

Reseptor Vitamin D (VDR) dan *Phosphatidylinositol* 3-Kinase (PI3K) Secara Independen Memengaruhi Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal

Yulie Erida, Hermin Aminah, Herry Yulianti, Bethy S. Hernowo

Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Hasan Sadikin, Bandung, Indonesia

Abstrak

Terapi target (*targeted therapy*) pada karsinoma kolorektal merupakan terapi alternatif yang diharapkan memberikan hasil yang lebih baik diantaranya dengan pemberian metabolit aktif vitamin D, yaitu calcitriol dan inhibitor *Phosphatidyl* Inositol 3 Kinase (PI3K). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi imunoekspresi VDR dan PI3K terhadap derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal. Penelitian ini menggunakan desain potong lintang dengan analisis kategorik dari 30 blok parafin adenokarsinoma kolorektal (kelompok *low grade* dan *high grade* masing-masing 15 kasus) dari Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RSUP Hasan Sadikin Bandung. Analisis Lambda menunjukkan bahwa imunoekspresi VDR dan PI3K masing-masing memengaruhi diferensiasi adenokarsinoma kolorektal ($p=0,029$, $p=0,0225$, $R=0,533$). Berdasarkan nilai p , PI3K lebih kuat daripada VDR dalam memengaruhi derajat diferensiasi. Analisis Spearman menunjukkan imunoekspresi VDR dan PI3K tidak terbukti berkorelasi dengan diferensiasi ($p=0,186$, $p>0,05$, $R=0,248$) secara bersamaan/simultan. Imunoekspresi VDR dan PI3K berkorelasi positif dengan kelompok *low grade*. Disimpulkan bahwa VDR tidak menggunakan jalur MAPK bersama-sama dengan PI3K dalam memengaruhi diferensiasi adenokarsinoma kolorektal.

Kata kunci: Adenokarsinoma kolorektal, diferensiasi, imunoekspresi PI3K, imunoekspresi VDR

Vitamin D Receptor (VDR) and *Phosphatidylinositol* 3-Kinase (PI3K) Independently Affected Colorectal Adenocarcinoma Differentiation

Abstract

Targeted therapy in carcinoma colorectal such as is as calcitriol and *Phosphatidyl* Inositol 3 Kinase (PI3K) is an alternative therapy for better treatment outcome. The aim of this study was to determine the correlation between VDR and PI3K immunexpression with the degree of differentiation (grading) in colorectal adenocarcinoma. Cross-sectional, categorical analysis of 30 paraffin blocks of colorectal adenocarcinoma (low and high grade group, 15 cases each) obtained from Department of Pathology Faculty of Medicine, Universitas Padjadjaran/Dr Hasan Sadikin General Hospital Bandung. Analysis of Lambda showed that immunexpression of VDR and PI3K affected differentiation of colorectal adenocarcinoma ($p=0.029$, $p=0.0225$, $R=0.533$). Based on p value, PI3K is stronger than VDR in influencing the degree of differentiation. Spearman analysis showed that simultaneous immunexpression of VDR and PI3K was not shown to correlate with differentiation ($p=0.186$, $p<0.05$, $R=0.248$). Positive immunexpression of VDR and PI3K correlates with low-grade group. It can be concludes that VDR does not use the MAPK pathway together with PI3K to affect differentiation of colorectal adenocarcinoma.

Keywords: Colorectal adenocarcinoma, differentiation, PI3K immunexpression, VDR Immunexpression,

Korespondensi: Yulie Erida, dr., Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Hasan Sadikin, Bandung, Indonesia, *email:* yulierida11@gmail.com

Naskah diterima: 16 April 2015, Diterima untuk diterbitkan: 13 Juli 2015, Diterbitkan: 1 Desember 2015

Pendahuluan

Karsinoma kolorektal merupakan keganasan yang berasal dari epitel mukosa kolon atau rektum.¹ Keganasan tersebut menjadi masalah kesehatan nasional karena merupakan jenis kanker urutan ketiga terbanyak di Indonesia. Skrining kolonoskopi yang rendah dan perubahan pada gaya hidup mempunyai peran terhadap peningkatan insidensi keganasan ini. Angka kejadian karsinoma kolorektal di Indonesia sekitar 19,1 pada pria dan 15,6 pada wanita per 100.000 penduduk.² Berdasarkan data dari *The North American Association of Central Cancer Registries* (NAACCR) tahun 2013, karsinoma kolorektal masih merupakan kanker yang menyebabkan kematian dan mengalami peningkatan jumlah kasus baru urutan ketiga di dunia.³

