

**PERBANDINGAN RASIO *MATRIX METALLOPROTEINASE-9* DAN
TISSUE INHIBITORS OF METALLOPROTEINASE-1
PADA *CARSINOMA MAMMAE***

**COMPARISON OF *MATRIX METALLOPROTEINASE-9* AND
TISSUE INHIBITORS OF METALLOPROTEINASE-1 RATIO
IN BREAST CANCER**

**ERVIANI ZUHRIAH
P1507209186**



**KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
TERPADU
(*COMBINED DEGREE*)
PROGRAM STUDI BIOMEDIK PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2014**

**PERBANDINGAN RASIO *MATRIX METALLOPROTEINASE-9* DAN
TISSUE INHIBITORS OF METALLOPROTEINASE-1
PADA *CARSINOMA MAMMAE***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi Biomedik

Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu

Disusun dan Diajukan Oleh

ERVIANI ZUHRIAH

Kepada

**KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS TERPADU
PROGRAM STUDI BIOMEDIK PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2014**

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erviani Zuhriah

Nomor Mahasiswa : P15072090186

Program Studi : Program Dokter Spesialis Terpadu Patologi
Klinik (*Combined Degree*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, November 2013

Yang menyatakan,

Erviani Zuhriah

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang Maha Kuasa, Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Perbandingan Rasio *Matrix Metalloproteinase-9* dan *Tissue of Inhibitor Metalloproteinase-1* pada *Carcinoma Mammae*”** sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik maupun Program Pendidikan Magister.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis menghaturkan terima kasih yang tulus kepada dr. Uleng Bahrin, SpPK (K), PhD selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan dr. H. Ibrahim Abd. Samad, SpPK(K) selaku Anggota Penasihat / Sekretaris Pembimbing, atas segala bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan dan pelaksanaan penelitian sampai dengan selesainya tesis ini.

Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Guru Besar Emeritus di Bagian Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS (Alm) Prof. dr. Hardjoeno, SpPK(K); Ketua Bagian Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Prof. dr. Mansyur Arif, PhD, SpPK(K); Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS dr. Uleng Bahrin, SpPK (K), PhD; beserta seluruh Supervisor di Bagian Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS yang senantiasa memberikan arahan, bimbingan dan saran selama saya menjalani pendidikan hingga penyusunan tesis ini.
2. Dosen-dosen Penguji: dr. William Hamdani, SpB (K)Onk dan dr. Hj. Darmawaty ER, SpPK(K) atas kesediaan waktu dan saran-sarannya dalam penyempurnaan tesis ini.
3. Dr. dr. Arifin Seweng, MPH yang telah membimbing penulis dalam bidang Metode Penelitian dan Statistik selama penyusunan tesis ini.
4. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
5. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, RS. Ibnu Sina Makassar, RS. Labuang bassi Makassar, RS. Stella Maris, RS. Universitas Hasanuddin Makassar beserta staf yang telah membantu selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
6. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.

7. Pemerintah Daerah Kabupaten Muna dan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
8. Teman-teman PPDS Patologi Klinik teman berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis, yang telah banyak memberikan bantuan, motivasi, dukungan dan semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga tali silaturahmi ini tetap terjaga,
9. Penderita *carcinoma Mammae* yang dengan sukarela berpartisipasi dalam penelitian ini, bantuan dari ibu dan keluarga sangat berarti bagi penulis,

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda La Midi Bc.AP (Alm) dan Ibunda Hj. Ahiya, serta kedua mertua saya La Teke (Alm) dan Wa Ode Mata (Alm) atas doa tulus, kasih sayang dan dukungan semangat selama ini. Terima kasih buat saudara-saudara saya tercinta Dra. Erni Harjaty, MPd, Ir. Syaiful Bachri, Ir. Asniar, MP, Sachrul Ramadhan ST,MT, Maulidin Ridwan, ST dan dr. Asriati, M.Kes yang telah memberikan bantuan moriil maupun materil secara langsung maupun tidak langsung serta seluruh keluarga besar atas kasih sayang dan dukungan serta doa tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Khusus kepada suami tercinta, Muksith, SKM,MMKes dengan penuh keharuan dan kecintaan penulis sampaikan terima kasih atas segala pengorbanan, pengertian, dukungan, semangat dan doa tulus selama ini yang telah mengiringi perjalanan panjang penulis dalam mengikuti pendidikan. Terima kasih atas kerelaan, keikhlasan dan kesabaran untuk mengizinkan penulis melanjutkan pendidikan di kota Makassar sehingga begitu banyak waktu kebersamaan yang terlewatkan.

Terima kasih pula untuk kedua ananda tersayang Muhammad Muflinur LT dan Siti Musdalifah, dengan penuh keharuan dan kebanggaan penulis sampaikan terima kasih atas segala pengorbanan, pengertian, dukungan, semangat dan doa tulus selama ini yang telah mengiringi perjalanan panjang penulis dalam mengikuti pendidikan. Kalian berdua merupakan sumber inspirasi dan semangat bagiku.

Terima kasih penulis sampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberi bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung.

Melalui kesempatan ini pula, perkenankan penulis menghaturkan permohonan maaf yang setulus-tulusnya atas segala kekhilafan dan kesalahan yang telah dilakukan baik sengaja maupun tidak sengaja selama masa pendidikan sampai selesainya tesis ini.

Penulis berharap tesis ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik

di masa yang akan datang. Semoga Allah SWT senantiasa menyertai dan memberkati setiap langkah pengabdian kita. Amin.

Makassar, November 2013

Erviani Zuhriah

ABSTRAK

ERVIANI ZUHRIAH. Perbandingan Rasio *Matrix Metalloproteinase-9* Dan *Tissue Inhibitors Of Metalloproteinase-1* pada *Carsinoma Mammae* (Dibimbing Oleh Uleng Bahrun dan Ibrahim Abd Samad)

Penelitian ini bertujuan untuk Menganalisis rasio kadar MMP-9 dan TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut.

Penelitian cross sectional dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS. Ibnu Sina Makassar. Selama bulan Juni 2013 sampai dengan September 2013 diperoleh total sampel 56 penderita *carcinoma mammae* berumur antara 31 – 68 tahun. Sampel dibagi menjadi dua kelompok yaitu stadium dini (stadium I dan II, n=12) dan stadium lanjut (stadium III dan IV, n=44). Kadar MMP-9 dan TIMP-1 diukur dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), menggunakan kit MMP-9 dan TIMP-1 Quantikine (R&D System, Minneapolis).

Hasil penelitian menunjukkan rerata rasio kadar MMP-9/TIMP-1 serum pada *carcinoma mammae* stadium dini adalah 3,08 dan pada stadium lanjut 3,15. *Independent sample T test* menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna rasio kadar MMP-9/TIMP-1 serum antara stadium dini dan stadium lanjut namun terdapat kecenderungan peningkatan rasio MMP-9/TIMP-1 pada stadium lanjut.

Kata kunci: *Matrix Metalloproteinase-9*, *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1*, *Carcinoma mammae*, Rasio MMP-9/TIMP-1, metastasis.

ABSTRACT

ERVIANI ZUHRIAH. Comparison Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitors Of Metalloproteinase-1 Ratio in Breast Cancer (Supervised By Uleng Bahrun and Ibrahim Abd Samad)

This research aims to analyze the ratio of MMP- 9 and TIMP - 1 patient's serum in the early and in the advanced breast cancer's stage. The research were conducted in Wahidin Sudirohusodo and Ibnu Sina hospitals, Makassar . The research methods was did by cross-sectional studied. This research was carried out from June 2013 to September 2013. Total samples were 56 patients, Their ages 31-68 years old, divided into two groups, i.e: the early-stage (stage I and II) 12 patients and the advanced stage (stage III and IV) 44 patients . The MMP-9 and TIMP-1 level were measured by ELISA method (enzyme-linked immunosorbent assay), using MMP-9 and TIMP-1 Quantikine from R & D Systems (Minneapolis) .

The results of this research indicated that the average level of MMP-9/TIMP-1 ratio in the early stage is 3.08 and in the advanced stage is 3.15. Independent sample t test indicates no significant differences in ratio MMP-9/TIMP-1 between in the early stage and in the advanced stage but has a trend to increase MMP-9/TIMP-1 ratio in the advanced stage.

