

**EKSPRESI CLUSTER OF DIFFERENTIATION 44 (CD44)
PADA NEOPLASMA KOLOREKTAL**

*The Expression of Cluster of Differentiation 44 (CD44) in
Colorectal Neoplasm*

ARLIN RINNI TUTU



**KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS TERPADU
PROGRAM STUDI BIOMEDIK PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**EKSPRESI CLUSTER OF DIFFERENTIATION 44 (CD44)
PADA NEOPLASMA KOLOREKTAL**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

ARLIN RINNI TUTU

kepada

**KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS TERPADU
PROGRAM STUDI BIOMEDIK PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

TESIS

EKSPRESI CLUSTER OF DIFFERENTIATION 44 (CD44) PADA NEOPLASMA KOLOREKTAL

Disusun dan diajukan oleh :

ARLIN RINNI TUTU

Nomor Pokok : P1507209063

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 14 Agustus 2013

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui :

Komisi Penasihat,

dr. Cahyono Kaelan, Ph.D., Sp.PA(K), Sp.S

Ketua

dr. Truly D. Dasril, Sp.PA(K)

Anggota

Ketua Program Studi Biomedik,

Direktur Program Pascasarjana,
Universitas Hasanuddin

Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D.

Prof. Dr. Ir. Mursalim

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Arlin Rinni Tutu**
No.Stambuk : P1507209063
Program Studi : Biomedik/PPDS Terpadu (*Combined Degree*)
FK.UNHAS

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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Agustus 2013

Yang menyatakan

Arlin Rinni Tutu

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, karena Dialah yang membuat segala sesuatu indah pada waktunya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

Penulisan tesis ini merupakan salah satu prasyarat dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi pada program Pascasarjana dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Selain itu, penulis bermaksud untuk menyumbangkan beberapa konsep pemikiran mengenai CD44 (*cluster of differentiation 44*) sebagai salah satu protein yang berperan dalam kanker kolorektal.

Dalam penelitian dan penyusunan tesis ini, penulis mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak dan oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dr. Cahyono Kaelan, Ph.D., Sp.PA(K), Sp.S sebagai Ketua Komisi Penasihat dan dr. Truly D. Dasril, Sp.PA(K) sebagai Anggota Komisi Penasihat atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih dan penghargaan penulis haturkan juga kepada Prof. Dr. dr. H. Dasril Daud, Sp.A(K) sebagai pembimbing metodologi penelitian yang sangat membantu dan membimbing dalam penyelesaian tesis ini. Kepada dr. Berty Nelwan, Sp.PA dan dr. Husni Cangara, Ph.D. terima kasih banyak

atas meluangkan waktu untuk menilai dan memberi masukan kepada penulis mengenai skoring ekspresi imunohistokimia CD44. Kepada seluruh staf pengajar yang adalah guru saya di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali, terima kasih sedalam-dalamnya atas segala bantuan dan dukungannya. Kepada teman sejawat residen di Bagian Patologi Anatomi terima kasih atas segala bantuan, kebersamaan dalam suka dan duka, dan dukungan kepada penulis. Kepada seluruh teknisi dan pegawai Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Rumah Sakit dr. Wahidin Sudirohusodo terima kasih atas kerja sama dan bantuan selama penulis melakukan penelitian. Terima kasih tak terhingga kepada orang tua, saudara, keponakan serta keluarga dan sahabat yang selalu menyokong dan memberi semangat kepada penulis selama menjalani pendidikan dan kepada semua pihak yang telah ikut membantu penulis yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomi selanjutnya. Akhirnya, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya apabila dalam tulisan ini terdapat hal-hal yang tidak berkenan.

Makassar, 20 Agustus 2013

Arlin Rinni Tutu

ABSTRAK

ARLIN RINNI TUTU. *Ekspresi Cluster of differentiation 44 (CD44) pada Neoplasma Kolorektal* (dibimbing oleh **Cahyono Kaelan** dan **Truly D. Dasril**)

Tujuan penelitian ini adalah menilai ekspresi CD44 pada neoplasma kolorektal.

Sampel penelitian berasal dari 89 sediaan blok parafin biopsi dan reseksi jaringan kolorektal dengan diagnosis adenoma, adenokarsinoma kolorektal diferensiasi baik, sedang dan buruk, serta mukosa normal dari ujung reseksi adenokarsinoma kolorektal. seluruh sampel dilakukan pulasan imunohistokimia CD44. Penilaian mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya. Uji statistik menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi CD44 dengan gambaran histopatologi kolorektal ($p < 0,05$), yaitu ekspresi CD44 lebih tinggi pada adenoma dibandingkan dengan mukosa normal kolorektal dan ekspresi CD44 lebih tinggi pada adenokarsinoma dibandingkan dengan adenoma dan mukosa normal kolorektal. Terdapat juga perbedaan bermakna skor ekspresi CD44 antara mukosa normal dengan adenoma dan adenokarsinoma kolorektal ($p < 0,05$). Tetapi skor ekspresi CD44 tidak menunjukkan perbedaan bermakna di antara derajat histopatologi/diferensiasi adenokarsinoma kolorektal ($p > 0,05$).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa CD44 berperan dalam karsinogenesis kolorektal dan dapat digunakan untuk membedakan mukosa normal dengan patologik, demikian pula neoplasma jinak dengan ganas kolorektal.

Kata Kunci : Cluster of differentiation 44 (CD44), adenoma, adenokarsinoma kolon diferensiasi baik, adenokarsinoma kolon diferensiasi sedang dan adenokarsinoma kolon diferensiasi buruk

ABSTRACT

ARLIN RINNI TUTU. *The Expression of Cluster of Differentiation 44 (CD44) in Colorectal Neoplasm* (Supervised by **Cahyono Kalean** and **Truly D. Dasril**)

This study aims to evaluate CD44 expression in Colorectal Neoplasm.

The samples were taken from 89 biopsy paraffin block preparation; the resection of colorectal tissue with adenoma diagnosis; colorectal adenocarcinoma with well, intermediate, and poorly differentiated; and normal mucosae from the end of colorectal adenocarcinoma resection. All samples had CD44 immunohistochemistry smear. The microscopic evaluation was conducted by using a light microscope.

The statistical analysis revealed a significant relationship between CD44 expression and the colorectal histopathology features ($p < 0,005$). CD44 expression was higher in adenoma, compared to colorectal normal mucosae. Furthermore, CD44 expression was higher in adenocarcinoma compared with adenoma and colorectal normal mucosae. There was also a significant difference in the CD44 expression score of normal mucosae with adenoma and colorectal adenocarcinoma ($p < 0,05$). However, CD44 expression score did not show a significant difference between histopatolgy/differentiation level of colorectal adenocarcinoma ($p > 0,05$). This study reveals that CD44 plays a role in colorectal carcinogenesis and it can be used to distinguish normal colorectal mucosae from pathologic one, and also benign colorectal neoplasm from malignant one.