Terapi utama pada karsinoma kolorektal adalah operasi pengangkatan tumor primer. Kemoterapi sistemik sampai saat ini masih digunakan sebagai terapi pendamping selain operasi untuk meningkatkan angka ketahanan hidup pasien terutama karsinoma kolorektal stadium lanjut. Namun seringkali kemoterapi belum memberikan hasil yang memuaskan dan dapat juga mengakibatkan efek samping terhadap pasien yang intoleran.⁴ Beberapa terapi target untuk kanker yang sedang diteliti akhir-akhir ini adalah calcitriol dan inhibitor *Phosphatidylinositol 3-Kinase* (PI3K). Calcitriol merupakan metabolit vitamin D yang aktif. Calcitriol pada eksperimen secara *invivo* dan *invitro* mengindikasikan cara kerja yang sinergis dengan agen kemoterapi.^{5,6} Hubungan yang kuat antara status vitamin D yang rendah dan peningkatan morbiditas kanker telah dilaporkan pada karsinoma payudara, prostat, dan ovarium.⁷

Aktivitas calcitriol dimediasi oleh reseptor vitamin D (*Vitamin D Receptor/VDR*).⁸ VDR ini merupakan anggota dari reseptor hormon steroid dan mengatur ekspresi gen secara *ligand-dependent manner*.^{5,9} Letak VDR

berada di inti sel, sitoplasma, dan membran sel.¹⁰ Pada penelitian oleh Deeb dan Trump⁵ menunjukkan bahwa diferensiasi sel pada adenokarsinoma kolorektal dapat dipengaruhi oleh VDR.⁵ Peran VDR dalam menghambat perkembangan dan progresivitas pada tumor adalah melalui proses induksi diferensiasi selular dan proliferasi.⁵ Reseptor vitamin D memengaruhi diferensiasi dengan cara meningkatkan ekspresi enzim *brush borders* serta memperkuat morfologi microvilli dengan merangsang maturasi dari membran apikal microvilli pada kultur sel kanker kolon sehingga membentuk morfologi *well differentiated* tumor.¹¹

Ekspresi VDR dapat menjadi berlebih (*over expressed*) atau menjadi kurang terekspresi (*supressed*) pada berbagai jenis kanker.⁹ Over ekspresi VDR mengindikasikan jumlah reseptor vitamin D yang banyak sehingga dapat mengikat calcitriol. Identifikasi VDR pada jaringan tumor dengan cara pemeriksaan imunohistokimia merupakan metode yang baik dan menjadi modalitas perkembangan terapi target.⁸

Jalur dari PI3K dalam memengaruhi diferensiasi telah diteliti oleh Patrick dkk¹² dengan menggunakan kultur sel karsinoma kolon. Peneliti melaporkan bahwa aktivasi PI3K dapat meningkatkan integritas *adherens junction* dan mengaktifasi p38 *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK) yang mempunyai peran penting untuk diferensiasi sel epitel pada intestinal.^{12,13} PI3K merupakan produk protein dari *Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase, Catalytic Subunit Alpha* (PIK3CA). Meningkatnya imunoekspresi PI3K merupakan salah satu bentuk mutasi PIK3CA.¹⁴ PI3K merupakan jalur sinyal yang penting untuk mengatur fungsi dan morfologi diferensiasi sel epitel intestinal. Mekanisme aktivasi *feed back* antara E-cadherin dan PI3K menyebabkan terbentuknya *adherens junction* atau kontak antar sel serta berhubungan dengan komponen

cytoskeleton. Kontak antar sel yang dimediasi oleh E-cadherin merupakan fase penting inisiasi proses diferensiasi. Semakin tinggi kontak antar sel, maka derajat diferensiasi akan semakin baik.¹² Terapi calcitriol dan inhibitor PI3K dapat diberikan pada derajat diferensiasi tumor karena diduga keduanya dapat memengaruhi diferensiasi dari tumor.^{12,15}

Derajat diferensiasi yang dipakai adalah sistem klasifikasi *grading system* yang dianjurkan oleh WHO tahun 2010, yaitu menggunakan *2-tiered grading system* berupa *low grade* yang terdiri dari *well differentiated* dan *moderately differentiated* serta *high grade* yang terdiri dari *poorly differentiated* dan *undifferentiated*.¹

Meskipun penelitian mengenai hubungan ekspresi VDR dan PI3K pada progresivitas adenokarsinoma kolorektal telah banyak diteliti, akan tetapi hubungan antara VDR dan PI3K dengan derajat diferensiasi masih belum banyak diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui peranan VDR dan PI3K terhadap derajat diferensiasi (*grading*) adenokarsinoma kolorektal dan diharapkan dapat dijadikan acuan penelitian selanjutnya dalam pengembangan terapi target.

Metode

Bahan pada penelitian ini adalah blok parafin dari penderita yang telah dilakukan tindakan operasi kolektomi dan didiagnosis secara histopatologi sebagai adenokarsinoma kolon atau rektum pada 1 Januari 2009–30 Juni 2014. Kriteria inklusi adalah kasus adenokarsinoma kolorektal konvensional menurut kriteria WHO (2010).¹ Kriteria eksklusi adalah blok parafin yang rusak atau habis dan sampel yang tidak bisa dipulas dengan hematoxilin eosin, imunohistokimia VDR, dan PI3K.