Keywords : Matrix Metalloproteinase-9, Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1, breast cancer, MMP-9/TIMP-1 ratio, stage of breast cancer, metastatic

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	i
PRAKATA	ii
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Hipotesis Penelitian	6
E. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Payudara Normal	7
B. <i>Carcinoma mammae</i>	9
C. <i>Matrix Metalloproteinase</i>	25
D. <i>Matrix Metalloproteinase-9</i>	27

<i>E. Tissue Inhibitors of Metalloproteinase</i>	31
<i>F. Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1</i>	33
III. KERANGKA PENELITIAN	
A. Kerangka Teori	36
B. Kerangka Konsep	37
IV. METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	38
B. Tempat dan Waktu Penelitian	38
C. Populasi Penelitian	38
D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	39
E. Perkiraan Besar Sampel	39
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	39
G. Izin Penelitian dan Kelaikan Etik	40
H. Cara Kerja	40
I. Skema Alur Penelitian	46
J. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	46
K. Metode Analisis	47
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. HASIL PENELITIAN	49
B. PEMBAHASAN	54
VI. SIMPULAN DAN SARAN	
A. SIMPULAN	59
B. SARAN	59

DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	66

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Stadium <i>Carcinoma mammae</i> berdasarkan TNM dari AJCC tahun 2002	24
2. Klasifikasi stadium klinis berdasarkan klasifikasi TNM <i>Carcinoma mammae</i>	25
3. Struktur, gambaran dan fungsi dari TIMP	33
4. Karakteristik Sampel Penelitian	50
5. Perbandingan kadar MMP-9 dan TIMP-1 menurut ukuran tumor	53
6. Perbandingan rasio MMP-9/TIMP-1 menurut ukuran tumor	53

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Struktur glandula mammae	8
2. Gambaran skematik rangkaian kejadian dalam invasi membran basal epitel oleh sel tumor	16
3. Struktur dari matrix metalloproteinase	27
4. Induksi MMP-9 dalam fibroblas oleh sel-sel <i>carcinoma mammae</i>	29
5. Peran MMP dalam angiogenesis	30
6. Keseimbangan MMP-9/TIMP-1 dalam proses awal perkembangan tumor	35
7. Perbandingan rerata kadar MMP-9 dan TIMP-1 menurut stadium	51
8. Perbandingan rasio MMP-9/TIMP-1 menurut stadium	52

DAFTAR SINGKATAN

AJCC	: The American Joint Committee on Cancer
bFGF	: basic Fibroblast Growth Factor
CA 15-3	: Cancer Antigen 15-3
CEA	: Carcinoembryonic Antigen
CT Scan	: Computed Tomography Scan
DCIS	: Ductal Carcinoma in Situ
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EGF	: Epidermal Growth Factor
ECM	: Extracellular Matrix
FGF	: Fibroblast Growth Factor
HER-2	: <i>Human epidermal growth factor receptor 2</i>
HGF	: Hepatocyte Growth Factor
HIF	: Hypoxia-Inducible Transcription Factor
IGFBP	: Insulin-Like Growth Factor Binding Protein
IDC	: Invasive Ductal Carcinoma
LIF	: Leukaemia Inhibitory Factor
LRP	: Low Density Lipoprotein Reseptor-related Protein
MMP	: Matrix Metalloproteinase
MMP-9	: Matrix Metalloproteinase-9
MRI	: Magnetic Resonance Imaging
OSM	: Oncostatin M
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β

TIMP	: Tissue Inhibitors of Metalloproteinase
TIMP-1	: Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α
TNM	: Tumor size, Node, Metastasis
USG	: Ultrasonography
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	: World Health Organization

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Ethical Clearance	66
2.	Surat Persetujuan Mengikuti Penelitian	67
3.	Data Dasar Penelitian	68
4.	Riwayat Hidup Penulis	70

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Carcinoma mammae atau kanker payudara adalah penyakit keganasan yang mengena parenkim payudara dan sampai saat ini penyebab pasti belum diketahui, diduga bersifat multifaktorial yang terkait satu dengan yang lainnya. (Tjindarbumi, 2000) Di Indonesia, *carcinoma mammae* merupakan kanker terbanyak kedua setelah *carcinoma servix* dan lebih dari 50% penderita *carcinoma mammae* ditemukan pada stadium lanjut. (Kurnia, 2008)

Carcinoma mammae merupakan salah satu penyebab kematian pada wanita dan lebih dari satu juta kasus ditemukan di berbagai belahan dunia. Pada tahun 2012 sebanyak 229.060 kasus *carcinoma mammae* baru dan 39.920 kematian diproyeksikan terjadi di Amerika Serikat. (Siegel R, 2012). Berdasarkan data dari *Global Burden of Cancer*, pada tahun 2009 diperkirakan sekitar 30.581 kasus *carcinoma mammae* baru di Indonesia. (Economist Intelligence Unit, 2009) Prevalensi *carcinoma mammae* metastasis cukup tinggi dan sejak tahun 1990 telah terjadi peningkatan tingkat insiden secara keseluruhan sekitar 1,5% per tahun. (Mayer, M, 2003. Stebbing, J, 2010)

Metastasis merupakan penyebab utama peningkatan angka kematian dan kesakitan pada *carcinoma mammae*. Kemampuan metastasis ini disebabkan oleh kemampuan sel kanker untuk melakukan invasi ke jaringan sekitarnya. *Carcinoma mammae* bermetastasis pertama kali ke kelenjar limfe aksilla regional. Lokasi metastasis jauh yang paling sering adalah tulang, hati, paru, pleura dan otak. (Subarkah, 2008) Perkembangan metastasis sangat mempengaruhi prognosis dan kelangsungan hidup pasien karena dapat membatasi atau menghambat intervensi terapeutik. (Somari, S.B, 2006)

Setelah *carcinoma mammae* mengalami metastasis, penyakit ini biasanya sulit disembuhkan. Hanya 1-3% pasien dengan *carcinoma mammae* metastasis sembuh dari penyakit ini. *Carcinoma mammae* metastasis menyebabkan 46.000 kematian setiap tahunnya di Amerika Serikat, dan 15.000 kematian setiap tahunnya di Inggris. (Mayer, M, 2003., [Stebbing, J](#), 2010)

Pencegahan proses metastasis merupakan tujuan utama dari penatalaksanaan *carcinoma mammae*. (Somari, S.B, et al, 2006) Deteksi dini adanya metastasis pada *carcinoma mammae* sangat penting untuk memastikan pasien mendapatkan terapi yang tepat. (Subarkah A, 2008) Deteksi adanya metastasis dapat dilakukan dengan foto toraks, *bonescan*, Ultrasonografi (USG), *Magnetic Resonance Imaging (MRI)* dan *Computed Tomography Scan (CT Scan)*. Namun demikian, sebagian besar teknik pemeriksaan tersebut memerlukan biaya yang mahal, membutuhkan

keterampilan khusus dan hanya tersedia di pusat pelayanan kesehatan tertentu, sehingga perlu dikembangkan biomarker baru dengan pemeriksaan yang mudah dilakukan, misalnya dengan tes darah yang non-invasif dan mudah diakses untuk melengkapi alat skrining yang ada. (Somari, S.B, et al, 2006) Data penelitian menunjukkan bahwa *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) serum berkorelasi positif dengan tingkat keparahan *carcinoma mammae* dan dapat bermanfaat sebagai penanda biologis onset penyakit, progresi atau monitoring kanker. (Somari, SB, 2006, Wu, ZS, 2008)

Matrix Metalloproteinase-9 (gelatinase B) merupakan anggota famili metaloproteinase yang berperan dalam mendegradasi komponen membrana basalis, barier penting pertama yang diterobos oleh sel tumor ketika memulai invasi ke jaringan lain. Enzim ini berperan secara spesifik dalam perkembangan dan invasi dari beberapa kanker. Kadar MMP-9 yang tinggi akan menyebabkan proses degradasi jaringan menjadi lebih cepat dan dengan demikian proses invasi sel kanker akan berlangsung lebih mudah. (Hemati, 2010) Penelitian lain oleh Quaranta pada tahun 2007 ditemukan tidak ada hubungan antara kadar MMP-9 dengan *carcinoma mammae*. (Quaranta, 2007)

Aktivitas *Matrix Metalloproteinase-9* yang telah teraktivasi secara penuh dapat dihambat oleh inhibitor alami yaitu *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1* (TIMP-1). Kemampuan degradasi MMP-9 dalam

tubuh manusia sangat tergantung dari keseimbangan antara banyaknya enzim yang aktif dan TIMP-1.(Creemers, 2001, Kresno, SB, 2011)

Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 merupakan protein glikosilasi dan terutama terlibat dalam regulasi proMMP-9, mampu mengikat haemopexin serta memperlambat kegiatannya. (Fassina et al 2000;. Nagase et al 2006. Hornebeck et al 2004). Pada umumnya sel mensekresi kompleks MMP-9/TIMP-1 walaupun MMP-9 aktif dan proMMP-9 dapat mengikat TIMP-1. (Graf, J, 2007)

Penelitian oleh Wildana et al pada tahun 2012 dikemukakan rerata kadar MMP-9 pada penderita *carcinoma mammae* dengan metastasis lebih tinggi dibandingkan non metastasis tetapi tidak bermakna secara statistik. Hal ini disebabkan oleh adanya keterbatasan dalam penelitiannya, antara lain tidak dianalisisnya inhibitor alami MMP-9 yaitu TIMP-1. (Wildana et al,2012)

Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 akan mengikat MMP-9 aktif secara kovalen dengan perbandingan 1:1. Keseimbangan dinamis MMP-9/TIMP-1 berperan utama dalam mempertahankan integritas matriks ekstraseluler (Kresno, S.B. 2011) Penelitian oleh Fan, SQ dan Garbett, EA menunjukkan bahwa ekspresi MMP-9 berkorelasi positif dengan stadium *carcinoma mammae*, sedangkan ekspresi TIMP-1 berkorelasi terbalik dengan stadium *carcinoma mammae*. (Fan, SQ, 2003., Garbett, EA, 2000) Penelitian Jingga et al pada tahun 2006 mengemukakan bahwa rasio

MMP-9/TIMP-1 meningkat pada jaringan tumor ganas dibandingkan tumor jinak. (Jinga, 2006)

Paula Kuvaja dkk (2007) mengemukakan bahwa TIMP-1 serum merupakan marker prognostik yang lebih baik dibandingkan TIMP-1 di jaringan tumor. Sidse Ornbjerg wurtz dkk (2008) mengemukakan bahwa kadar TIMP-1 serum yang tinggi berhubungan dengan rendahnya kemampuan ketahanan hidup penderita *carcinoma mammae*.