Keywords : *Cluster of differentiation 44 (CD44), adenoma, colorectal adenocarcinoma well differentiated, colorectal adenocarcinoma moderate differentiated, colorectal adenocarcinoma poorly differentiated*

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Penelitian	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
1. Tujuan Umum	4
2. Tujuan Khusus	4
D. Hipotesis	5
E. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Neoplasma Kolorektal	6
1. Anatomi dan Histologi Kolorektal	6
2. Adenoma Kolorektal	8

3. Adenokarsinoma Kolorektal	10
4. Karsinogenesis Kolorektal	12
B. CD44	19
KERANGKA TEORI	29
III. KERANGKA KONSEP	30
A. Identifikasi dan Klasifikasi Variabel	31
IV. METODOLOGI PENELITIAN	32
A. Desain Penelitian	32
B. Tempat dan Waktu Penelitian	32
C. Populasi Penelitian	32
D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	32
E. Perkiraan Besar Sampel	33
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	33
1. Kriteria Inklusi	33
2. Kriteria Eksklusi	34
G. Cara Kerja	34
1. Alokasi Subyek	34
2. Prosedur Pewarnaan Hematoksilin Eosin	34
3. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia	36
4. Interpretasi Hasil Imunohistokimia	36
H. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	37
1. Definisi Operasional	37
2. Kriteria Obyektif	38

I. Pengolahan dan Analisis Data	39
J. Alur Penelitian	40
K. Personalia Penelitian	41
V. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
A. Hasil Penelitian	42
1. Jumlah Sampel	42
2. Karakteristik Sampel	46
3. Analisis Hubungan Jenis Kelamin dengan Jenis Neoplasma Kolorektal dan Perbandingan Rata-rata Kelompok Umur dengan Jenis Neoplasma Kolorektal	48
4. Analisis Hubungan antara Ekspresi CD44 dengan Gambaran Histopatologi Kolorektal	49
5. Analisis Perbedaan Skor Ekspresi CD44	50
B. Pembahasan	56
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	61
DAFTAR PUSTAKA	63

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Data karakteristik sampel penelitian	46
2. Hubungan antara jenis kelamin dengan jenis neoplasma kolorektal	48
3. Perbandingan rata-rata antara umur dengan jenis neoplasma kolorektal	48
4. Hubungan antara ekspresi CD44 dengan gambaran histopatologi kolorektal	49
5. Perbedaan skor ekspresi CD44 pada neoplasma kolorektal	50
6. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara mukosa normal dan adenoma kolorektal	51
7. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara mukosa normal dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi baik	51
8. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara mukosa normal dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi sedang	52
9. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara mukosa normal dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi buruk	52
10. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara adenoma dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi baik	53
11. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara adenoma dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi sedang	53
12. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara adenoma dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi buruk	54
13. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara adenokarsinoma kolorektal diferensiasi baik dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi sedang	54

14. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara adenokarsinoma kolorektal diferensiasi baik dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi buruk 55
15. Perbedaan skor ekspresi CD44 antara adenokarsinoma kolorektal diferensiasi sedang dengan adenokarsinoma kolorektal diferensiasi buruk 55

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Stem sel kolon dan proses diferensiasinya	8
2. Perubahan morfologi dan molekuler pada <i>adenoma-carcinoma sequence</i> klasik	14
3. Perubahan morfologi dan molekuler pada <i>mismatch repair pathway</i>	15
4. Model <i>colon cancer stem cell</i>	18
5. Struktur CD44	20
6. Peranan CD44 dalam tumorigenesis	24
7. Mekanisme proteolitik sekuensial CD44	26
8. Ekspresi CD44 pada mukosa kolorektal normal	43
9. Ekspresi CD44 pada adenoma kolorektal	43
10. Ekspresi CD44 pada adenokarsinoma kolorektal diferensiasi baik	44
11. Ekspresi CD44 pada adenokarsinoma kolorektal diferensiasi sedang	44
12. Ekspresi CD44 pada adenokarsinoma kolorektal diferensiasi buruk	45

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. Keterangan kelaikan etik (<i>ethical clearance</i>)	67
2. Daftar sampel penelitian	68

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Karsinoma kolorektal merupakan keganasan tersering dari traktus gastrointestinal, dan merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia, dengan sekitar 1,2 juta kasus baru per tahun (Turner, 2010, Medema and Vermeulen, 2011). Kanker kolorektal menempati urutan ke-4, sekitar 9% dari seluruh kanker di dunia. Insidens tertinggi kanker kolorektal terjadi di Amerika Utara, Australia, dan New Zealand, dan rendah pada Afrika dan Asia (Fenoglia-Presiser et al., 2008). Resiko kanker kolorektal meningkat secara signifikan setelah umur 40 tahun pada laki-laki dan perempuan, dan meningkat dua kali lipat setiap dekade hingga umur 75 tahun. Dari tahun 2000-2004, median umur pada saat terdiagnosis kanker kolorektal adalah 71 tahun (Fenoglia-Presiser et al., 2008).

Kebanyakan karsinoma kolorektal berkembang dari adenoma, suatu lesi prekursor, yang dapat terjadi secara sporadik ataupun sebagai bagian dari sindrom poliposis. Angka kejadian adenoma sangat bervariasi di seluruh dunia. Wilayah geografis yang memperlihatkan resiko tinggi kanker kolorektal juga memperlihatkan resiko tinggi untuk perkembangan adenoma, demikian pula sebaliknya (Fenoglia-Presiser et al., 2008).

Pada tahun 2008, berdasarkan data Badan Registrasi Kanker, Yayasan Kanker Indonesia dari seluruh senter di Indonesia, memperlihatkan bahwa kanker rektum menduduki peringkat ke-4 dan kanker kolon peringkat ke-8 dari sepuluh tumor tersering menurut primer, masing-masing sebesar 1124 kasus dan 878 kasus. Sedangkan di bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar pada tahun 2009, kanker kolorektal menempati urutan ke-3 dari sepuluh tumor tersering menurut primer, sebesar 247 kasus.

Saat ini, klasifikasi kanker kolorektal sebagian besar berdasarkan karakteristik tumor secara histologik, seperti status diferensiasi dan stadium tumor yang merupakan faktor prognosis konvensional untuk kelangsungan hidup pasien dan sering untuk penentuan pemberian terapi adjuvan setelah reseksi tumor primer. Namun, pasien dengan stadium kolorektal yang sama dapat memperlihatkan hasil terapi yang sangat berbeda. Sebagian memperlihatkan pemulihan sempurna setelah reseksi tumor, sedangkan sebagian lagi memperlihatkan metastase, rekurensi, dan resistensi terhadap terapi (Belov et al., 2011). Sejumlah penelitian yang dilakukan sejak sekitar satu dekade lalu menimbulkan dugaan bahwa hal tersebut terjadi akibat adanya sel kanker yang memiliki karakteristik *adult stem cell* normal (dinamakan *cancer stem cell*) termasuk sifat *self-renewal* dan multipotensi berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel (Du et al., 2008). *Cancer stem cell* (CSC) pada kanker kolorektal diduga lebih resisten terhadap terapi dibandingkan sel tumor

differentiated, yang menimbulkan asumsi bahwa CSC merupakan target yang sangat penting dalam terapi, dan terlebih penting adalah kemungkinan sebagai penyebab rekurensi tumor (Medema and Vermeulen, 2011).

Glikoprotein transmembran CD44 telah digunakan sebagai *marker* untuk mengisolasi CSC dari berbagai tumor solid, seperti kanker payudara, kepala dan leher, pankreas, dan kolon (Kemper et al., 2010). CD44 merupakan salah satu marker yang mungkin memiliki peran fungsional dalam biologi CSC. Sebagai contoh, *knockdown* CD44 pada sel kanker kolon primer menurunkan klogenitas *in vitro* dan tumorigenitas *in vivo* (Kemper et al., 2010, Du et al., 2008). CD44 juga diketahui terlibat dalam berbagai proses seluler, seperti pertumbuhan, diferensiasi, dan survival. Sebagai molekul adhesi yang penting, CD44 memainkan peranan besar dalam proliferasi, migrasi, dan invasi sel kanker (Kemper et al., 2010).