Penelitian ini terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok *low grade* dan *high grade*, masing-masing yaitu sebanyak 15 sampel. Rancangan pada penelitian ini berupa studi

observasional analitik potong lintang dan analisis korelasi untuk mencari hubungan antar variabel bebas (imunoekspresi VDR atau PI3K) dengan variabel tergantung (derajat diferensiasi atau *grading*).

Imunoekspresi VDR dan PI3K adalah imunoreaktif sel tumor terhadap pulasan imunohistokimia yang menggunakan antibodi VDR dan PI3K. Penilaian imunoekspresi VDR dilakukan dengan melihat intensitas dan distribusi pulasan imunohistokimia. Antibodi primer yang digunakan adalah *mouse anti-human VDR* (D-6) antibodi monoklonal (Santa Cruz Biotechnology) dengan pengenceran 1:500 dalam larutan PBS. Intensitas terdiri dari negatif (skor 0), lemah (skor 1), sedang (skor 2), dan kuat (skor 3). Penilaian distribusi dilakukan dengan cara membagi satu lapang pandang besar menjadi 4 bidang yang sama besar sehingga satu bidang dinilai sebagai distribusi 25%. Persentase sel pada keempat bidang tersebut kemudian dijumlahkan sehingga didapatkan total ekspresi VDR satu lapang besar. Setelah mendapatkan nilai rata-rata, lalu ditentukan tingkat distribusi.⁹ 0=negatif, 1=<10%, 2=10–50%, 3=>50%. Berdasarkan nilai intensitas dan distribusi ekspresi VDR dapat dihitung *Histoscore* (Intensitas x Distribusi), yaitu lemah (1–3), sedang (4–6), dan kuat (7–9).

Penilaian imunoekspresi PI3K dilakukan dengan melihat intensitas dan distribusi. Antibodi primer untuk pulasan PI3K menggunakan *rabbit monoclonal antihuman-Phosphatidylinositol 3-Kinase catalytic subunit alpha Antibody* (Abcam) dengan pengenceran 1:100. Penilaian pada intensitas sama dengan penilaian imunoekspresi VDR, sedangkan distribusi ditentukan dengan nilai yaitu 0= tidak ada sel yang terpulas coklat, 1= <30% sel terpulas coklat dan 2= > 30% sel terpulas coklat. Penilaian imunoekspresi PI3K dinyatakan positif terhadap imunoekspresi PI3K yaitu apabila sel tumor terpulas coklat >30%.¹⁶

Tabel 1 Data Klinikopatologi Adenokarsinoma Kolorektal

Variabel	N (%)
Jenis kelamin	
Laki-laki	12 (40%)
Perempuan	18 (60%)
Usia	
Median	51
Range	49
Derajat diferensiasi histopatologi (<i>Grading</i>)	
<i>Low grade</i>	15 (50%)
<i>High grade</i>	15 (50%)
<i>Staging</i>	
I	5 (16.7%)
II	12 (40%)
III	13 (43.3%)
Total subjek penelitian	30 (100%)

Analisis statistik yang digunakan adalah analisis statistik bivariabel. Uji korelasi imunoekspresi VDR dan PI3K terhadap derajat diferensiasi pada adenokarsinoma kolorektal dianalisis dengan menggunakan *Lambda Test*. *Spearman Test* digunakan untuk mengetahui korelasi antara imunoekspresi PI3K dengan imunoekspresi VDR. Signifikansi hasil uji ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$.

Aspek etik pada penelitian ini adalah kerahasiaan hasil diagnosis dari sampel blok parafin yang digunakan dalam penelitian hanya diketahui oleh peneliti dan dijamin kerahasiaannya. Penelitian ini memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Hasan Sadikin, Bandung.

Hasil

Sampel yang digunakan adalah blok parafin dari 30 pasien yang diikutsertakan dalam penelitian ini (Tabel 1). Usia pasien >40 tahun lebih banyak daripada usia <40 tahun. Jenis kelamin perempuan lebih dominan dibandingkan laki-laki. Stadium pasien pada penelitian ini yang paling banyak adalah stadium III.

Berdasarkan hasil analisis imunoekspresi, kelompok *low grade* memberikan hasil positif kuat imunoekspresi VDR sebanyak 10 kasus (66,6%), sedangkan pada kelompok *high grade* hanya 3 kasus (20%) (Tabel 2). Berdasarkan hasil eksperimen imunoekspresi VDR menunjukkan korelasi yang signifikan

Tabel 2 Hasil Imunoekspresi VDR berdasarkan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal

Imunoekspresi (<i>histoscore</i>)	Derajat diferensiasi				Total Σ	%
	<i>High grade</i>		<i>Low grade</i>			
	n	%	n	%		
VDR	Negatif	0	0	0	0	0
	Lemah	9	60	1	6,7	33
	Sedang	3	20	4	26,7	23
	Kuat	3	20	10	66,6	44
Total		15	100	15	100	100

Tabel 3 Korelasi antara Imunoekspresi VDR dengan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal

	Derajat Diferensiasi Histopatologi (<i>Grading</i>)		R	P value
	<i>High grade</i>	<i>Low grade</i>		
Imunoekspresi VDR				
Lemah	9 (60%)	1 (6,7%)	0,533	0,029**
Sedang	3 (20%)	4 (26,7%)		
Kuat	3 (20%)	10 (66,6%)		

(p value 0,029) antara imunoekspresi VDR dengan derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal (Tabel 3). Berdasarkan kriteria Guillford juga menunjukkan korelasi yang positif (R: 0,533) sehingga semakin kuat imunoekspresi VDR akan semakin baik diferensiasi adenokarsinoma kolorektal.