Penelitian mengenai rasio kadar MMP-9 dan TIMP-1 pada *carcinoma mammae* di Indonesia (khususnya di Makassar) sepanjang pengetahuan kami belum pernah dilakukan sehingga kami tertarik untuk melakukan penelitian mengenai rasio kadar MMP-9 dan TIMP-1 pada penderita *carcinoma mammae*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Bagaimana perbandingan rasio MMP-9 dan TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae*?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menganalisis rasio kadar MMP-9 dan TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut.

2. Tujuan Khusus

6

- a. Mengukur kadar MMP-9 dan TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut
- b. Menghitung rasio MMP-9/TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan lanjut.
- c. Membandingkan rasio MMP-9/TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan lanjut
- d. Mengukur kadar MMP-9 dan TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* berdasarkan ukuran tumor
- e. Membandingkan rasio MMP-9/TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* berdasarkan ukuran tumor

D. Hipotesis

Rasio MMP-9/ TIMP-1 serum pada *carsinoma mammae* stadium lanjut lebih tinggi dibandingkan stadium dini

E. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang rasio MMP-9/TIMP-1 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut serta menambah khazanah ilmu pengetahuan untuk penelitian *carcinoma mammae* selanjutnya.
2. Rasio MMP-9/TIMP-1 serum diharapkan dapat menjadi parameter tambahan untuk memprediksi progresi *carcinoma mammae*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

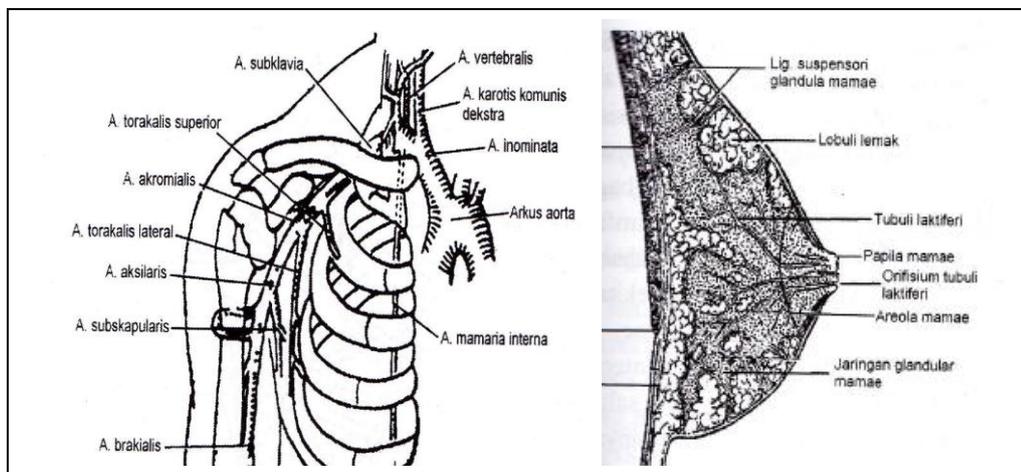
A. Payudara Normal

1. Anatomi dan Fisiologi

Kelenjar payudara wanita sebagian besar terletak di bagian anterior otot pectoralis mayor, sebagian kecil dari bagian latero-inferiornya terletak di bagian depan otot seratus anterior. Batas superior, inferior terletak di antara sela iga ke 2-6 atau ke 3-7, batas medial adalah linea parasternal, batas lateral adalah linea aksilaris anterior, kadangkala mencapai linea aksilaris media. (Desen, W, 2008)

Sentrum dari kelenjar payudara adalah papilla mammae, sekelilingnya terdapat lingkaran areola mammae. Kelenjar payudara terdiri dari 15 sampai 20 lobus, yaitu kelenjar tubuloalveolar kompleks. Setiap lobus dipisahkan oleh stroma interlobar dan masing-masing mempunyai duktus laktiferus yang bermuara secara independen pada permukaan puting susu. Diantara kelenjar payudara dan fascia pektoralis serta diantara kulit dan kelenjar payudara terdapat jaringan lemak. Diantara lobulus terdapat ligamentum Cooper yang memberi rangka untuk payudara. Setiap lobulus terdiri dari sel-sel asini yang terdiri dari sel epitel kubus dan mioepitel yang mengelilingi lumen. Sel epitel mengarah ke lumen, sedangkan sel mioepitel terletak diantara sel epitel dan membran basalis. (Desen, W, 2008, Eroschenko, 2003, Schwartz, S.I. 2000)

Suplai darah payudara terutama berasal dari cabang a. perforantes anterior dari a. mammae interna. Persarafan kulit payudara oleh cabang plexus servikalis dan n. interkostalis. Persarafan jaringan kelenjar payudara oleh saraf simpatik. Aliran limfe dari payudara sekitar 75% menuju ke aksila, sisanya ke kelenjar parasternal dan interpektoralis (Gambar 1), (Faiz, 2004)



Gambar 1. Struktur glandula mammae. (Desen W, et.al, 2011)

Secara fisiologis, payudara mengalami berbagai perubahan yang dipengaruhi oleh hormon. Pada saat pubertas, estrogen dan progesteron yang dihasilkan oleh ovarium dan pengaruh hipofisa anterior menyebabkan berkembangnya duktus dan asinus. Sesuai dengan siklus menstruasi, terjadi peningkatan estrogen dan progesteron sehingga terjadi proliferasi sel dan retensi cairan. Pada saat kehamilan, terjadi proliferasi sel akibat pengaruh estrogen, progesteron, laktogen plasenta dan prolaktin. Pada saat menyusui terjadi peningkatan produksi prolaktin dan penurunan estrogen dan progesteron, sedangkan pada saat menopause terjadi

involusi payudara diikuti dengan berkurangnya jumlah kelenjar. (Eroschenko, 2003)

B. *Carcinoma mammae*

Carcinoma mammae merupakan keadaan malignansi yang berasal dari sel-sel yang terdapat pada payudara. Pada umumnya karsinoma berasal dari sel-sel yang terdapat di duktus, beberapa diantaranya berasal dari lobulus dan jaringan lainnya. (Valentina, L, 2007)

1. Faktor Risiko

Faktor risiko yang berperan pada timbulnya *carcinoma mammae*, antara lain:

a. Karakteristik Demografik

Terjadi peningkatan risiko untuk terjadinya *carcinoma mammae* dari 1:215 pada usia dekade ketiga menjadi 1:52 pada usia dekade keempat. (Cancer Research UK, 2009, ACS, 2010)

Perbandingan antara pria dan wanita untuk terkena *carcinoma mammae* adalah 1:100. Terjadinya *carcinoma mammae* pada wanita kemungkinan dipengaruhi oleh hormon-hormon wanita, yaitu estrogen dan progesteron. Hormon-hormon ini berpengaruh terhadap proliferasi sel-sel kelenjar payudara yang secara fisiologis lebih berkembang dibandingkan pada pria yang bersifat rudimenter. (ACS, 2010, Cancer Research UK, 2009, Jordan, M, 2003)

Carcinoma mammae di Amerika Serikat lebih banyak ditemukan pada wanita kulit putih jika dibandingkan dengan wanita kulit hitam, Hispanik,

atau Asia. Meskipun wanita kulit putih lebih mungkin untuk terjadi *carcinoma mammae*, tetapi wanita kulit hitam dengan *carcinoma mammae* memiliki kelangsungan hidup yang lebih buruk dibandingkan dengan wanita kulit putih karena sebagian besar ditemukan pada stadium lanjut. (Barcenas, C.H, 2010)

b. Hormonal

Peningkatan risiko *carcinoma mammae* dikaitkan dengan usia dini pada saat menarke. Keterlambatan menarke per lima tahun diperkirakan menurunkan risiko sebesar 22%. Rata-rata usia menarke di negara maju turun dari sekitar 16-17 tahun di pertengahan abad ke-19 menjadi 12-13 tahun saat ini. (Cancer Research UK, 2009)

Nulipara dan umur lanjut saat hamil pertama meningkatkan risiko *carcinoma mammae*. Risiko *carcinoma mammae* dua kali pada hamil pertama diatas umur 30 tahun dibandingkan sebelum umur 20 tahun. Risiko relatif *carcinoma mammae* diperkirakan meningkat sebesar 3% untuk setiap tahun keterlambatan. (Aryandono, 2008., Cancer Research UK, 2009)