Penelitian tentang CD44 telah banyak dilakukan pada tumor kolorektal, tetapi penelitian menggunakan sampel di Bagian Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ekspresi CD44 ini diharapkan dapat memberikan kontribusi untuk memahami peranan CD44 dalam karsinogenesis neoplasma kolorektal.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

Bagaimana pola ekspresi CD44 pada neoplasma kolorektal?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menilai perbedaan ekspresi CD44 pada neoplasma kolorektal

2. Tujuan Khusus

1. Menentukan diagnosa adenoma kolorektal dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (H.E)
2. Menentukan diagnosa dan derajat histopatologi adenokarsinoma kolorektal dengan pewarnaan H.E
3. Menentukan mukosa kolorektal normal pada ujung reseksi sediaan adenokarsinoma kolorektal dengan pewarnaan H.E
4. Menentukan ekspresi CD44 pada sediaan adenoma kolorektal
5. Menentukan ekspresi CD44 pada sediaan adenokarsinoma kolorektal berdasarkan derajat histopatologi
6. Menentukan ekspresi CD44 pada mukosa kolorektal normal
7. Membandingkan ekspresi CD44 pada sediaan adenoma, adenokarsinoma kolorektal dengan mukosa kolorektal normal
8. Membandingkan skor ekspresi CD44 dengan derajat histopatologi adenokarsinoma kolorektal

D. Hipotesis

1. Ekspresi CD44 lebih tinggi pada adenoma dibandingkan dengan mukosa kolorektal normal
2. Ekspresi CD44 lebih tinggi pada adenokarsinoma dibandingkan dengan adenoma dan mukosa kolorektal normal
3. Terdapat perbedaan skor ekspresi CD44 berdasarkan derajat histopatologi adenokarsinoma kolorektal yaitu semakin meningkat ekspresi CD44, semakin tinggi pula derajat histopatologi adenokarsinoma kolorektal

E. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah tentang pola ekspresi CD44 pada neoplasma kolorektal.
2. Menambah informasi tentang peranan CD44 sebagai *marker* CSC dalam patogenesis adenokarsinoma kolorektal.
3. Penelitian ini dapat dipakai sebagai sumber data untuk penelitian selanjutnya dalam mekanisme biologik karsinogenesis kolorektal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. NEOPLASMA KOLOREKTAL

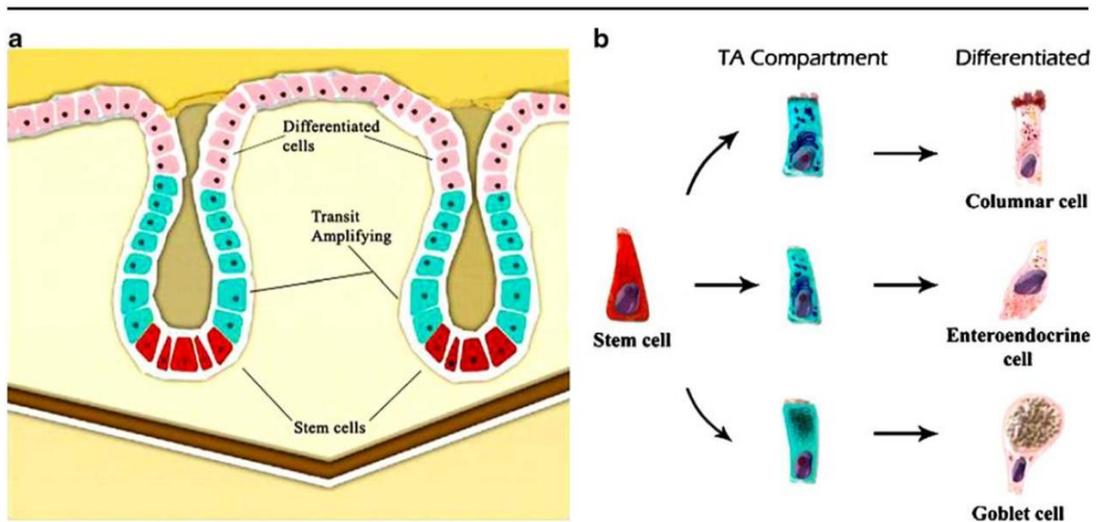
1. Anatomi dan Histologi Kolorektal

Usus besar terdapat pada bagian akhir traktus gastrointestinal dengan panjang 1-1,5 m, dan dibagi menjadi beberapa regio, yaitu saekum, kolon asendens (kanan), kolon transversum, kolon desendens (kiri), kolon sigmoid, dan rektum. Fleksura hepatis terdapat pada pertemuan kolon asendens dan kolon transversum, dan fleksura splenik pada pertemuan kolon transversum dan kolon desendens. Pada bagian distal terdapat rektum yang terdapat dalam rongga pelvis, memiliki panjang 8-15 cm dan berakhir pada anus (Rosai, 2011).

Usus besar terdiri dari empat lapis, yaitu lapisan mukosa, submukosa, muskularis eksterna (propria), dan serosa (atau pada rektum, dinamakan perimuskularis). Lapisan mukosa memiliki tiga komponen yaitu epitel, lamina propria, dan muskularis mukosa. Permukaan mukosa luminal dilapisi sel epitel torak rendah sampai kuboid, yang melipat ke dalam (*finger-like invagination*) ditunjang oleh lamina propria membentuk suatu unit fungsional usus, dinamakan kript *Lieberkuhn*. Kript berbentuk tubuler dan tersusun paralel antara satu dengan lainnya. Sekitar 14.000

kripte/cm² berlokasi pada kolon orang dewasa. Dengan kecepatan *renewal* epitel kolon setiap 5 hari, diperkirakan lebih dari 6×10^{14} kolonosit dihasilkan selama kehidupan seseorang. Sel *terminally differentiated* (*differentiated*) ditemukan pada sepertiga bagian atas kripte, yang secara terus-menerus keluar ke dalam lumen, dan berasal dari stem sel multipoten yang berlokasi pada dasar kripte. *Stem cell* kolon dikelilingi oleh sel mesenkim yang membentuk suatu *stem cell niche*. Diperkirakan 4-6 *stem cell* terdapat dalam setiap kripte (Pohl et al., 2008). Selama pembelahan asimetris, sel-sel ini menjalani *self-renewal* dan menghasilkan populasi sel *transit-amplifying* yang migrasi ke atas kripte, berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi salah satu jenis sel epitel dinding usus. Terdapat tiga jenis utama epitel *terminally differentiated* pada kolon, yaitu kolonosit (enterosit absorptif); sel goblet, penyekresi mukus; dan sel enteroendokrin. Sel *differentiated* ini memiliki waktu hidup yang pendek dan *self-renewal* selesai sempurna setiap 2-7 hari (Pohl et al., 2008). Sel *transit-amplifying* dan *stem cell* berlokasi pada bagian dua pertiga bawah kripte. Pemeliharaan komponen stem sel seperti transisi dari proliferasi ke diferensiasi diatur oleh ligan *Wnt signaling* yang diperkirakan diproduksi oleh sel mesenkim dari miofibroblast *lineage*, yang terdapat dekat lamina basal yang mengelilingi kripte. Faktor lain, seperti *bone morphogenetic protein* (BMP), *antagonis gremlin 1* (GREM1) dan *gremlin 2* (GREM2), *Notch signaling pathway*, *ephrin-B1* (Eph-B1) dan reseptornya Eph-B2 dan Eph-B3, berkontribusi dalam perilaku, migrasi,

dan diferensiasi stem sel (Ricci-Vitani et al., 2009, Thenappan et al., 2009).



Gambar 1. Stem sel kolon dan proses diferensiasinya (Ricci-Vitani et al., 2009)

2. Adenoma Kolorektal

Adenoma, neoplasma jinak intraepitelial merupakan lesi prekursor kanker kolorektal yang terjadi sebagai lesi tunggal ataupun multipel. Bila multipel, kemungkinan pasien memiliki sindrom genetik (Fenoglia-Presiser et al., 2008, Turner, 2010). Tidak ada perbedaan jenis kelamin, dan tampak pada hampir 50% orang dewasa di negara Barat pada umur 50 tahun. Adenoma jarang di Asia, dan frekuensinya meningkat (paralel dengan peningkatan insidens adenokarsinoma kolorektal) karena diet dan gaya hidup Barat menjadi umum pada populasi ini (Turner, 2010).

Konsisten dengan perannya sebagai lesi prekursor, prevalensi adenoma kolorektal berkorelasi dengan adenokarsinoma kolorektal dan

distribusi adenoma dan adenokarsinoma pada kolon adalah sama. Meskipun terdapat hubungan yang kuat, harus ditegaskan bahwa mayoritas adenoma tidak berkembang menjadi adenokarsinoma. Namun, tidak ada alat yang tersedia saat ini yang dapat membedakan antara adenoma yang akan dan tidak akan mengalami transformasi maligna (Turner, 2010).