Hasil imunoekspresi PI3K menunjukkan kelompok *high grade* memberikan hasil yang negatif terhadap antibodi PI3K, yaitu sebanyak 4 kasus (26,7%) sedangkan pada kelompok *low grade* tidak ditemukan adanya hasil imunoekspresi PI3K yang negatif. Kelompok *low grade* sebanyak 8 kasus (53,3%) memberikan hasil yang positif kuat terhadap antibodi PI3K sedangkan kelompok *high grade* hanya 1 kasus (6,6%) (Tabel 4).

Imunoekspresi PI3K memiliki korelasi secara signifikan (p value: 0,0225) terhadap derajat diferensiasi pada adenokarsinoma kolorektal (Tabel 5). Berdasarkan kriteria Guillford (R:0,533), terdapat korelasi antara imunoekspresi PI3K dengan derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal sehingga semakin kuat imunoekspresi PI3K akan semakin baik

diferensiasi adenokarsinoma kolorektal.

Hasil pengujian korelasi Spearman antara imunoekspresi VDR dengan PI3K menunjukkan tidak terdapat korelasi yang signifikan (p value 0,186; R: 0,248) antara imunoekspresi VDR dengan PI3K pada adenokarsinoma kolorektal (Tabel 6).

Pembahasan

Pembentukan kelenjar menjadi dasar penentu pada derajat diferensiasi histopatologi (*grading*) pada kasus adenokarsinoma yang konvensional. Lebih dari 90% karsinoma kolorektal merupakan adenokarsinoma.¹ Sekitar 70% adenokarsinoma kolorektal didiagnosis sebagai adenokarsinoma yang berdiferensiasi sedang. Adenokarsinoma yang berdiferensiasi baik dan buruk hanya sekitar 10% dan 20%. Beberapa penelitian yang menggunakan 2 kelompok sistem derajat diferensiasi (*grading*), yaitu kelompok derajat diferensiasi *low grade* (>50% pembentukan kelenjar) yang terdiri dari kombinasi derajat diferensiasi baik dan derajat diferensiasi

Tabel 4 Hasil Imunoekspresi PI3K berdasarkan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal

Imunoekspresi	Grading				Total Σ	%	
	n	%	n	%			
PI3K	Negatif	4	26,7	0	0	4	13,3
	Lemah	6	40	2	13,3	8	26,7
	Sedang	4	26,7	5	33,3	9	30
	Kuat	1	6,6	8	53,3	9	30
Total		15	100	15	100	30	100

Tabel 5 Korelasi antara Imunoekspresi PI3K dengan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal

	Derajat Diferensiasi Histopatologi (<i>Grading</i>)		R	<i>p-value</i>
	<i>High grade</i>	<i>Low grade</i>		
Imunoekspresi VDR				
Negatif	4 (26,7%)	0 (0%)	0,533	0,0225**
Lemah	6 (40%)	2 (13,3%)		
Sedang	4 (26,7%)	5 (33,3%)		
Kuat	1 (6,6%)	8 (53,3%)		

sedang, serta kelompok derajat diferensiasi *high grade* (<50% pembentukan kelenjar) yang terdiri dari *poorly differentiated* (>0-49% pembentukan kelenjar) dan *undifferentiated* (tidak ada pembentukan kelenjar), untuk derajat diferensiasi buruk.¹ Hal tersebut digunakan untuk mengurangi variasi dalam penilaian derajat diferensiasi diantara para peneliti. Kelompok diferensiasi *high grade* dan kelompok diferensiasi *low grade* masing-masing memiliki perbedaan prognosis yang signifikan. Derajat diferensiasi atau *grading* merupakan faktor prognosis yang penting dan telah banyak dibuktikan di beberapa penelitian analitik multivariat.¹⁷ Penelitian oleh Derwinger¹⁸ melaporkan bahwa derajat diferensiasi mempunyai hubungan yang signifikan dengan setiap komponen dari sistem Tumor, Node, Metastasis (TNM). Sistem TNM merupakan faktor prognostik yang berhubungan secara langsung dengan ketahanan hidup pasien.

