

**ANALISIS KADAR *LIPOCALIN-2* (LCN-2) SERUM
PADA PENDERITA KANKER PAYUDARA**

Analysis of Lipocalin-2 (LCN-2) serum levels in Breast Cancer

HEGARIA RAHMAWATI

P1507209184



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

MAKASSAR

2014

**ANALISIS KADAR LIPOCALIN-2 SERUM
PADA PENDERITA KANKER PAYUDARA**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis Patologi Klinik

Program Studi

Biomedik / PPDS Terpadu Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan Oleh

HEGARIA RAHMAWATI

Kepada

PROGRAM PASCA SARJANA

UNIERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2014

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hegaria Rahmawati
Nomor Mahasiswa : P1520007835974
Program Studi : Biomedik/ Program Pendidikan Dokter
Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Klinik

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, Januari 2014

Yang menyatakan,

Hegaria Rahmawati

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“ANALISIS KADAR LIPOCALIN-2 (LCN-2) PADA PENDERITA KANKER PAYUDARA”** 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 Prof. dr. Mansyur Arif, PhD, 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 di Bagian Ilmu Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK-UNHAS, 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 Bahrn, SpPK (K), PhD; dr. Ibrahim Abd. Samad, Sp.PK(K) 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. Ruland DN Pakasi, SpPK(K) atas kesediaan waktu dan saran-sarannya dalam penyempurnaan tesis ini.
3. Pembimbing Metodologi: Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, MKes 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 Baji Makassar, RS Stella Maris Makassar dan RS UNHAS Makassar, beserta staf yang telah membantu selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
6. Koordinator Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.

7. Pemerintah Kabupaten Enrekang, Kepala Dinas Kesehatan dan Direktur RSUD Massenrempullu Kabupaten Enrekang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
8. Seluruh teman sejawat PPDS Bagian Ilmu Patologi Klinik, teman berbagi suka dan duka selama masa pendidikan, yang telah banyak memberikan bantuan, motivasi dan dukungan kepada penulis selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
9. Penderita kanker payudara dan wanita sehat sebagai kelompok kontrol yang dengan sukarela berpartisipasi dalam penelitian ini.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan moril dan materiil secara langsung maupun tidak langsung.

Akhirnya penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda dr. H. Rahmat S. Sihono dan Ibunda Hj. Sri Hastuti, serta kedua mertua saya Drs. HM. Syahrif (Alm.) dan Hj. Nurhayati Syahrif (Alm.) atas doa tulus, kasih sayang dan dukungan semangat selama ini. Terima kasih juga buat saudara saya Ryan Rahmat Setiaji, ST, M. Eng dan dr. Rahmat Dani Satria serta seluruh keluarga besar atas doa tulus, kasih sayang dan dukungan serta bantuan moril maupun materiil sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Khusus kepada suami tercinta, dr. Abdul Azis Syahrif dan kedua buah hati tersayang sebagai sumber semangat dan inspirasi Bunda, Tiara Alifia Maharani Azis dan Muhammad Shohibul Kahfi Abdul Azis. Dengan penuh keharuan dan kebanggaan penulis sampaikan terima kasih atas segala cinta, kasih sayang, pengorbanan, kesabaran, pengertian, dukungan, semangat dan doa tulus selama ini yang telah mengiringi perjalanan panjang penulis dalam mengikuti pendidikan sehingga begitu banyak waktu kebersamaan yang terlewatkan.

Melalui kesempatan ini pula, 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 bermanfaat bagi masyarakat dan memberi sumbangan bagi perkembangan Ilmu Patologi Klinik. Semoga Allah SWT senantiasa menyertai dan memberkati setiap langkah pengabdian kita. Aamiin.

Makassar, Januari 2014

Hegaria Rahmawati

ABSTRAK

HEGARIA RAHMAWATI. Analisis Kadar Lipocalin-2 (LCN-2) pada Penderita Kanker Payudara (dibimbing oleh Uleng Bahrun dan Mansyur Arif)

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar LCN-2 serum pada penderita kanker payudara.