Semua adenoma memperlihatkan dua gambaran dasar neoplasia yaitu disregulasi proliferasi dan kegagalan untuk berdiferensiasi komplit. Karakteristik adenoma kolorektal adalah adanya displasia epitel. Secara histologik, penanda displasia epitel adalah inti hiperkromatik, memanjang, dan bertingkat (*stratification*). Perubahan ini paling mudah dilihat pada permukaan adenoma dan sering disertai dengan adanya nukleoli besar, sitoplasma eosinofilik, dan penurunan jumlah sel goblet. Semua kelainan ini masih terbatas dalam membran basal. Adenoma dapat diklasifikasikan menjadi tubular, tubulovillous, dan villous berdasarkan arsitekturnya. Adenoma tubular cenderung kecil, berbentuk polip *pedunculated* yang terdiri dari kelenjar-kelenjar tubular, bulat kecil. Sebaliknya pada adenoma villous, sering lebih besar dan berbentuk *sessile*, dilapisi oleh villi memanjang. Adenoma tubulovillous memiliki gambaran campuran elemen tubular dan villous (Fenoglia-Prisler et al., 2008, Turner, 2010).

3. Adenokarsinoma Kolorektal

Karsinoma kolorektal merupakan salah satu dari tumor tersering pada individu yang tinggal di negara industri. Kanker kolorektal menempati peringkat ke-4 dari seluruh kanker di dunia, sekitar 9% dari seluruh kanker. Kebanyakan karsinoma berkembang dari adenoma, yang merupakan lesi prekursor. Karsinoma juga dapat berkembang pada area displasia pada pasien dengan *idiopathic inflammatory bowel disease* (Fenoglia-Presiser et al., 2008).

Lingkungan dan genetik kemungkinan berperan pada progresi neoplastik. Beberapa sindrom kanker kolon menunjukkan bahwa kerentanan bawaan memainkan peranan penting dalam patogenesis kanker kolorektal. Demikian pula studi epidemiologi, eksperimental dan migran juga menunjukkan adanya pengaruh lingkungan dalam perkembangan penyakit ini. Diet dapat merubah karakteristik endogen, seperti flora usus, yang dapat mempengaruhi konversi makananan yang dicerna menjadi karsinogenesis yang potensial. Faktor lain lingkungan, seperti aktifitas fisik, paparan pekerjaan, atau etanol dapat mempengaruhi lebih jauh interaksi ini. Interaksi antara lingkungan dan faktor genetik adalah kompleks dan perlu analisis lebih lanjut (Fenoglia-Presiser et al., 2008).

Penyebaran adenokarsinoma hampir sama pada sepanjang kolon. Karakteristik gambaran mikroskopiknya terdiri dari sel kolumnar tinggi yang mirip dengan epitel displastik pada adenoma. Sitologi

memperlihatkan anaplasia sel tumor, jumlah mitosis meningkat, dan bentuk kelenjar yang ireguler. Komponen invasif dari tumor ini memperlihatkan respons stroma desmoplastik (Turner, 2010, Fenoglia-Presiser et al., 2008).

Sistem grading, berdasarkan WHO, yang mengklasifikasikan adenokarsinoma kolorektal menjadi 4 derajat (*grade*), yaitu (Hamilton et al., 2000, Guzman and Gregorio, 2007) :

1. Derajat 1, diferensiasi baik. Bentuk tubuler kelenjar yang masih baik pada tumor lebih besar dari 95%.
2. Derajat 2, diferensiasi sedang. Bentuk tubuler kelenjar pada tumor sekitar 50-95%.
3. Derajat 3, diferensiasi buruk. Bentuk tubuler kelenjar pada tumor kurang dari 50%.
4. Derajat 4, karsinoma tidak berdiferensiasi. Bentuk tubuler kelenjar kurang dari 5%, atau hampir tidak memperlihatkan diferensiasi glanduler.

Klasifikasi yang dikemukakan oleh C. Dukes (1929-1935) memberikan dasar pada berbagai sistem stadium yang digunakan sekarang. Klasifikasi ini terbagi menjadi dua gambaran histopatologi yaitu : kedalaman penetrasi ke dalam dinding, dan ada atau tidaknya metastase pada kelenjar limfe regional. Klasifikasi TNM menggantikan klasifikasi Dukes (Hamilton et al., 2000).

Penyebaran adenokarsinoma kolorektal dapat terjadi intramural atau intraluminal, yaitu melalui invasi perineural, limfatik, dan atau vena; melalui penyebaran langsung ke struktur di dekatnya; melalui kavum peritoneal dan membran serosa; ataupun melalui implantasi pada luka operasi dan tempat anastomosis (Fenoglia-Presiser et al., 2008).

Banyak faktor yang mempengaruhi prognosis pasien adenokarsinoma kolorektal, yaitu adanya penyakit sebelumnya seperti poliposis familial, kolitis ulseratif, atau HNPCC, dan juga karakteristik pertumbuhan tumor seperti ada tidaknya invasi vaskular dan limfatik, stadium, ukuran tumor dan grading, dan dalam batas tertentu adalah metode terapi (Fenoglia-Presiser et al., 2008).

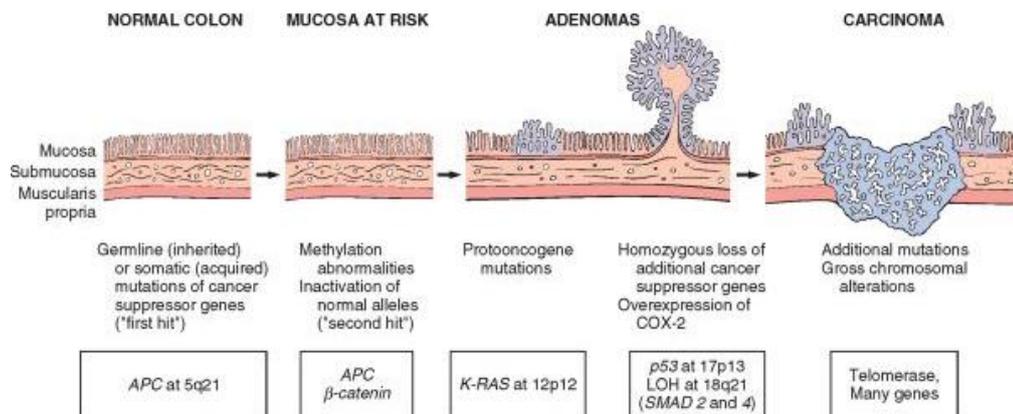
4. Karsinogenesis Kolorektal

Kombinasi kejadian molekuler heterogen menyebabkan terjadinya adenokarsinoma, termasuk abnormalitas genetik dan epigenetik. Sedikitnya terdapat dua jalur genetik berbeda yang telah digambarkan, yaitu *APC/β-Catenin pathway*, yang dikaitkan dengan WNT dan *adenoma-carcinoma sequence* klasik; dan *microsatellite instability pathway*, yang dikaitkan dengan defek pada DNA *mismatch repair*. Kedua jalur ini melibatkan akumulasi dan multipel mutasi, tetapi gen yang terlibat dan mekanisme akumulasinya berbeda. Kejadian epigenetik yang paling sering adalah metilasi yang menginduksi *gen silencing* dapat meningkatkan progresifitas pada kedua jalur (Turner, 2010).

a. Adenoma-carcinoma sequence klasik

Adenoma-carcinoma sequence klasik, menyebabkan sekitar 80% tumor kolon sporadik, di mana secara khusus terjadi mutasi dini APC dalam proses neoplastik. Kedua kopi gen APC harus di-inaktifkan secara fungsional, baik melalui peristiwa mutasi ataupun epigenetik, sehingga berkembang suatu adenoma. APC merupakan regulator negatif utama dari β -Catenin, suatu komponen *WNT signaling pathway*. Protein APC secara normal mengikat dan mempromosi degradasi β -Catenin. Bila fungsi APC hilang, β -Catenin akan berakumulasi dan translokasi ke dalam inti, dan mengaktifkan gen transkripsi, seperti MYC dan cyclin D1, yang mempromosi proliferasi. Hal ini diikuti mutasi tambahan, termasuk mutasi aktivasi KRAS, yang juga mempromosi pertumbuhan dan mencegah apoptosis. Kesimpulan bahwa mutasi KRAS merupakan kejadian akhir didukung oleh observasi bahwa mutasi KRAS kurang dari 10% pada adenoma yang berdiameter kurang dari 1 cm, tetapi sekitar 50% pada adenoma yang berdiameter lebih dari 1 cm.