Penelitian tentang reseptor vitamin D dan calcitriol telah dilakukan pada tumor xenograf model dengan menggunakan galur sel tumor karsinoma kolon, payudara, prostat, retinoblastoma, dan osteosarcoma.⁷ Pada penelitian ini digunakan analisis imunohistokimia pada jaringan tumor pasien.

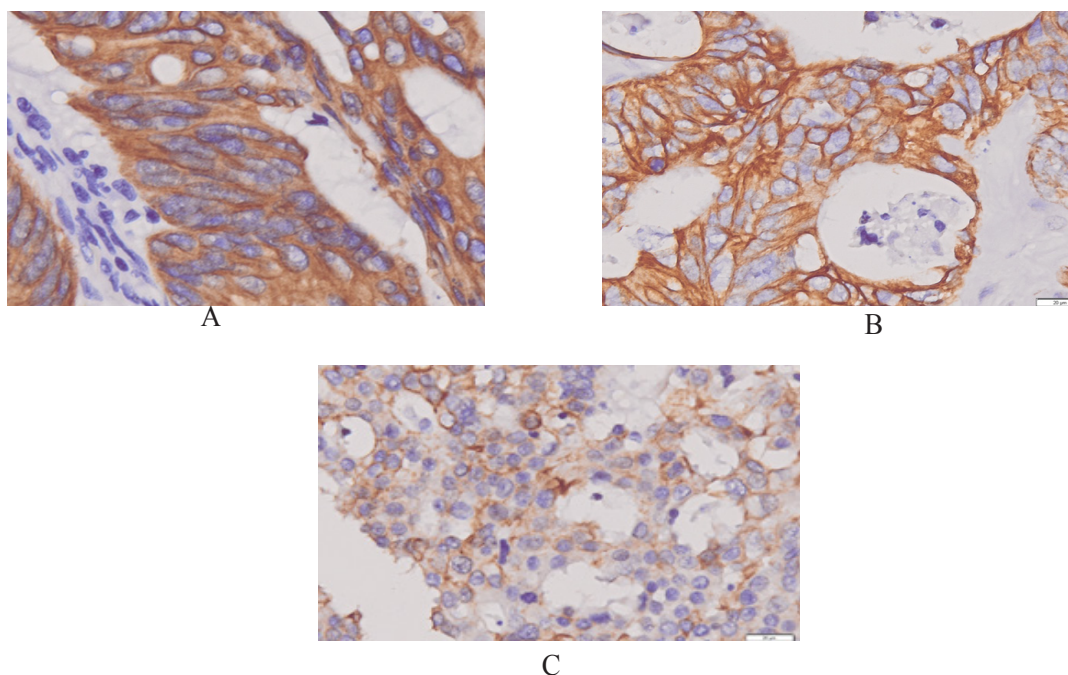
Adanya peningkatan imunoekspresi VDR

pada adenokarsinoma kolorektal merupakan indikator prognosis yang baik karena VDR meningkatkan ekspresi beberapa komponen struktur adhesi antar sel yang penting untuk mempertahankan fenotip epitelial, yaitu occludin, zonula occludens (ZO)-1, -2, dan claudin-2, -12 pada *tight junction*, E-cadherin pada *adherens junctions* serta plectin pada *hemidesmosomes*. Protein VDR juga meningkatkan enzim *brush borders* seperti viz, villin, dan isomaltase serta memperkuat formasi microvilli dengan merangsang maturasi dari membran apikal microvilli pada kultur sel karsinoma kolon.¹¹

Mekanisme VDR dalam memengaruhi diferensiasi dapat melalui jalur genomik di inti sel yaitu vitamin D atau dalam bentuk aktifnya calcitriol berikatan dengan VDR membentuk heterodimer dengan retinoic X reseptor (RXR) dan dengan ligannya (9 *cis*-retinoic acid). Dimer tersebut membentuk kompleks dengan vitamin D *response elements* (VDREs) yang berhubungan dengan transkripsi gen untuk menghasilkan fungsi diferensiasi.^{7, 11} VDR juga memiliki jalur nongenomik yang berada di sitoplasma dengan mekanisme *rapid action* VDR mengikat calcitriol pada membran VDR di caveolae membran plasma. Ikatan VDR dengan calcitriol pada membran plasma