Salah satu faktor risiko lain untuk terkena *carcinoma mammae* adalah terlambat menopause. Hal ini berhubungan dengan lamanya paparan hormon estrogen dan progesteron yang berpengaruh terhadap proliferasi jaringan payudara. (Cancer Research UK, 2009., Hukom, R.A., 2003)

c. Faktor Genetik

Risiko sebesar 1,4 sampai 13,6 kali dapat terjadi pada wanita yang mempunyai saudara tingkat pertama yang menderita *carcinoma mammae* dibandingkan wanita yang tidak mempunyai riwayat penyakit *carcinoma mammae* dalam keluarga, risiko meningkat bila saudara berusia muda saat pertama kali didiagnosis. (Brashers, 2007., ACS, 2010) Sekitar 10% dari *carcinoma mammae* ditentukan secara genetik dalam kaitannya dengan gen *BRCA-1*, *BRCA-2*, dan gen *p53*. Adanya riwayat penyakit payudara jinak, *carcinoma mammae*, endometrium atau kanker ovarium mengindikasikan adanya peningkatan risiko yang ditentukan secara genetik. (Davey, 2005)

d. Lingkungan

Wanita yang memiliki riwayat terpapar radiasi dosis tinggi khususnya selama masa remaja terdapat peningkatan risiko terkena *carcinoma mammae*. Risiko terjadinya *carcinoma mammae* akibat terpapar radiasi dipengaruhi oleh dosis yang diterima, umur pada saat terkena paparan radiasi, lamanya paparan dan faktor genetik. (Valentina, L, 2007)

Suatu penelitian di Inggris menunjukkan paparan estrogen lingkungan yang berupa *organochlorines* dalam pestisida berhubungan dengan kejadian *carcinoma mammae* pada wanita di Long Island. (Schoenfeld, ER, 2003)

e. Pola Hidup

Kebiasaan merokok pada wanita dengan riwayat keluarga menderita *carcinoma mammae* akan meningkatkan risiko *carcinoma mammae* sebesar 2,4 kali dibanding yang tidak merokok. Wanita yang merokok akan memiliki tingkat metabolisme estrogen lebih tinggi dibandingkan yang tidak merokok. (ACS, 2010, Kim, B. 1995) Konsumsi alkohol berhubungan dengan risiko *carcinoma mammae* karena mengakibatkan peningkatan kadar estrogen dalam darah seseorang. Hubungan antara kekurangan asam folat pada pemakai alkohol menyebabkan tingginya kadar estradiol, prolaktin dan *dehydroepiandrosterone* yang kesemuanya berhubungan dengan proses proliferasi sel-sel payudara. (Stephen, S. 2002)

2. Etiologi dan Patogenesis

Sampai saat ini etiologi *carcinoma mammae* belum diketahui secara pasti, diduga bersifat multifaktorial yang terkait satu dengan yang lain. (Lippman M.E, 1998) Kerusakan genetik nonletal merupakan hal sentral dalam karsinogenesis. Pada *carcinoma mammae*, kerusakan (atau mutasi) genetik semacam ini mungkin didapat akibat pengaruh lingkungan, riwayat keluarga (faktor genetik) dan faktor hormonal. (Kumar, 2007, Lippman M.E, 1998)

Tiga kelas gen regulatorik normal yaitu protoonkogen yang mendorong pertumbuhan, *tumor suppressor gene* yang menghambat pertumbuhan dan gen yang mengatur apoptosis merupakan sasaran

utama pada kerusakan genetik. Gen lain yang berkaitan dengan karsinogenesis adalah gen yang mengatur perbaikan DNA yang rusak (Kumar, 2007)

Terdapat dua gen yang bertanggung jawab pada 5% kasus *carcinoma mammae* familial, yaitu gen BRCA1 yang berlokasi pada kromosom 17(17q21) dan gen BRCA2 yang berlokasi pada kromosom 13 (13q12-13). Secara normal gen BRCA1 dan gen BRCA2 mengkode pembentukan protein yang berfungsi menekan pertumbuhan tumor. Protein yang dihasilkan oleh kedua gen tersebut berperan penting dalam memungkinkan sel untuk melakukan perbaikan DNA (*DNA repair*) apabila terjadi kerusakan DNA yang mengarah pada timbulnya kanker. Mutasi gen BRCA1 dan gen BRCA2 yang diturunkan oleh orang tua menyebabkan munculnya protein yang tidak berfungsi untuk menekan pertumbuhan tumor. Mutasi gen BRCA1 yang bersifat herediter berisiko 54% terkena *Carcinoma mammae* pada usia 60 tahun dan 30% risiko kanker ovarium. Mutasi gen BRCA2 berisiko 85% terkena *carcinoma mammae* dan 10% sampai 20% berisiko menderita kanker ovarium. (Heffner, 2003, Swain, SM, 2006, Valentina, L, 2007)

Carcinoma mammae juga dihubungkan dengan mutasi gen p53 yang merupakan regulator transkripsi, penstabil genom, berpartisipasi dalam perbaikan DNA, inhibitor progresi siklus sel dan fasilitator apoptosis pada sel yang rusak. Ditemukan sekitar 1% mutasi p53 pada penderita *carcinoma mammae* yang dideteksi pada usia sebelum 40 tahun. (Heffner,

2003, Swain, SM, 2006, Valentina L, 2007)

Proto-onkogen yang berperan pada terjadinya kanker payudara adalah *Human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2)/neu(c-erbB-2)*. Proto-onkogen ini merupakan reseptor faktor pertumbuhan dan berperan dalam regulasi pertumbuhan sel akan mengalami amplifikasi sehingga terjadi ekspresi yang berlebihan. Tingginya kadar protein HER2 pada *carcinoma mammae* merupakan penanda prognosis yang buruk. (Swain, SM, 2006, Valentina L, 2007)

Angiogenesis dan Metastasis

Jaringan manusia tersusun menjadi serangkaian kompartemen yang dipisahkan satu sama lain oleh dua jenis *extracellular Matrix (ECM)* yaitu membran basal dan jaringan ikat interstisium. Tiap komponen terdiri atas kolagen, glikoprotein dan proteoglikan. Sel tumor harus berinteraksi dengan ECM diberbagai tahapan dalam jenjang metastatik. Suatu karsinoma mula-mula harus melewati membran basal dibawahnya, kemudian melintasi jaringan ikat interstisium, dan akhirnya memperoleh akses ke sirkulasi dengan menembus membran basal pembuluh darah. (Kumar, 2007)

Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru dari sel-sel endotel yang dilepaskan dari pembuluh darah yang telah ada sebelumnya. kemampuan tumor untuk menginduksi pembentukan pembuluh darah baru pada pejamu dapat berpengaruh pada pertumbuhan tumor dan metastasis. Aktivitas angiogenesis mengakibatkan ekspansi

pertumbuhan tumor dan meningkatkan risiko metastasis. (Kresno, SB, 2011)

Metastasis berlangsung melalui empat tahapan berurutan sebagai berikut:

a. Invasi dan Migrasi

Invasi ECM merupakan suatu proses aktif yang diselesaikan dalam empat langkah (Gambar 2), (Kumar et al, 2007)

1. Terlepasnya sel tumor satu sama lain

Langkah pertama dalam jenjang metastatik adalah merenggangnya sel tumor. E-caderin bekerja sebagai perekat antar sel. Molekul E-caderin yang berdekatan mempertahankan agar sel tetap menyatu. Fungsi E-caderin lenyap di hampir semua kanker sel epitel yang dapat diakibatkan oleh mutasi inaktivasi gen E-caderin. (Kumar, 2007., Swain, S.M., 2006)

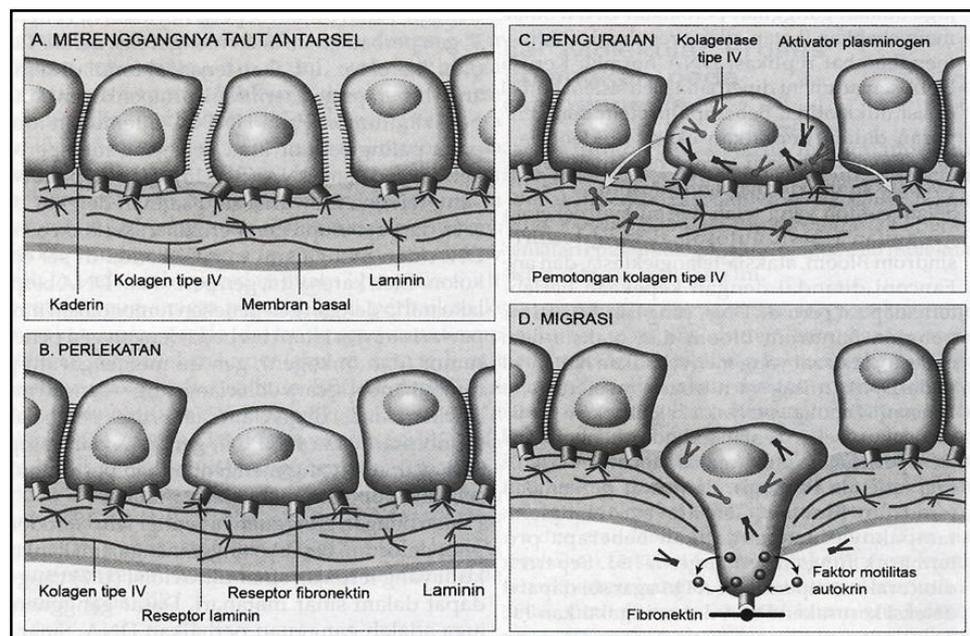
2. Melekatnya sel tumor ke komponen matriks