Progresi neoplastik juga dikaitkan dengan mutasi *tumor suppressor gene* lain yaitu SMAD2 dan SMAD4, yang merupakan efektor sinyal TGF- β . Secara normal, sinyal TGF- β menghambat siklus sel, maka kehilangan gen ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali. *Tumor suppressor* p53 termutasi pada 70-80% kanker kolon, tetapi jarang terjadi pada adenoma, sehingga diduga bahwa mutasi p53 juga terjadi pada stadium akhir progresi tumor (Turner, 2010).

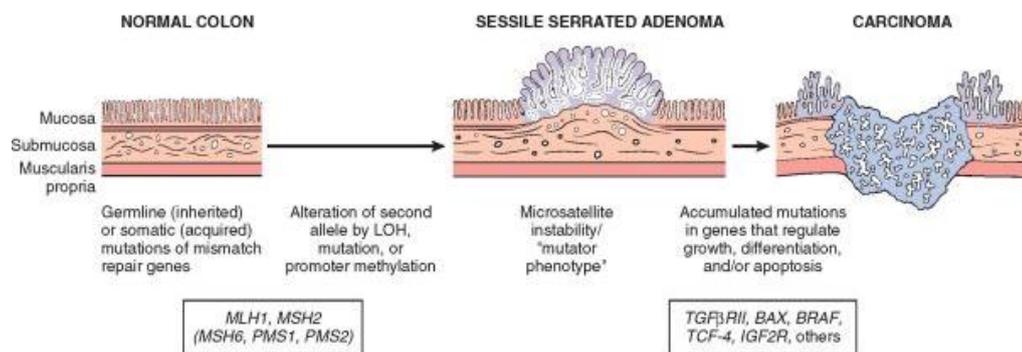


Gambar 2. Perubahan morfologi dan molekuler pada *adenoma-carcinoma sequence* klasik (Turner, 2010)

b. *Microsatellite Instability Pathway*

Pada pasien dengan defisiensi *DNA mismatch repair*, mutasi berakumulasi dalam *microsatellite repeats*, suatu keadaan yang disebut *microsatellite instability*. Umumnya mutasi ini *silent* karena *microsatellite* terdapat pada *non-coding region*, tetapi beberapa *microsatellite sequence* berlokasi pada *coding region* dari gen dan terlibat dalam regulasi pertumbuhan sel, seperti reseptor TGF- β tipe II dan protein BAX pro apoptotik. Karena TGF- β menghambat proliferasi sel epitel kolon, maka mutan reseptor TGF- β tipe II dapat berkontribusi dalam pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, sedangkan kehilangan BAX akan meningkatkan *survival* klon abnormal. Mutasi pada onkogen BRAF dan *silencing* dari kelompok gen yang berbeda akibat hipermetilasi CpG *island* juga tampak pada kanker yang berkembang akibat defek *DNA mismatch repair*. Sebaliknya, KRAS dan p53 tidak termutasi. Jadi, kombinasi antara

microsatellite instability, mutasi BRAF, dan metilasi target tertentu, seperti MLH1, merupakan petanda karsinogenesis jalur ini (Turner, 2010).



Gambar 3. Perubahan morfologi dan molekuler pada *mismatch repair pathway* (Turner, 2010)

c. Teori Colon Cancer Stem Cell

Lebih dari satu dekade terakhir, perkembangan terapi kanker telah memperpanjang kehidupan pasien kanker. Namun setelah terapi awal tampak berhasil, perkembangan tumor sekunder sering menyebabkan relapsnya penyakit. Bukti yang muncul, menduga bahwa kemampuan tumor untuk bertumbuh dan menyebar, tergantung pada sekelompok kecil sel dalam tumor, dinamakan *cancer stem cell* (CSC) (Ricci-Vitani et al., 2009). Beberapa studi memperlihatkan bahwa CSC mirip stem sel normal yang memiliki mekanisme survival spesifik dan lebih resisten terhadap kemoterapi dibanding sel *differentiated* (Pohl et al., 2008).

Seperti stem sel normal pada jaringan yang menyokong hirarki seluler jaringan selama kehidupan seseorang, CSC didefinisikan oleh

kemampuan untuk self-renewal, dalam mempertahankan kemampuan untuk menghasilkan progeni sel kanker tumorigenik dan non-tumorigenik melalui divisi asimetris. CSC telah diisolasi dari kanker payudara dan otak, dan beberapa tumor solid, termasuk kanker kolorektal. Sampai sekarang, definisi praktis CSC adalah kemampuan untuk menghasilkan fenokopi dari tumor asal pada saat ditransplantasikan ke tikus yang imunodefisiensi (Tang et al., 2007, Ricci-Vitani et al., 2009).

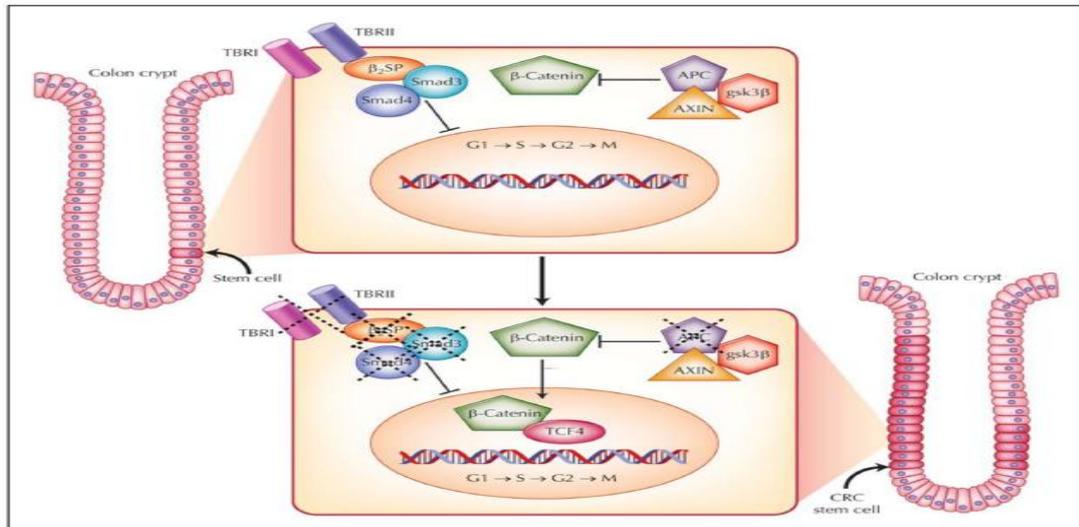
Asal sel kanker pada kanker kolorektal masih belum jelas. Terdapat dua teori, yaitu *bottom-up theory*, yang menduga bahwa asal sel kanker berasal dari *colon stem cell*, dan *top-down theory*, yang menduga sel progenitor atau sel *differentiated* yang pertama kali bertransformasi. Sel progenitor atau sel *differentiated* dapat secara langsung berkembang menjadi sel kanker atau dengan cara me-reprogram dirinya, dan memerlukan keadaan lingkungan *stem cell* sebelum menginduksi kanker (Medema and Vermeulen, 2011, Todaro et al., 2010).