Tabel 6 Korelasi Imunoekspresi VDR dengan Imunoekspresi PI3K

VDR	Nilai R	<i>p-value</i>
PI3K	0,248	0,186

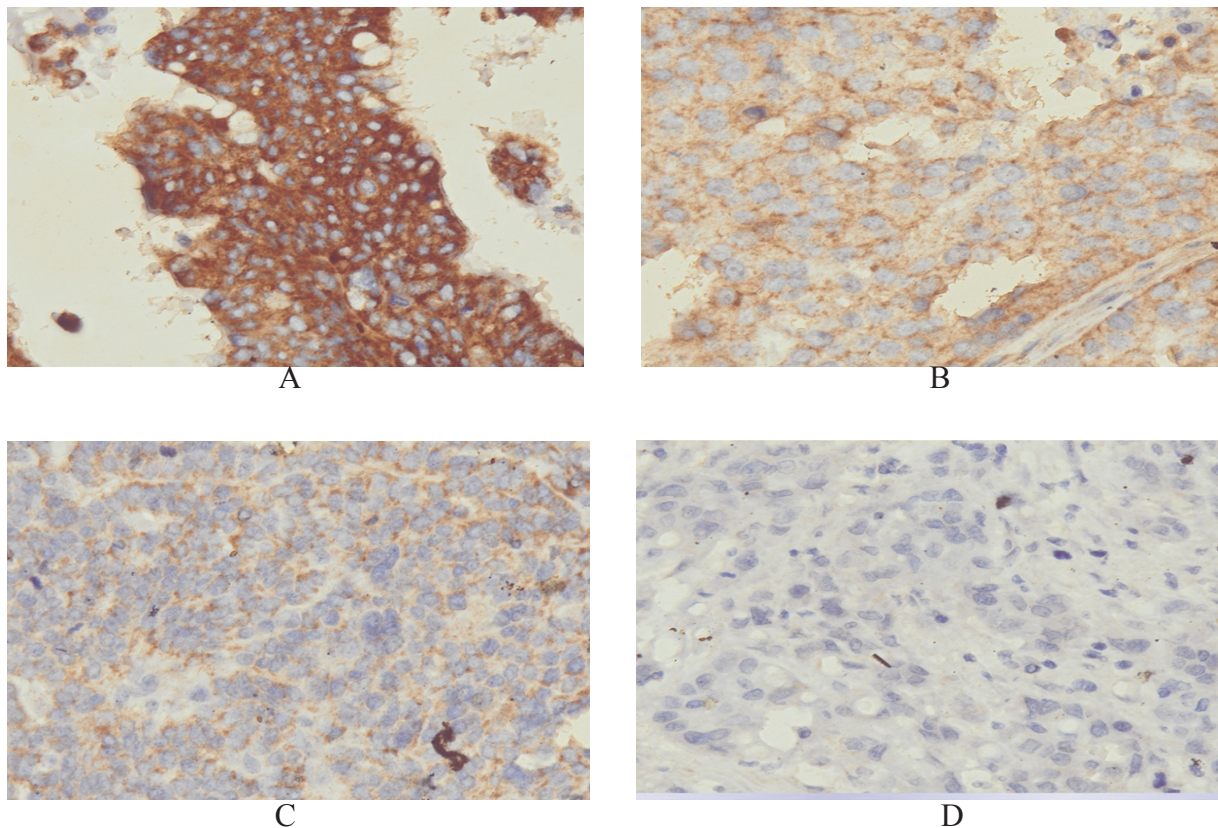


Gambar 1 Pulasan Imunoekspresi VDR Intensitas kuat, sitoplasma dan membran sel tumor berwarna coklat tua ditunjukkan pada gambar (a), sedangkan intensitas sedang, sitoplasma dan membran sel tumor berwarna coklat yang lebih muda daripada gambar (a) ditunjukkan pada gambar (b). Intensitas lemah, sitoplasma dan membran sel tumor berwarna coklat muda ditunjukkan pada gambar (c). Masing-masing dengan perbesaran 400x.

mengaktivasi beberapa *second messenger system* termasuk PI3K.^{5,19} Selanjutnya PI3K melalui jalur Akt mengaktivasi p38-MAPK yang berperan dalam diferensiasi. PI3K dapat melakukan *cross-talk* dengan RAS-RAF/MAPK untuk memulai *cross-talk* kembali dengan jalur genomik dengan VDR.¹⁹

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara imunoekspresi VDR dengan derajat diferensiasi pada adenokarsinoma kolorektal. VDR berkorelasi dengan kelompok *low grade* sehingga pemberian terapi target vitamin D atau dalam bentuk aktifnya yaitu calcitriol dapat diberikan pada kelompok *low grade*. Jumlah reseptor vitamin D yang meningkat pada jaringan tumor akan berespons terhadap terapi calcitriol sebagai bentuk aktif dari metabolit vitamin D.^{20,21}

Hasil pemeriksaan imunohistokimia PI3K pada penelitian ini menunjukkan frekuensi imunoekspresi PI3K lebih banyak ditemukan pada kelompok *low grade* dibandingkan pada *high grade*. Hal tersebut dimungkinkan karena PI3K merupakan jalur sinyal yang penting untuk mengatur fungsi dan morfologi diferensiasi sel epitel intestinal. PI3K memengaruhi diferensiasi melalui E-cadherin yang menstimulasi PI3K dari mekanisme jalur tersebut saat terjadi kontak antar sel, dan aktivasi tersebut penting untuk terbentuknya *adherens junction*. Selanjutnya PI3K melalui jalur Akt akan mengaktivasi p38-MAPK untuk meningkatkan CDX2, suatu produk *homeobox* gen spesifik intestinal yang dikenal mempunyai efek terhadap diferensiasi intestinal. Protein p38-MAPK berfungsi meningkatkan ekspresi transkripsi