Langkah kedua, melekatnya sel tumor ke berbagai protein ECM seperti laminin dan fibronektin. Sel epitel normal memiliki reseptor untuk laminin membran basal yang terpolarisasi di permukaan basalnya. Sel karsinoma memiliki lebih banyak reseptor yang tersebar di seluruh membran sel. Terdapat korelasi antara kepadatan reseptor laminin di sel karsinoma payudara dan metastasis kelenjar getah bening. (Kumar, 2007)

3. Penguraian ECM

Langkah ketiga dalam invasi adalah degradasi lokal membran basal

dan jaringan ikat interstisium. Sel tumor itu sendiri mengeluarkan enzim proteolitik atau menginduksi sel pejamu (misalnya fibroblas) untuk mengeluarkan protease. Beberapa enzim penghancur matriks yang disebut metaloproteinase ikut berperan. *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) adalah suatu gelatinase yang memecah kolagen tipe IV epitel dan membran basal vaskuler. *Carcinoma mammae* memperlihatkan ekspresi yang berlebihan dari enzim ini, sementara itu kadar inhibitor metaloproteinase berkurang sehingga keseimbangan bergeser ke arah penghancuran jaringan. (Kumar,2007)



Gambar 2. Gambaran skematik rangkaian kejadian dalam invasi membran basal epitel oleh sel tumor. (Kumar, et.al, 2007)

Keterangan: Sel tumor terlepas satu sama lain karena berkurangnya daya lekat, kemudian melekat ke membran basal melalui reseptor laminin dan mengeluarkan enzim proteolitik, termasuk kolagenase tipe IV (MMP-9) dan aktivator plasminogen. Selanjutnya, terjadi penghancuran membran basal dan migrasi sel.

4. Migrasi sel tumor

Tahap akhir pada invasi adalah migrasi, yang mendorong sel tumor berjalan menembus membran basal yang telah rusak dan matriks yang telah lisis. Migrasi tampaknya diperantarai oleh berbagai sitokin yang berasal dari sel tumor, misalnya faktor motilitas sel tumor. (Kumar, 2007)

b. Intravasasi dan Sirkulasi

Intravasasi ditandai dengan masuknya sel-sel kanker ke dalam sirkulasi darah dan limfe. Setelah melekat pada sel endotel melalui molekul adhesi, sel kanker mensekresikan enzim proteolitik yang menyebabkan sel-sel dapat menginfiltrasi pembuluh darah. Sel kanker kemudian beredar dalam sirkulasi dan harus menghadapi berbagai kondisi yang ada dalam darah. Kondisi itu antara lain adalah konsentrasi oksigen yang tinggi dan limfosit sitotoksik (*immune surveillance*). Pada kondisi ini terjadi sekresi sel-sel tumor yang resisten dan agresif. (Kresno, S.B., 2011) Sel-sel metastatik yang dapat bertahan kemudian melekat dan membentuk ikatan yang kuat pada sel-sel endotel pembuluh darah di berbagai organ. (Kim, K., 2007)

c. Ekstravasasi

Sel-sel kanker terperangkap di kapiler organ tertentu, meninggalkan pembuluh darah dengan cara penetrasi endotel setelah mengeluarkan enzim proteolitik. Ekstravasasi melalui barrier pembuluh darah merupakan

langkah penting untuk kolonisasi terakhir dalam organ sekunder. (Kresno, S.B, 2011)

d. Kolonisasi, Proliferasi dan Angiogenesis

Sel-sel kanker membentuk tumor sekunder di tempat baru dengan proliferasi dan menginduksi neoangiogenesis untuk memastikan vaskularisasi yang cukup. (Kresno, S.B., 2011)

5. Diagnosis

Penegakan diagnosis kelainan payudara dilakukan dengan pemeriksaan klinis, radiodiagnostik, laboratorium dan pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan klinis meliputi anamnesis dan pemeriksaan fisik. Termasuk dalam anamnesis antara lain adanya keluhan di payudara atau ketiak dan riwayat penyakitnya, adanya keluhan di tempat lain berhubungan dengan metastasis serta adanya faktor-faktor risiko. (Desen W, 2010., Rasjidi, 2010)

Pemeriksaan fisik yang dilakukan, antara lain:

- a. Massa tumor (lokasi, ukuran, konsistensi, permukaan, bentuk dan batas tumor, jumlah tumor, terfiksasi atau tidak pada jaringan payudara sekitarnya).
- b. Perubahan kulit (kemerahan, edema, nodul satelit, *peau d'orange*, ulserasi)
- c. Perubahan puting (tertarik, erosi, *crusta*, *discharge*)
- d. Status kelenjar limfe regional

- e. Pemeriksaan organ yang dicurigai mengalami metastasis. (Desen W, 2010., Rasjidi, 2010)

Pemeriksaan radiodiagnostik yang penting adalah mammografi dan ultrasonografi. Mammografi merupakan pemeriksaan radiodiagnostik khusus jaringan payudara yang dapat melihat struktur internal dari payudara. Mammogram khususnya berguna dalam pemeriksaan lesi yang tidak dapat teraba, untuk payudara kontralateral pada penderita kanker dan untuk pemantauan payudara ipsilateral setelah pengobatan kanker. (Davey P, 2005., Schwartz, 2000) Teknik ultrasonografi merupakan pemeriksaan yang dapat membantu mengevaluasi jaringan yang tebal dan membedakan lesi / tumor yang solid dan kista, tetapi teknik ini tidak dapat memvisualisasikan massa antara 5 – 10 mm dan adanya massa dalam lemak. (Davey P, 2005., Schwartz, 2000)

Pemeriksaan laboratorium berupa pemeriksaan darah rutin dan pemeriksaan kimia darah untuk melihat adanya metastasis, serta pemeriksaan penanda tumor. Penanda tumor adalah substansi seperti protein, bahan kimia atau enzim yang dihasilkan oleh sel tumor atau akibat respon tubuh terhadap sel tumor, serta dapat dideteksi atau diukur kadarnya dalam darah, urin atau cairan tubuh lain, feses dan jaringan **(Vogl M and Muller MM, 2002)**. Penanda ideal untuk diagnosis harus memiliki dua karakteristik yaitu penanda tersebut disekresikan dengan konsentrasi yang terukur dalam darah apabila sel yang memproduksinya telah mengalami transformasi dan dapat menunjukkan tempat asalnya

tumor yang berkembang. Penanda tumor seharusnya spesifik terhadap jenis kanker tertentu dan cukup sensitif untuk deteksi tumor berukuran kecil sehingga dapat digunakan untuk diagnosis dini atau skrining. Sampai saat ini belum ada penanda tumor yang spesifisitasnya 100% (tidak terdeteksi pada kasus jinak dan normal) dan sensitifitasnya 100% (dapat terdeteksi pada kasus tumor stadium dini). (Menghadam, 1996)

Penanda tumor *carcinoma mammae* yang paling sering diperiksa adalah *Cancer Antigen 15-3* (CA 15-3) dan *Carcinoembryonic Antigen* (CEA). Penanda tumor yang jarang dipakai adalah *Cancer Antigen 27.29* (CA 27.29) dan HER-2. (Wulandari D, 2007)

Cancer Antigen 15-3 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 300.000 dalton dengan sensitivitas tinggi terhadap *carcinoma mammae*. Kondisi lain dimana kadar CA 15-3 meningkat, hanya ditemukan pada stadium lanjut jenis tumor lain, khususnya karsinoma ovarium, cervical dan karsinoma endometrial. Sensitivitas dan spesifisitas CA 15-3 meningkat sejalan dengan semakin lanjutnya perjalanan penyakit. (Hardjoeno, 2003, Menghadam, 1996)

Carcinoembryonic Antigen (CEA) merupakan onkofetal glikoprotein dengan berat molekul 180.000 dalton yang ditemukan pada mukosa intestinal sepanjang periode embrionik dan janin. Peningkatan kadar CEA ditemukan pada sekitar 40-50% penderita kanker yang bermetastasis. Kadar CEA preoperative yang tinggi juga dilaporkan berhubungan dengan prognosis yang buruk. (Wulandari D, 2007)

Penanda tumor lain yaitu HER-2 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 185 kilodalton. Penelitian menunjukkan bahwa pemutusan domain ekstraseluler molekul HER-2 melibatkan aktivitas MMP dan pemutusannya dihambat oleh MMP inhibitor. Metode pemeriksaan yang paling banyak dipakai adalah imunohistokimia dan *fluorescence in situ hybridization* (FISH). (Wulandari D, 2007)