Pada *bottom-up theory*, diduga bahwa mutasi *first hit* terjadi pada *colon stem cell* yang berlokasi pada dasar kript, yang dapat hidup lama, sehingga dapat mengakumulasi mutasi onkogenik selama bertahun-tahun. Sekali bertransformasi, *stem cell* yang termutasi dapat membagi diri secara simetris dan asimetris, berkembang menjadi CSC lainnya dan sel progenitor yang pada gilirannya menghasilkan sel-sel kanker yang tidak memiliki kemampuan self-renewal. Akhirnya seluruh *niche* akan dikolonisasi oleh *mutant stem cell*, dan kript akan dipenuhi oleh

progeninya, disebut konversi monoklonal. Sel-sel kanker berproliferasi dan mengalami perubahan lebih lanjut, menyebabkan progresi kanker (Ricci-Vitani et al., 2009, Medema and Vermeulen, 2011, Thenappan et al., 2009).

Salah satu jalur terpenting dalam mengontrol fungsi epitelial *colon stem cell* dan karsinogenesis adalah jalur *Wnt/ β -Catenin signaling*. Hubungan antara *colon stem cell*, *Wnt signaling*, dan tumorigenesis kanker kolorektal tampak paling jelas pada mutasi gen APC. Kehilangan APC adalah salah satu peristiwa paling awal dalam progresi multi-tahap kanker kolorektal. Pada lesi awal kolon, *abberant crypt foci*, sudah tampak mutasi APC. Beberapa studi menduga bahwa mutasi gen APC terjadi pada basal kripte stem sel kolon, menyebabkan populasi neoplastik yang meluas ke atas kripte (cara *bottom-up*) (Thenappan et al., 2009).

Jalur lain yang penting dalam fungsi stem sel kolon dan karsinogenesis adalah jalur *TGF- β signaling*. Banyak kanker kolorektal menghindari dari efek *tumor supresor TGF- β* dan resisten terhadap *TGF- β -induced growth inhibition*. Apalagi, gen reseptor TGF- β tipe II (TBR2) mengandung *microsatellite sequence* yang rawan terhadap kesalahan replikasi, khususnya dengan adanya *MMR gene inactivation*. Mutasi *frame-shift* TBR2 ditemukan pada lebih dari 80% *microsatellite instability* kanker kolorektal. Mutasi gen tipe I reseptor (TBR1) juga telah diidentifikasi pada kanker kolorektal. Studi terakhir juga menduga bahwa



Gambar 4. Model *colon cancer stem cell* (Thenappan et al., 2009)

jalur TGF- β dan Wnt bersinergi dalam mempromosi tumorigenesis kanker kolorektal (O'Brien et al., 2010, Thenappan et al., 2009).

Sejumlah studi memberikan bukti keberadaan CSC kolon dan menunjukkan bahwa populasi sel kanker kolorektal yang tumorigenik dapat diisolasi melalui ekspresi biomarker permukaan sel tertentu, antara lain CD133, CD44, EpCAM dan CD166, sedangkan sel tumor *differentiated* mengekspresikan *marker* seperti yang ada pada epitel *differentiated* kolon normal (Ricci-Vitani et al., 2009, Medema and Vermeulen, 2011).

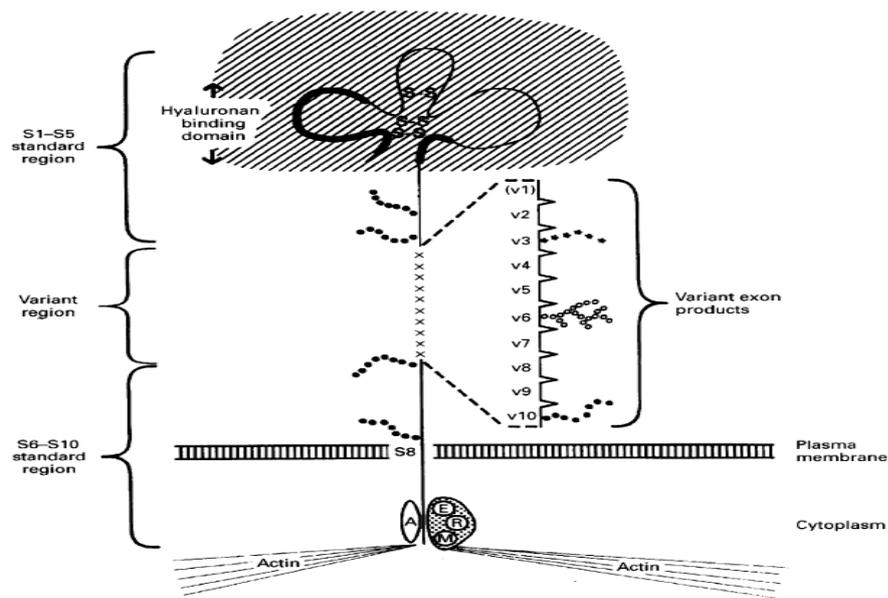
Rekurensi kanker kolon dan terjadinya metastasis jauh bertahun-tahun setelah terapi awal diduga sebagai akibat masih adanya sisa CSC. Sehingga dengan menargetkan terapi pada CSC, diharapkan kemungkinan untuk mendapatkan degenerasi lebih lengkap dari tumor (Kemper et al., 2010).

B. CD44

CD44 merupakan famili molekul glikoprotein membran sel yang pertama kali diidentifikasi pada limfosit dan pada awalnya ditemukan memiliki fungsi adhesi dan *homing* limfosit. Sejak awal penemuannya, CD44 telah diidentifikasi pada kebanyakan jaringan manusia dan ditemukan memiliki berbagai fungsi. CD44 diberi nama pada *Third International Workshop on Leukocyte Differentiation Antigen*, menggantikan nama yang sebelumnya digunakan, seperti *lymphocyte homing receptor* (gp90hermes), *phagocytis glycoprotein* (Pgp-1), *extracellular matrix receptor III* (ECMRIII), dan *hyaluronan receptor* (H-CAM), dan HUTCH-1 (Rudzki and Jothy, 1997, Sneath and Mangham, 1998).

CD44 merupakan produk gen tunggal yang berlokasi pada kromosom 11p13. Studi genomik DNA telah mendokumentasikan CD44 dikode oleh sedikitnya 20 exon. Lima exon pertama (S1-S5), juga exon 16-20 (S6-S10), hampir selalu terekpresi dalam jumlah besar pada sel non-epitelial, contohnya hematopoetik, produknya dinamakan CD44 standard atau hematopoetik (CD44s atau CD44H). Exon 6-15, lebih sering dinamakan V1-V10 merupakan *alternative splicing*, dinamakan variant CD44 (CD44v), tetapi tidak ada bukti bahwa isoform CD44 manusia mengandung V1 sequence. CD44s, bagian konstan CD44, terekpresi pada kebanyakan jaringan epitelial dan non-epitelial, sedangkan ekspresi bentuk varian lebih terbatas (Vizoso et al., 2004, Rudzki and Jothy, 1997).

CD44 terdiri dari domain ekstraseluler, transmembran, dan sitoplasmik. Exon 1-17 mengkode domain ekstraseluler protein, exon 18 mengkode domain pendek transmembran, dan exon 19-20 mengkode domain sitoplasmik (Cichy and Pure, 2003, Rudzki and Jothy, 1997).



Gambar 5. Struktur CD44 (Rudzki and Jothy, 1997)

CD44, suatu molekul adhesi, bekerja sebagai reseptor utama hialuronan (HA). HA adalah glikosaminoglikan *unbranched non-sulfat*, terdiri dari ulangan unit disakarida. HA merupakan komponen utama matriks ekstraseluler pada jaringan mamalia. CD44 juga menjadi reseptor untuk berbagai komponen matriks ekstraseluler lain, seperti heparan, kondroitin, kolagen tipe I dan IV, fibronektin, dan laminin, berinteraksi dengan molekul seperti produk onkogen yang memiliki aktivitas protein kinase dan mengikat *growth factor* dan sitokin yang larut, menunjukkan

bahwa CD44 tidak hanya berkerja sebagai molekul adhesi tetapi juga sebagai penghantar sinyal dan sebagai molekul penyaji *growth factor*. CD44 terlibat dalam berbagai proses seluler, seperti interaksi sel-sel dan sel-matriks, limfosit *homing* dan aktivasi, migrasi sel, perkembangan normal (organogenesis), progresi tumor dan metastasis; dan fungsi multipel ini, tampak terbatas tergantung bentuk isoformnya (Goodison et al., 1999).