Penelitian ini dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS Ibnu Sina dan RS Universitas Hasanuddin Makassar untuk pengambilan sampel dan Unit Penelitian FK UNHAS untuk pemeriksaan sampel. Metode penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*, dilakukan selama bulan Juni sampai dengan September 2013. Jumlah sampel 79 orang, berumur antara 31 – 68 tahun, terdiri atas 24 orang kontrol wanita sehat dan 55 orang penderita kanker payudara, yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu stadium dini (stadium I dan II, n=11) dan stadium lanjut (stadium III dan IV, n=44). Kadar LCN-2 serum diukur dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), menggunakan kit LCN-2 Quantikine dari R&D System (Minneapolis).

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar LCN-2 serum pada kelompok kontrol adalah $35,503 \pm 18,868$ ng/mL, penderita kanker payudara stadium dini adalah $62,747 \pm 18,436$ ng/mL dan pada stadium lanjut $115,533 \pm 78,210$ ng/mL. Uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan bermakna kadar LCN-2 serum antara kelompok kontrol dengan kanker payudara ($p=0,001$) dan antara kanker payudara stadium dini dengan stadium lanjut ($p=0,006$). Uji korelasi Spearman's menunjukkan terdapat korelasi positif antara kanker payudara stadium dini dengan stadium lanjut ($r=0,67$; $p<0,001$). Kadar LCN-2 serum dapat digunakan sebagai biomarker untuk memprediksi terjadinya kanker payudara dan tingkat stadiumnya.

Kata kunci: Lipocalin-2, kanker payudara, stadium kanker payudara

ABSTRACT

HEGARIA RAHMAWATI. Analysis of serum levels Lipocalin-2 (LCN-2) in Breast Cancer (Supervised by Uleng Bahrun and Mansyur Arif).

The research aims to analyse of Lipocalin-2 (LCN-2) serum levels in Breast Cancer.

The cross sectional study was performed during the period June to September 2013 at Dr. Wahidin Sudirohusodo, Ibnu Sina, Hasanuddin University Hospital Makassar for samples screening and Research Center of Medical Faculty Hasanuddin University Makassar for LCN-2 test. Total sample of 79 subjects, range from 31 to 68 years old, consisted of 24 healthy women and 55 women with breast cancer. The samples were divided into two group: early stage (stage I and II, n=11) and advanced stage (stage III and IV, n=44). Levels of LCN-2 were determined in peripheral blood samples with enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), using LCN-2 Quantikine kit from R&D Systems (Minneapolis).

The study results showed the mean of serum levels LCN-2 in healthy control and breast cancer is 35.503 ± 18.868 ng/mL, on the early stage breast cancer is 62.747 ± 18.436 ng/mL, and on the advanced stage is 115.533 ± 78.210 ng/mL. Mann-Whitney test showed there was significant difference of serum levels LCN-2 between healthy control and breast cancer ($p=0,001$) and between early and advanced stages breast cancer ($p=0,006$). Spearman's correlation test showed there was significant correlation observed between early and advanced stages of breast cancer. Lipocalin-2 can be used as a biomarker to predict breast cancer staging.

Key words: Lipocalin-2, breast cancer, stage of breast cancer

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN TESIS	i
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	ii
PRAKATA	iii
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Penelitian	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Hipotesis Penelitian	6
E. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Kanker Payudara	7
B. <i>Lipocalin</i>	26
C. <i>Lipocalin2</i>	27
III. KERANGKA PENELITIAN	