Pemeriksaan BRCA 1 dan BRCA 2 dianjurkan pada pasien dengan riwayat keluarga menderita *carcinoma mammae*. Tes ini berlangsung melalui dua pendekatan yaitu sequencing lengkap semua ekson atau dengan sequencing selektif pada ekson-ekson tertentu yang diduga ada mutasi. (Wulandari D, 2007)

Diagnosis pasti adanya *carcinoma mammae* ditegakkan dengan pemeriksaan histopatologi. Bahan pemeriksaan dapat diambil dengan berbagai cara yaitu biopsi aspirasi (*fine needle biopsy*), *needle core biopsy* dengan jarum Silverman, biopsi eksisi dan pemeriksaan potong beku pada waktu operasi. (Scottish Intercollegiate Guidelines Network, 2005)

Penentuan terjadinya metastasis dapat dilakukan dengan pemeriksaan foto toraks, *bonesurvey*, USG abdomen / USG hepar dan CT Scan. Diagnosis metastasis *carcinoma mammae* pada organ lain menggunakan CT Scan. (Subarkah, 2008)

6. Klasifikasi

a. Klasifikasi Histopatologi

World Health Organisation (WHO) membuat klasifikasi *carcinoma*

mammae berdasarkan gambaran histologisnya sebagai berikut (Greene, 2002).:

1. *Carcinoma mammae* non invasif
 - a) Karsinoma intraduktus non invasif
 - b) Karsinoma lobular in situ
2. *Carcinoma mammae* invasif
 - a) Karsinoma duktus invasif
 - b) Karsinoma lobular invasif
 - c) Karsinoma musinosum
 - d) Karsinoma meduler
 - e) Karsinoma papiler invasif
 - f) Karsinoma tubuler
 - g) Karsinoma adenokistik
 - h) Karsinoma apokrin

Klasifikasi berdasarkan *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* adalah

1. Ductal
 - a) Intraductal
 - b) Invasif dengan komponen intraduktal dominan
 - c) Invasif, NOS (*Not Otherwise specified*)
 - d) Comedo
 - e) Inflammatory
 - f) Medullary dengan infiltrat limfositik

- g) Mucinous (colloid)
 - h) Papillary
 - i) Schirrhous
 - j) Tubuler
2. Lobular
- a) In situ
 - b) Invasif dengan komponen in situ dominan
 - c) invasif
3. Nipple
- a) *Paget's disease*, NOS
 - b) *Paget's disease* dengan karsinoma intraduktal
 - c) *Paget's disease* dengan karsinoma duktal invasif
4. Lainnya
- Undifferentiated carcinoma*

b. Klasifikasi Stadium

Klasifikasi *carcinoma mammae* menurut *The American Joint Committee on Cancer (AJCC)* untuk menentukan stadium *carcinoma mammae* secara klinis dengan berdasarkan pada sistem TNM (*Tumor size, Node, Metastasis*). Secara garis besar, stadium kanker seseorang dilihat dari besar kecilnya ukuran tumor primer (T), ada tidaknya penyebaran kanker ke kelenjar limfe regional (N) dan ada tidaknya bukti penyebaran sel kanker melalui pembuluh darah ke organ lain (M) seperti yang ditampilkan pada Tabel 1. (Greene, 2002, Hunt, K.K, 2008) Setelah

masing-masing faktor T, N, dan M didapatkan, ketiga faktor tersebut kemudian digabung dan akan diperoleh stadium klinis kanker (Greene, 2002).

Berdasarkan prognosis dan penanganan *carcinoma mammae*, stadium penderita *carcinoma mammae* selanjutnya dapat dibagi menjadi *carcinoma mammae* stadium dini yang terdiri atas stadium I, II A, II B dan stadium lanjut (stadium III dan IV). Penatalaksanaan *carcinoma mammae* stadium dini adalah pengobatan operatif dengan tujuan menyembuhkan (kuratif). Penatalaksanaan *carcinoma mammae* stadium lanjut adalah jenis pengobatan bersifat paliatif yang bertujuan meningkatkan kualitas ketahanan hidup penderita *carcinoma mammae* sehingga kemoterapi merupakan terapi awal pilihan. (Hunt, K.K, 2008)

Tabel 1. Stadium *Carcinoma mammae* berdasarkan TNM dari AJCC tahun 2002

T (tumor size), ukuran tumor:
TX : Tumor primer tidak dapat dinilai
T0 : Tidak ditemukan tumor primer
Tis : Karsinoma insitu. Mencakup karsinoma in situ duktal atau lobular
T1 : Diameter tumor < 2 cm
T2 : Diameter tumor 2-5 cm
T3 : Diameter tumor > 5 cm
T4 : Ukuran tumor berapapun ekstensi langsung ke kulit atau dinding dada
N (node), kelenjar limfe regional:
NX : Kelenjar limfe regional tidak dapat dinilai
N0 : Tidak ada metastasis ke kelenjar limfe regional
N1 : Metastasis ke kelenjar limfe aksilla ipsilateral yang masih dapat digerakkan
N2 : Metastasis ke kelenjar aksilla ipsilateral yang sulit digerakkan
N3 : Metastasis ke kelenjar limfe intraklavikular atau supraklavicular
M (metastasis), penyebaran jauh:
MX : Metastasis jauh belum dapat dinilai
M0 : Tidak terdapat metastasis jauh
M1 : Terdapat metastasis jauh

(Sumber: Greene, et.al, 2002, Hunt, K.K, et.al, 2008)

Tabel 2. Klasifikasi Stadium Klinis berdasarkan klasifikasi TNM *carcinoma mammae*

Stadium 0	T0 N0 M0
Stadium I	T1 N0 M0
Stadium II A	T0 N1 M0 / T1 N1 M0 / T2 N0 M0
Stadium II B	T2 N1 M0 / T3 N0 M0
Stadium III A	T0 N2 M0 / T1 N2 M0 / T2 N2 M0 / T3 N1 M0 / T3 N2 M0
Stadium III B	T4 N0 M0 / T4 N1 M0 / T4 N2 M0
Stadium III C	Tiap T N3 M0
Stadium IV	Tiap T-Tiap N-M1

(Sumber:Greene, et.al, 2002; Hunt, K.K, et al, 2008)

C. *Matrix Metalloproteinase*

Matrix Metalloproteinase (MMP) disebut juga matrixin adalah kumpulan besar enzim yang mampu mendegradasi berbagai komponen ECM. Dalam keadaan normal, MMP hanya terbentuk pada tempat dan waktu saat remodeling jaringan terjadi, seperti saat perkembangan embrio, proses penyembuhan luka, involusi jaringan payudara dan uterus, ovulasi, transisi antara kartilago menjadi tulang sejati dalam proses osifikasi, dan proses invasi trofoblast ke dalam stroma endometrium saat pembentukan plasenta. (Rundhaug, J.E. 2003) Saat ini terdapat lebih dari 20 anggota keluarga MMP dan semuanya dapat dikelompokkan berdasarkan strukturnya. (Jakowlew, S.B, 2008, Rundhaug, J.E. 2003)

Matrix Metalloproteinase mampu mendegradasi ECM secara lengkap, sehingga keberadaanya harus dikontrol secara ketat. Kegagalan kontrol aktivitas MMP menyebabkan berbagai penyakit seperti artritis, aterosklerosis, aneurisma, ulkus jaringan, fibrosis dan invasi sel tumor serta proses metastasis dan angiogenesis. (Ikeda, S, 2003, Jones,2003)

Matrix Metalloproteinase secara garis besar terbagi dalam lima sub grup berdasarkan spesifisitas substratnya, yaitu: (Jakowlew, SB, 2008, Rundhaug, JE. 2003)

- a. *Collagenase* (MMP-1, 8 dan 13)
- b. Gelatinase (MMP-2 dan -9)
- c. Stromelysin (MMP-3, 10, 11 dan 19)
- d. Matrilysin (MMP-7, 12, 18)
- e. MMP yang terikat pada membran *membrane bound MMP* (MTMMP-1 dan -4).

Dua gelatinase yaitu MMP-2 dan MMP-9 akhir-akhir ini mendapatkan banyak perhatian dan merupakan jenis yang paling sering diteliti dan dipelajari karena sangat berhubungan dengan pertumbuhan dan perkembangan sel kanker. (Decock, J, 2008, Goodsell, DS, 1999)

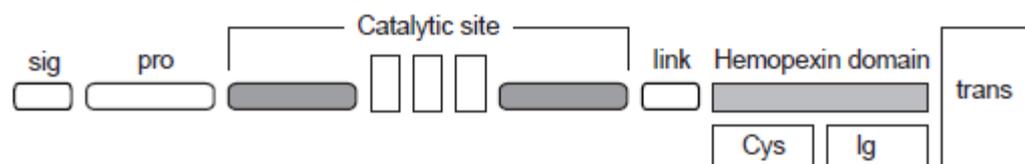
Matrix Metalloproteinase adalah sekelompok enzim proteolitik yang memiliki karakteristik khusus yaitu sebagai berikut:

- a. MMP adalah proteinase yang dapat mendegradasi komponen ECM.
- b. Semua MMP mengandung ion zinc dalam domain katalitiknya yang dapat diinhibisi oleh *chelating agent*.
- c. MMP disekresi dalam bentuk proenzim (zymogen) dan membutuhkan aktivasi untuk dapat sepenuhnya bekerja.