Saat ini, CD4 banyak ditonjolkan dalam literatur kanker karena diduga sebagai marker *tumor-initiating cell CSC* pada kanker manusia. Subpopulasi sel kanker yang diidentifikasi sebagai CSC memiliki kemampuan tumorigenesis melalui *self-renewal* dan diferensiasi, seperti stem sel normal, dimana sebagian besar sel kanker adalah sel yang berdiferensiasi dan tidak memiliki sifat ini (Bhattacharyya and Khanduja, 2010). Meskipun sifat CSC masih kontroversial, tetapi terdapat konsensus yang rasional bahwa ekspresi CD44 tampak pada berbagai kanker manusia yang sifatnya sangat malignan dan resisten terhadap terapi, suatu sifat yang sering dihubungkan CSC (Toole, 2009). CD44 dideskripsikan sebagai marker CSC pada karsinoma kolorektal, payudara, prostat, kepala dan leher, dan pankreas. Tetapi cara kerja CD44 sebagai marker CSC masih belum dapat dijelaskan (Marhaba et al., 2008).

Keterlibatan CD44 pada progresi tumor terbukti kuat tetapi sangat kompleks. Pada suatu penelitian memperlihatkan bahwa sel kanker kolorektal CD44+ memiliki kapasitas pembentukan klonal lebih besar

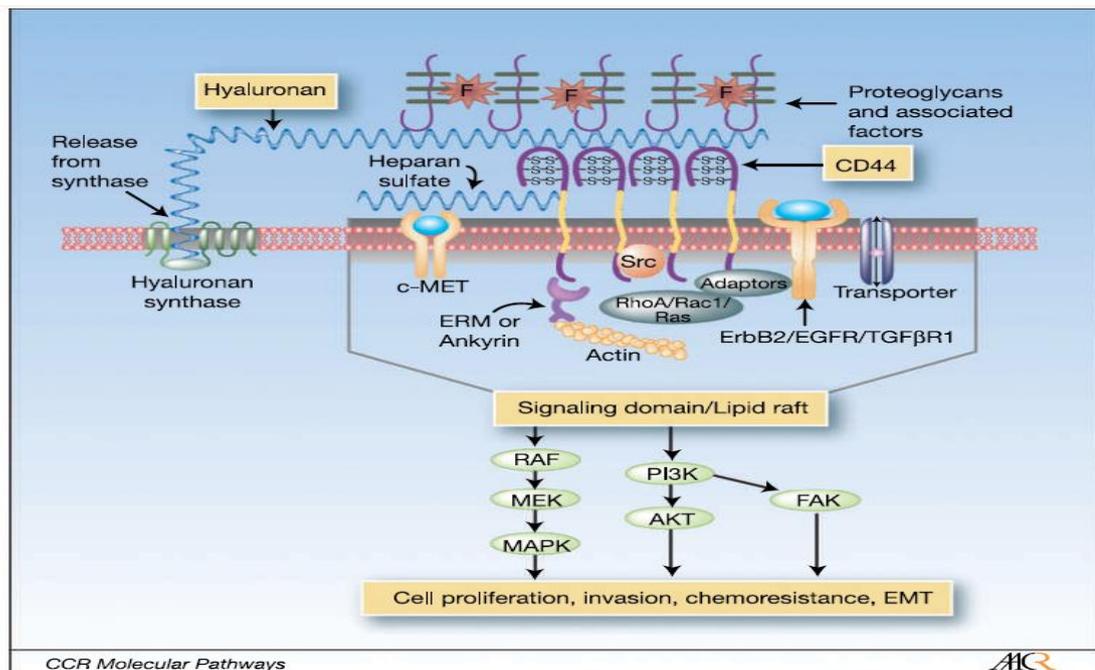
dibanding sel kanker CD44-. Pada studi yang lain menunjukkan bahwa ikatan CD44 yang terinternalisasi dan translokasi ke nukleus, mengikat berbagai promotor yang menyebabkan perubahan *cell-fate* melalui *transcriptional-reprogramming* yang berperan aktif dalam mentransformasi sel kanker menjadi fenotip *CSC-like*. Translokasi inti dari reseptor permukaan sel ini mungkin berhubungan dengan peranannya sebagai *marker* CSC (Su et al., 2011). Studi tumorigenesis pada *CD44-null mice* dan manipulasi level CD44 pada berbagai sistem tumor menunjukkan hasil yang kontradiktif, tetapi pemberian terapi dengan antibodi dan vaksin CD44 telah memperlihatkan kepentingan CD44 pada pertumbuhan tumor dan metastasis pada model *mouse* leukemia dan karsinoma (Toole, 2009).

Banyak penelitian telah mendeskripsikan overekspresi CD44 pada berbagai kanker manusia, termasuk kanker kolon, lambung, pankreas, payudara, serviks, dan limfoma. Pada jaringan kolon, selain limfosit, CD44 normalnya terekspresi lemah pada basal kriptes mukosa kolon, di mana tempat stem sel normal berada, dan meningkat ekspresinya pada tahap awal kolorektal *adenoma-carcinoma sequence* (Khoursheed et al., 2002, Visca et al., 2002). Suatu studi menunjukkan bahwa overekspresi CD44 tampak pada adenoma dini berukuran kecil, dan lebih meningkat ekspresinya pada adenoma yang berukuran lebih besar dan karsinoma. Overekspresi CD44 juga tampak mendahului perubahan genetik seperti mutasi KRAS, dan ekspresi abnormal p53 (Kim et al., 1994, Rudzki and

Jothy, 1997). Tetapi berbagai studi tersebut masih kontroversi, di mana adanya penelitian melaporkan bahwa hilangnya ekspresi CD44 merefleksikan agresifitas tumor (Vizoso et al., 2004, Huh et al., 2009, Khoursheed et al., 2002, Zavrides et al., 2005); sedangkan yang lain melaporkan bahwa adanya hubungan signifikan antara ekspresi CD44 dengan proliferasi dan agresifitas pada kanker kolon (Khoursheed et al., 2002).

Pada beberapa tipe kanker, ikatan antara HA dan CD44 menyebabkan interaksi langsung ataupun tidak langsung dari CD44 dengan reseptor sinyal, seperti ErbB2, EGFR, dan TGF- β reseptor tipe I, dan mempengaruhi aktifitas reseptor ini. Ikatan ini juga dapat menyebabkan interaksi dan merubah aktifitas reseptor non-tirosin kinase dari *src family* atau *RAS family GTP-ase*. Pembentukan kompleks dengan adaptor protein seperti Vav2, Grb22, Gab1 memediasi interaksi CD44 dengan *upstream effector* misalnya RhoA, Rac1, dan RAS, yang mengatur sinyal intraseluler. Jadi ikatan HA-CD44 mempengaruhi aktivitas berbagai jalur sinyal *downstream*, khususnya jalur MAPkinase dan PI3kinase-Akt, yang selanjutnya mempromosi proliferasi sel tumor, survival, motilitas, invasif, dan kemoresisten (Subramaniam et al., 2007, Toole, 2009). Selain itu, ikatan HA-CD44 menstimulasi *transporter* metabolik *multi-drug* yang penting dalam resistensi terhadap terapi dan penyajian protease yang memfasilitasi invasi. Banyak bukti baru mengindikasikan bahwa interaksi ini melibatkan CD44 variant tertentu, tetapi kemungkinan tergantung pada

tipe sel tumor dan stadium progresi malignant. Pada beberapa kasus CD44 standard lebih banyak terlibat dibanding CD44 variant (Toole, 2009).