Gambar 2 Pulasan Imunoekspresi PI3K Intensitas kuat, sitoplasma sel tumor berwarna coklat tua ditunjukkan pada gambar (a), sedangkan intensitas sedang, sitoplasma sel tumor berwarna coklat yang lebih muda dari gambar (a) ditunjukkan pada gambar (b). Intensitas lemah, sitoplasma tumor bewarna coklat muda ditunjukkan pada gambar (c). Negatif, sitoplasma sel tumor tidak terpulas coklat ditunjukkan pada gambar (d). Masing-masing dengan perbesaran 400x.

gen spesifik intestinal seperti viz, villin, dan *sucrose-isomaltase*.^{12,13}

Pada penelitian ini mutasi PI3K lebih banyak ditemukan pada kelompok *low grade* yang merupakan 80% dari adenokarsinoma kolorektal konvensional. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Noshodk²² yang mendeteksi mutasi PIK3CA pada karsinoma kolorektal dan diperoleh hasil bahwa frekuensi mutasi PIK3CA lebih sering ditemukan pada *well differentiated tumour* (25%=44/179) daripada *poorly differentiated tumour* (12%=47/407). Terapi target inhibitor PI3K dapat diberikan pada adenokarsinoma kolorektal kelompok *low grade*. Penelitian ini dapat memberikan pendekatan untuk

penggunaan target terapi pada pasien dengan profil molekuler yang sesuai.

Menurut hasil penelitian ini, diketahui korelasi imunoekspresi PI3K terhadap derajat diferensiasi dengan *p value* 0,0225 ($p < 0,05$) dan imunoekspresi VDR terhadap derajat diferensiasi dengan *p value* 0,029 ($p < 0,05$), maka diperoleh simpulan bahwa lebih kuat korelasi PI3K daripada VDR terhadap derajat diferensiasi. Walaupun mempunyai keeratan korelasi yang sama yaitu nilai koefisien R: 0,533, akan tetapi nilai signifikansi (nilai *p*) pada kedua variabel tersebut berbeda sehingga nilai *p* yang lebih kecil menunjukkan korelasi yang lebih kuat dalam memengaruhi derajat diferensiasi.

Hasil analisis Spearman mengkorelasikan variabel imunoekspresi VDR dengan PI3K adenokarsinoma kolorektal diketahui tidak terdapat korelasi yang bermakna secara statistik antara variabel imunoekspresi VDR dengan imunoekspresi PI3K pada derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal. Berdasarkan dari nilai koefisien korelasi (R) diperoleh data arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi lemah. Reseptor Vitamin D dan PI3K masing-masing berkorelasi dengan diferensiasi, akan tetapi secara bersamaan atau simultan keduanya tidak terbukti berkorelasi dengan diferensiasi. Berdasarkan penelitian ini hal tersebut dapat disebabkan karena pada jalur PI3K sering terjadi mekanisme *cross-talk* dengan RAS/MAPK.²³

Cross-talk antara Ras dan PIK3CA telah diteliti oleh Barault dkk²⁴ yang menyebutkan bahwa pada karsinoma kolorektal, V-Ki-Ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene (KRAS), Gen *Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase, Catalytic Subunit Alpha (PIK3CA)* dan *v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF)* telah ditemukan secara signifikan mengalami mutasi lebih dari 50%, yang menyebabkan aktivasi jalur RAS-MAPK dan PI3K serta menyebabkan karsinogenesis. RAS-MAPK dan jalur PI3K saling berhubungan kuat dan memiliki peran sentral tumorigenesis melalui fosforilasi protein atau faktor transkripsi yang meregulasi langsung pertumbuhan sel, diferensiasi, dan apoptosis.

Simpulan

Terdapat peranan penting dari VDR dan PI3K dalam mempertahankan diferensiasi tumor yang telah dibuktikan dengan adanya imunoekspresi PI3K yang positif kuat dan jumlah reseptor vitamin D lebih tinggi pada kelompok *low grade* dan lebih rendah pada kelompok *high grade* dengan perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat digunakan

sebagai acuan dalam mempertimbangkan pemberian terapi calcitriol dan inhibitor PI3K pada adenokarsinoma kolorektal derajat diferensiasi *low grade*. PI3K terbukti lebih kuat daripada VDR dalam memengaruhi diferensiasi. VDR dan PI3K secara bersamaan tidak terbukti berkorelasi dengan diferensiasi kemungkinan disebabkan mekanisme *cross-talk* PI3K yang lebih sering dengan jalur RAS, daripada aktivasi VDR terhadap PI3K. VDR melalui jalur genomik langsung dapat memengaruhi diferensiasi sedangkan jalur PI3K memengaruhi diferensiasi melalui jalur MAPK. VDR tidak menggunakan jalur MAPK bersama-sama dengan PI3K untuk mempengaruhi diferensiasi.