- d. MMP dapat dihambat oleh inhibitor jaringan alami yang disebut *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase (TIMP)*. (O-chroenrat, P, et.al, 2001, Lee, M.H, 2004)

Matrix Metalloproteinase membutuhkan unsur zinc dalam proses aktivasi katalitiknya. Untuk menjadi aktif, enzim ini perlu membelah secara proteolitik. Beberapa MMP diaktivasi dengan serin protease seperti plasmin dan furin, sedangkan MMP lainnya diaktivasi oleh sesamanya sendiri. (Jakowlew, S.B, 2008, Rundhaug, J.E. 2003)

Struktur dari MMP terdiri dari propeptide, domain metalloproteinase katalitik, *linker peptide*, dan domain hemopexin (Gambar 3), (Kuvaja P, 2007)



Gambar 3. Struktur dari *Matrix Metalloproteinase* (Sumber: Kuvaja P, 2007)

Keterangan:

Sig =signaling peptide

Pro =propeptide

Link =Linker region

Cys = cystein-rich domain

Ig =immunoglobulin like domain

Trans = transmembrane domain (MT-MMPs)

D. *Matrix Metalloproteinase-9*

Matriks metalloproteinase 9 (MMP-9) disekresikan sebagai zymogen 92-kDa (pro-MMP-9) dibelah menjadi enzim 82-kDa aktif. Domain gelatin-

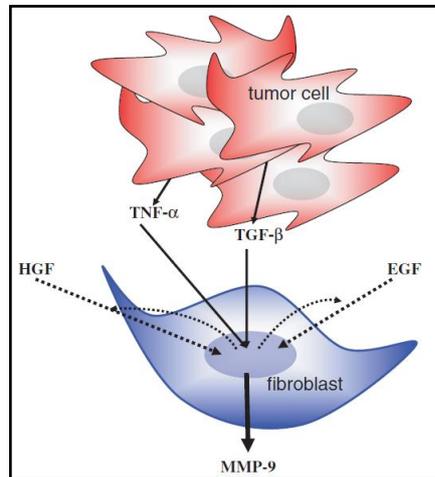
binding yang dimiliki oleh MMP-9 ini terdiri dari tiga fibronektin tipe unit II (human pro MMP-9)

Matrix Metalloproteinase-9 (gelatinase B) memiliki kemampuan untuk mendegradasi *triple helix* kolagen tipe IV dari lamina basalis yang ditemukan pada membrana basalis, barier penting pertama yang diterobos oleh sel tumor ketika mereka mulai invasi ke jaringan lain. Enzim ini juga memiliki kemampuan tinggi dalam proses gelatinolitik yang mendegradasi kolagen tipe V, VII, IX dan X, fibronektin dan elastin. Enzim ini berperan secara spesifik dalam perkembangan dan invasi dari beberapa kanker. (Hemati, S, 2010)

Matrix Metalloproteinase-9 disekresi oleh sel tubuh manusia seperti sel fibroblast, sel endotel, sel polimorfonuklear, keratinosit dan makrofag. Peningkatan ekspresi MMP-9 terjadi pada proses inflamasi dan keganasan. (Stuelten, C.H., 2005)

Berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan seperti *transforming growth factor-β* (TGF-β), *hepatosit growth factor* (HGF), *epidermal growth factor* (EGF) atau *tumor necrosis factor-α* (TNF-α) terlibat dalam perkembangan tumor. Penelitian *carcinoma mammae* menggunakan *stroma humanized* menunjukkan bahwa sekresi TGF-β dan HGF yang berlebihan oleh fibroblas mendorong hasil hiperplastik atau tumorigenik epitel payudara normal. Penelitian oleh Stuelten, C.H, dkk. menunjukkan bahwa TGF-β dan TNF-α yang disekresikan oleh sel tumor secara langsung

menginduksi ekspresi MMP-9, dan secara tidak langsung dampak dari sitokin akibat signal EGF dan HGF.(Gambar 4), (Stuelten, CH, 2005)

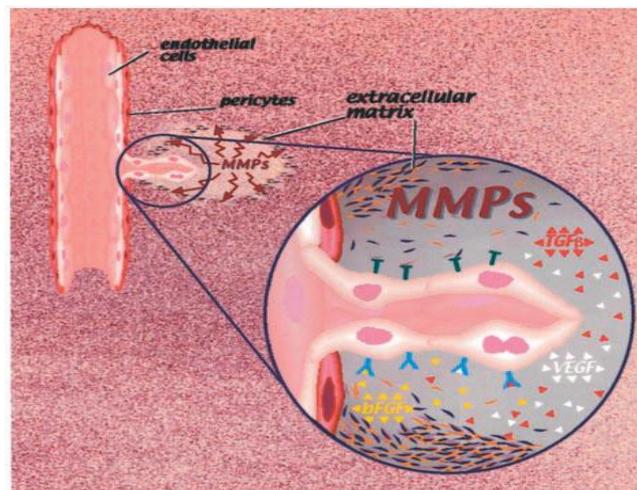


Gambar 4. Induksi MMP-9 dalam fibroblas oleh sel-sel kanker payudara (Stuelten, C.H., et.al, 2005)

Keterangan: TGF-β dan TNF-α yang disekresikan oleh sel tumor secara langsung menginduksi ekspresi MMP-9, dan secara tidak langsung oleh dampak dari sitokin akibat signal EGF dan HGF

Matrix Metalloproteinase berperan penting dalam angiogenesis. Sel kanker yang tumbuh pesat dapat mengakibatkan sebuah populasi sel menjadi hipoksia karena pasokan darah yang berasal dari pejamu (*host*) gagal mengimbangi kebutuhan oksigen massa sel kanker yang tumbuh pesat. (Kresno, S.B, 2011) Hipoksia merupakan lingkungan mikro yang merangsang sel-sel tumor mensekresi berbagai substansi ke dalam lingkungan mikro di sekitarnya yang memfasilitasi angiogenesis dan metastasis. Hipoksia seluler menyebabkan aktivasi dari *Hypoxia-inducible transcription factor* (HIF) yang menginduksi mekanisme adaptasi sel untuk

bertahan hidup pada tingkat oksigen yang rendah. (Brown, N.S. 2011, Rundhaug, J.E. 2003) *Hypoxia-inducible transcription factor* merupakan salah satu penginduksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang merupakan regulator vaskulogenesis maupun angiogenesis. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan faktor proangiogenik yang lain, seperti *basic fibroblast growth factor* (bFGF), kemudian berikatan dengan reseptornya di permukaan sel endotelial, yang akan mengaktifkan sel endotel untuk mensekresi MMP. Setelah membran basal dan ECM mengalami degradasi, sel endotel mulai berproliferasi dan akan terus tumbuh hingga terbentuk pembuluh darah baru. (Gambar 5), (Kersten, K. 2011, Rundhaug, JE, 2003)



Gambar 5. Peran MMP dalam angiogenesis (Rundhaug, J.E. 2003)

Keterangan: Faktor angiogenik seperti VEGF dan bFGF (digambarkan sebagai segitiga berwarna) disekresikan oleh sel tumor atau sel inflamasi dan kemudian berikatan dengan reseptornya (reseptor berbentuk Y) pada permukaan sel endotel. Hal ini akan mengaktifkan sel endotel untuk mensekresi MMP, mengubah ekspresi mereka integrin (reseptor berbentuk T) dan melangsungkan proliferasi

Matrix Metalloproteinase yang terbentuk dapat berkontribusi pada pertumbuhan tumor selanjutnya melalui pelepasan dan / atau aktivasi dari

matrix-associated factors. Sebuah penelitian pada karsinoma sel islet pankreas menemukan MMP-9 secara khusus meningkatkan pelepasan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dari ECM yang menghasilkan peningkatan angiogenesis dan pertumbuhan tumor. *Matrix Metalloproteinase* juga dapat meregulasi ketersediaan faktor pertumbuhan dengan cara lain. Penelitian lain menunjukkan bahwa *insulin-like growth factor binding protein* (IGFBP) merupakan substrat untuk MMP-7 dan MMP-9. Dengan demikian, pembelahan IGFBP akan mengakibatkan pelepasan IGF yang dapat menyebabkan peningkatan pertumbuhan tumor (Jakowlew, SB, 2008).