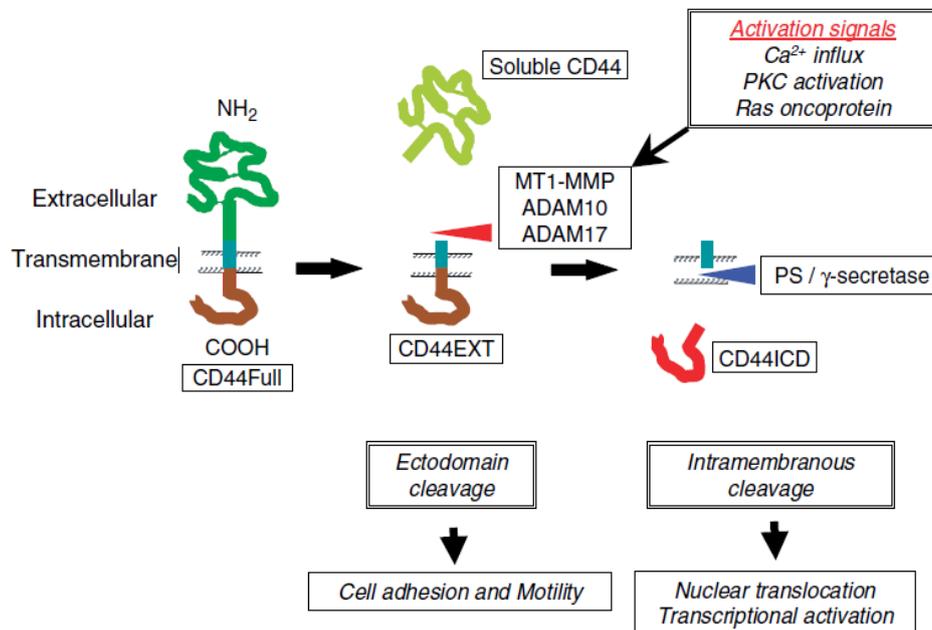


Gambar 6. Peranan CD44 dalam tumorigenesis (Toole, 2009)

CD44 dapat mempengaruhi peristiwa seluler seperti proliferasi dan motilitas sel tumor melalui *cross-linking* terhadap sitoskeleton aktin melalui ankyrin atau anggota famili ERM (ezrin-radixin-moesin). Kompleks CD44-ligan dapat memediasi kekuatan mekanik dan mentransmisikan lokomosi sinyal intraseluler melalui sitoskeleton. *Tumor suppressor* merlin kemungkinan bekerja melalui penghambatan interaksi HA-CD44 yang menggantikan protein ERM dari *cytoplasmic tail* CD44. Pelepasan supresi merlin dapat memicu aktivasi ikatan HA-CD44, yang selanjutnya

menyebabkan pembentukan kompleks sinyal seperti yang didiskusikan di atas (Pure and Assoian, 2009, Toole, 2009). Mekanisme lainnya adalah interaksi HA-CD44 dapat menyebabkan sinyal intraseluler melalui *intracellular cleavage* CD44, translokasi ke nukleus, dan mengaktifkan faktor transkripsi seperti cyclin D1 (Toole, 2009).

Mekanisme pemotongan proteolitik CD44 merupakan sebuah peristiwa utama dalam mengatur interaksi CD44 dengan matriks dan transduksi sinyal. CD44 menjalani pemotongan proteolitik sekuensial pada ektdomain dan domain intramembran. Pemotongan ektdomain dipicu oleh berbagai stimulasi, termasuk influks Ca ekstraseluler, aktivasi protein kinase C, dan onkoprotein RAS. Pemotongan ektdomain dimediasi oleh *membrane-associated matrix metalloproteinases* (MMPs) seperti MT1-MMP, ADAM10, dan ADAM17. Pelepasan ektdomain solubel (*soluble* CD44) dari *membrane-bound COOH-terminal fragment* (CD44EXT) berperan pada regulasi dinamik interaksi antara CD44 dan matriks ekstraseluler selama migrasi sel pada substrat HA. Pelepasan ektdomain juga memicu pemotongan CD44EXT intramembran oleh *presenelin (PS)-dependent γ -secretase*. Pemotongan kedua ini melepaskan domain intraseluler CD44 (CD44ICD) ke sitoplasma. CD44ICD translokasi ke dalam nukleus dan mengaktifkan berbagai transkripsi gen termasuk CD44 (Nagano and Saya, 2004, Cichy and Pure, 2003, Okamoto et al., 2002).



Gambar 7. Mekanisme proteolitik sekuensial CD44 (Nagano and Saya, 2004)

Ikatan CD44-HA juga mempengaruhi β -catenin nuclear localization (Keysar and Jimeno, 2010). Aktivasi β -catenin diperlukan untuk *maintenance* dan *self-renewal* dari stem cell dan sel progenitor pada usus, sistem hematopoetik, otak dan *embryonic stem cell*. Pada usus, sinyal β -catenin/TCF-4 diduga berperan utama dalam menentukan apakah suatu sel mempertahankan proliferasi tingkat tinggi atau menjalani diferensiasi akhir (Thenappan et al., 2009, Chu et al., 2009). Salah satu penelitian menunjukkan bahwa adanya gangguan terhadap β -catenin/TCF pada tikus *knockout* TCF4 menyebabkan hilangnya ekspresi CD44, sebaliknya adanya aktivasi β -catenin/TCF-4 pada kanker kolorektal manusia dan adenoma intestinal pada tikus APC^{min/(+)} menyebabkan peningkatan kuat ekspresi CD44. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi CD44 dikontrol oleh

β -catenin/TCF-4 (Zeilstra et al., 2008) sehingga ekspresi CD44 diduga dapat menjadi *marker* pengganti untuk mengetahui adanya program genetik β -catenin/TCF-4 aktif yang mengatur proliferasi dan mempertahankan self-renewal sel kanker kolon (Chu et al., 2009).

Untuk menginvasi, sel kanker harus melekat pada matriks sekitarnya, migrasi dan mendegradasi makromolekul matriks, ikatan HA-CD44 dapat mempengaruhi proses ini. Karena adhesi terhadap ekstraseluler matriks merupakan prasyarat untuk invasi, adalah memungkinkan bahwa HA matriks periseluler memfasilitasi invasi dari sel kanker kolon dengan cara meningkatkan adhesi. Peningkatan ekspresi CD44 dapat meningkatkan ikatan dengan HA, sehingga afinitas HA matriks periseluler menurun terhadap sel di sekitarnya yang kekurangan HA, mengganggu proses adhesi, dan menyebabkan terlepasnya sel (Sneath and Mangham, 1998, Kim et al., 2004). Diduga bahwa dengan adanya degradasi HA oleh CD44 di sekitar pembuluh darah memungkinkan sel tumor lebih mudah masuk ke sirkulasi dan karenanya dapat meningkatkan metastase (Underhill, 1992, Sneath and Mangham, 1998).

Interaksi CD44-HA juga menginduksi produksi MMP-2 dan MMP-9 yang memfasilitasi proses invasif (Kim et al., 2004, Marhaba et al., 2008). CD44 dapat berfungsi sebagai protein *docking* terhadap matriks metaloproteinase termasuk MMP-9, MMP-7, dan MT1-MMP. Rangkaian dengan CD44 ini mempertahankan aktivitas proteolitik MMP-9 pada permukaan sel, sehingga mempromosi degradasi kolagen tipe IV dan

invasif sel tumor. Membran tipe-1 matriks metalloproteinase (MT1-MMP) juga terlibat dalam pemotongan ektodomain CD44. MT1-MMP ini memiliki kemampuan untuk mengaktifkan proMMP-2 yang berperan dalam proses invasi (Nagano and Saya, 2004).

Beberapa studi telah menggunakan antagonis CD44, yang pada akhirnya dapat memiliki nilai terapeutik, namun belum secara klinis, seperti CD44 antibodi dan vaksin, dan target terapi terhadap sel tumor CD44+. Hasilnya menjanjikan, tetapi masih perlu penelitian lebih lanjut (Toole, 2009, Thenappan et al., 2009).

KERANGKA TEORI