Daftar Pustaka

1. Hamilton SR, Bosman F, Boffeta P. Carcinoma of the colon and rectum. Dalam: Bosman FT, Carneiro F, R.H.Hruban, N.D. Theise, editors. WHO classification of tumours of the digestive system. 3. Edisi ke 4. Lyon: IARC Press; 2010.
2. Abdullah M, Sudoyo AW, Utomo AR. Molecular profile of colorectal cancer in Indonesia. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*. 2012; 5(2):71–8.
3. Desantis C, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics for African Americans. *Cancer J Clinicians*. 2013;00(0):1–16. doi: 10.3322/caac.21173
4. De Hertogh G, Geboes KP. Practical and molecular evaluation of colorectal cancer: new roles for the pathologist in the era of targeted therapy. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(6):853–63. doi: 10.1043/1543-2165-134.6.853.
5. Deeb K, Trump D, Johnson C. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(9):684–700.

- doi:10.1038/nrc2196
6. Ma Y, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D in combination cancer treatment. *J Cancer*. 2010;1:101–7.
 7. Gocek E, Studzinski GP. Vitamin D and differentiation in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2009;46(4):190:1–31. doi: 10.1080/10408360902982128.
 8. Wang Y, Zhu J, DeLuca HF. Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophysics*. 2012;523(1):123–33. doi: 10.1016/j.abb.2012.04.001.
 9. Kure S, Noshio K, Baba Y, Irahara N, Shima K, Ng K, et al. Vitamin D receptor expression is associated with PIK3CA and KRAS mutations in colorectal cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2009;18(10):2765–72. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0490
 10. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metabolism Clin North America*. 2010;39(2):255–69. doi: 10.1016/j.ecl.2010.02.007.
 11. Pereira F, Larriba MJ, Munoz A. Vitamin D and colon cancer. *Endocrine-related cancer*. 2012;19(3):51–71. doi: 10.1530/ERC-11-0388.
 12. Laprise P, Chailier P, Houde M, Beaulieu JF, Boucher MJ, Rivard N. Phosphatidylinositol 3-kinase controls human intestinal epithelial cell differentiation by promoting adherens junction assembly and p38 MAPK activation. *J Biol Chem*. 2002; 277(10):8226–34. doi: 10.1074/jbc.M110235200
 13. Salvatore Pece MC, Cristina Murga J, Gutkind S. Activation of the protein kinase Akt/PKB by the formation of E-cadherin-mediated cell-cell junctions. *J Biol Chem*. 1999;274(27):19347–51. doi: 10.1074/jbc.274.27.19347
 14. Zhu YF, Yu BH, Li DL, Ke HL, Guo XZ, Xiao XY. PI3K expression and PIK3CA mutations are related to colorectal cancer metastases. *World J Gastroenterol*. 2012;18(28):3745–51. doi: 10.3748/wjg.v18.i28.3745.
 15. Samuel S, Sitrin MD. Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation. *Nutrition Rev*. 2008;66(10 Suppl 2):116–24. doi: 10.1111/j.1753-4887.2008.00094.x.
 16. Cui W, Cai Y, Wang W, Liu Z, Wei P, Bi R, et al. Frequent copy number variations of PI3K/AKT pathway and aberrant protein expressions of PI3K subunits are associated with inferior survival in diffuse large B cell lymphoma. *J Transl Med*. 2014;12(10):1–11. doi: 10.1186/1479-5876-12-10.
 17. Khan H. Elucidation of etiology of colorectal cancer: a study on silencing of MGMT gene by promoter hypermethylation (Disertasi): University of Kashmir, Srinagar; 2011.
 18. Derwinger K, Kodeda K, Bexé-Lindskog E, Tafllin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncologica*. 2010;49(1):57–62. doi: 10.3109/02841860903334411.
 19. Vuolo L1, Di Somma C, Faggiano A, Colao A. Vitamin D and cancer. *Front endocrinol*. 2012;3:1–11. doi: 10.3389/fendo.2012.00058
 20. Evans SR, Nolla J, Hanfelt J. Vitamin D receptor expression as a predictive marker of biological behavior in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 1998;4(7):1591–5.
 21. Shabahang M, Buras RR, Davoodi F. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptor as a marker of human colon carcinoma cell

- line differentiation and growth inhibition. *Cancer Res.* 1993;53:3712–8.
22. Noshō K, Kawasaki T, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Zepf D, et al. PIK3CA mutation in colorectal cancer: relationship with genetic and epigenetic alterations. *Neoplasia.* 2008;10(6):534–41.
23. Castellano E, Downward J. RAS interaction with PI3K: more than just another effector pathway. *Genes Cancer.* 2011;2(3):261–74. doi: 10.1177/1947601911408079.
24. Barault L, Veyrie N, Jooste V, Lecorre D, Chapusot C, Ferraz JM, et al. Mutations in the RAS-MAPK, PI(3)K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers. *Int J Cancer.* 2008;122(10):2255–9.