Matrix Metalloproteinase-9 yang telah teraktivasi secara penuh dapat dihibisi oleh inhibitor alaminya yaitu TIMP-1. *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1* akan mengikat MMP-9 aktif secara kovalen dengan perbandingan 1:1. Kemampuan degradasi MMP-9 dalam tubuh manusia sangat tergantung dari keseimbangan antara banyaknya enzim yang aktif dan TIMP-1. (Creemers, 2001, Kresno, SB, 2011)

E. *Tissue Inhibitors Metalloproteinase*

Tissue Inhibitors Metalloproteinase (TIMPs) merupakan ekstraseluler protein yang diketahui dapat menghambat aktivitas enzim *Matriks Metalloproteinase* (MMPs) terdiri dari 184-194 asam amino. Domain N-terminal dari TIMP bertanggung jawab atas aktivitas penghambatan MMP dengan mengikat domain haemopexin MMPs. Beberapa penelitian telah

menjelaskan hubungan antara hambatan aktivitas MMPs oleh TIMPs sehingga membatasi pertumbuhan dan invasi tumor (Paula Kuvaja, 2007). Penelitian yang pertama kali menghubungkan angiogenesis ke TIMPs menggunakan membran *yolk sac* embrio ayam dan induksi angiogenesis ini mampu dihambat oleh TIMP-1 dengan dua cara yaitu menghambat MMP-dimediasi promosi angiogenesis, atau dengan penekanan langsung proliferasi sel endotel. (Takigawa et al. 1990). Banyak Penelitian TIMP-1 yang menunjukkan bahwa secara independent TIMP-1 mampu menghambat apoptosis (Kuvaja P, 2007).

Saat ini terdapat empat anggota keluarga TIMP dengan peran fisiologis yang sangat kompleks dan memiliki berbagai fungsi (Tabel 3). Ekspresi TIMP-1 dan -2 terdapat dalam beberapa jaringan yang berbeda, sedangkan ekspresi TIMP-3 dan -4 lebih spesifik pada beberapa jaringan. Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa TIMP-3 ditemukan terutama di ginjal, paru-paru dan otak (Leco et al. 1994) dan memiliki peran penting dalam pengembangan mata (Weber et al. 1994). Ekspresi TIMP-3 jarang pada tumor di manusia (Fassina et al. 2000). Ekspresi TIMP-4 ditemukan di hati, dan kadar rendah pada ginjal, plasenta, usus besar dan testis (Greene dkk. 1996). Aktivitas TIMP-1 dan -2, selain menghambat MMP juga memiliki kapasitas pertumbuhan (Hayakawa et al 1992;. 1994).

Tabel 3. Struktur, gambaran dan fungsi dari Tissue Inhibitors of Metalloproteinase

Protein	TIMP-1	TIMP-2	TIMP-3	TIMP-4
Lokasi Kromosom	Xp	17q	22q	3p
mRNA (kb)	0,9	3,5-1,0	5,0	1,4
molekul (kDa)	28,5	21	22 dan 27	22
tempat protein	<i>Soluble</i>	<i>soluble</i>	matriks	<i>soluble</i>
ekspresi protein	<i>Inducible</i>	konstitutif	<i>inducible</i>	<i>inducible</i>
Berikatan	proMMP-9	proMMP-2	proMMP-2 /-9	proMMP-2
sinyal pertumbuhan	↑	↑	tidak diketahui	↑ atau ↓
Angiogenesis	↑ atau ↓	↓	↓	↓
regulasi apoptosis	↓	↓	↑	↓

(Sumber: Jiang et al 2002, Lambert et al 2004, Stetler-stevenson & Seo 2005)

Keterangan:

TIMP = Tissue Inhibitors of Metalloproteinase

MMP = Matrix Metalloprotei

kDa = kilo Dalton

kb = kilobite

mRNA = messenger Ribosome Nucleotide Acid

F. *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1*

Lokasi TIMP-1 berada di kromosom X pada Xp11.1-11.4 dan dikodekan sebagai mRNA 0.9 kb, terdiri dari satu rantai polipeptida yang mengandung 184 asam amino dengan 12 residu sistein yang membentuk enam ikatan disulfida. Berat molekul TIMP-1 berkisar 28,4-34 kDa, merupakan protein glikosilasi, larut dan terutama terlibat dalam regulasi proMMP-9, mampu mengikat haemopexin domain pada proMMP-9 dan MMP-9 sehingga kegiatannya terhambat. (Fassina, 2000;. Nagase, 2006. Hornebeck , 2004)

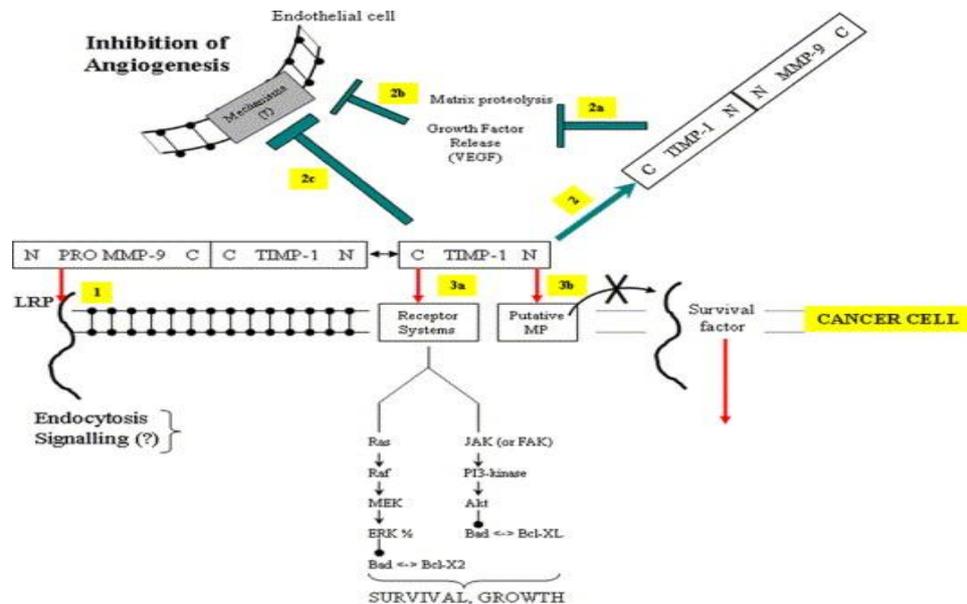
Ekspresi TIMP-1 diatur pada beberapa tingkatan, termasuk transkripsi, stabilitas mRNA, degradasi dan endositosis. Phorbol

ester, interleukin-1 β , TGF β dan retinoid telah diutarakan untuk mengatur ekspresi TIMP-1 pada sel normal dan sel yang telah berubah (Paula Kuvaja, 2007. Hornebeck et al 2004). Ikatan dari struktur molekul terminal COOH dan N-terminal OB mungkin membuat TIMP-1 resisten terhadap proteolisis. (Hornebeck, 2004)

Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 berfungsi sebagai supresor invasi. Ekspresinya dalam sel tumor berbanding terbalik dengan kemampuan metastasis sel bersangkutan. *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase -1* disintesis oleh banyak sel dan jaringan, antara lain makrofag, monosit, trombosit dan sel polimorf nuklear. Transkripsi gen TIMP-1 diinduksi oleh sitokin pro-inflamasi (IL-1, IL-6, Oncostatin M / OSM, Leukaemia Inhibitory Factor / LIF dan TNF- α), TGF- β dan ester phorbol. (Richards, CD, 1993)

Pengaruh TIMP-1 pada pertumbuhan sel dan apoptosis mungkin melibatkan mekanisme spesifik yang berbeda. Mengikat sebuah "sistem reseptor" tak dikenal itu terbukti memicu jalur sinyal yang berbeda. Ras dan Raf-1 merupakan hilir efektor, diketahui sebagai regulator proliferasi sel, apoptosis, dan diferensiasi yang diaktifkan setelah pengikatan TIMP-1 pada sel osteosarcoma. Sebaliknya, kelangsungan hidup TIMP-1-dimediasi oleh erythroid UT-7 dan sel myeloid 32D yang memicu jalur PI3 kinase. Selanjutnya aktivasi PI3 kinase / akt menyebabkan fosforilasi yang diperlukan untuk melepaskan Bcl-XL dan antiapoptotik. (Hornebeck et al 2004)

Liu et al menemukan bahwa, sama seperti EPO, diduga tirosin kinase JAK-2, mungkin bertindak sebagai kinase utama termasuk TIMP-1 yang diduga mengikat reseptor sehingga menyebabkan kelangsungan hidup sel. Jalur sinyal PI3 kinase / Akt dan aktivasi Bcl-XL terlibat dalam kegiatan antiapoptotic dari TIMP-1 terhadap berbagai agen apoptosis pada sel epitel payudara manusia dan sel Burkitt's limfoma, namun dalam sel epitel payudara manusia, FAK tampil sebagai penggerak kaskade sinyal PI3 survival kinase / Akt (Gambar 6), (Liu, 2003 Hornebeck, 2004)



Gambar. 6. Keseimbangan MMP-9/TIMP-1 dalam proses awal perkembangan tumor.(Hornebeck et al 2005)

Keterangan: 1. Kompleks yang terbentuk antara proMMP-9 dan TIMP-1 mengikat LRP dan mungkin dieliminasi melalui jalur endositosis. 2. TIMP-1, melalui bagian N-terminal, dapat mengikat MMP-9 aktif dan dengan demikian dapat mencegah proteolysis dari matriks dan melepaskan VEGF. Hal ini juga dapat secara langsung menghambat angiogenesis. 3. TIMP-1 dapat bertindak sebagai faktor pertumbuhan dan / atau faktor kelangsungan hidup bagi sel kanker melalui: a, mekanisme MMP-an independent, b, mekanisme MP-dependent yang berpengaruh pada faktor survival