman RF, Siperstein AE & Clark OH. 1997. Vascular Endothelial Growth Factor Expression Is Higher in Differentiated Thyroid Cancer than in Normal or Benign Thyroid. *Journal of Clinical Endokrinology and Metabolism*: 3741-3747.
 35. Soultzis N, Karyotis I, Delakas D & Spandidos DA. 2006. Expression Analysis of Peptide Growth Factor VEGF, FGF2, TGFB1, EGF and IGF1 in Prostate Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia. *International Journal on Oncology*: 305-314.
 36. Talbot SG, Charoenrat PO, Sarkaria IS, Ghossein R, Reddy P, Ngai I, Cordeiro CN, Wong RJ, Kris MG, Rusch VW & Singh B. 2004. Squamous Cell Carcinoma Related Oncogene Regulates Angiogenesis through Vascular Endothelial Growth Factor-A. *The Society Of Surgical Oncology*: 530-534
 37. Walsh K, Sriprasad S, Hopster D, Codd J, Mulvin D. 2002. Distribution of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Prostate Disease. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*: 119-122.
 38. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R & Kabbinavar F. 2004. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *The New England Journal of Medicine*: 2335-2342.
 39. Dahlan, MS. 2004. Seri Evidence Based Medicine Statistika Untuk Kedokteran Dan Kesehatan. Jakarta: Arkans.
 40. Bergers G & Benjamin LE. 2003. Tumorigenesis and The Angiogenic Switch. *Cancer Nature Reviews*: 401-410
 Dalam: Linköping University Medical Dissertations No. 583