A. Kerangka Teori	39
B. Kerangka Konsep	40
IV. METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	41
B. Tempat dan Waktu Penelitian	41
C. Populasi Penelitian	41
D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	42
E. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	42
F. Perkiraan Besar Sampel	43
G. Izin Penelitian dan Kelaikan Etik	43
H. Cara Kerja	44
I. Skema Alur Penelitian	47
J. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	47
K. Metode Analisis	48
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	50
B. Pembahasan	56
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	61
B. Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Faktor Risiko Kanker Payudara	9
2. Distribusi Tipe Histologik Kanker Payudara	23
3. Karakteristik Subyek Penelitian	51
4. Kadar LCN-2 Serum pada Kontrol Normal dan Penderita Kanker Payudara	52

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Perubahan morfologi karsinogenesis	13
2. Kaskade metastasis sel kanker	16
3. Kontribusi EMT terhadap perkembangan kanker	18
4. Gambaran patologi Sel Kanker Payudara Non Invasif dan Invasif	22
5. Hipotesis Peranan LCN-2 pada Kanker Payudara	29
6. Hipotesis Peranan LCN-2 pada Kanker Payudara	37
7. Perbandingan Kadar LCN-2 Serum pada Kelompok Kontrol dengan Penderita Kanker Payudara stadium dini dan lanjut	53
8. Kurva ROC Kadar LCN-2 antara penderita kanker Payudara Stadium Dini dan Lanjut	55

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	<i>Ethical Clearance</i>	67
2.	Surat Persetujuan	68
3.	Data Dasar Penelitian	69
4.	<i>Curriculum Vitae</i>	72

DAFTAR SINGKATAN

AJCC	: The American Joint Committee on Cancer
BRCA1	: Breast Cancer 1
BRCA2	: Breast Cancer 2
CA 15-3	: Cancer Antigen 15-3
CEA	: Carcinoembryonic Antigen
CT Scan	: Computed Tomography Scan
DCIS	: Ductal Carcinoma in Situ
DNA	: DeoxyriboNucleic Acid
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
ECM	: Extracellular Matrix
EMT	: Epithelial to Mesenchymal Transitional
ER	: Estrogen Receptor
ER- α	: Estrogen Receptor-Alpha
ER- β	: Estrogen Receptor -Beta
FGF	: Fibroblast Growth Factor
HER-2	: <i>Human epidermal growth factor receptor 2</i>
HIF-1 α	: Hypoxia-inducible Factor 1-Alpha
IDC	: Invasive Ductal Carcinoma

LCIS	: Lobular Carcinoma in Situ
LCN-2	: Lipocalin2
MMP-9	: Matrix Metalloproteinase-9
MRI	: Magnetic Resonance Imaging
NF-kB	: Nuclear Factor-kappaBeta
p53	: Protein 53
PR	: Progesteron Receptor
RE	: Retikulum Endoplasma
ROS	: Reactive Oxygen Species
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
TNM	: Tumor size, Node, Metastasis
USG	: Ultrasonography
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Kanker payudara atau *Malignant neoplasm of breast*, ICD-10 C50 (WHO, 2010) merupakan tumor ganas yang paling umum dan sampai saat ini masih menjadi penyebab kematian pada wanita, dengan lebih dari 1.000.000 kasus di seluruh dunia. (Rosai, J. and Ackerman, L., 2011) *World Health Organisation* (WHO) melaporkan kurang lebih 460.000 perempuan di seluruh dunia meninggal karena kanker payudara pada tahun 2008. (WHO, 2011) *American Cancer Society* (ACS) memperkirakan sebanyak 230.480 kasus kanker payudara invasif, 57.650 kasus kanker payudara *in situ* didiagnosis pada tahun 2011 di Amerika dengan angka kematian sekitar 39.520 kasus. (American Cancer Society, 2011)

Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 menunjukkan prevalensi tumor/kanker di Indonesia adalah 4,3 per 1000 penduduk dan merupakan penyebab kematian nomor 7 (5,7%). Menurut data Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) tahun 2007, kanker payudara menempati urutan pertama pada pasien rawat inap di seluruh rumah sakit di Indonesia (16,85%), disusul kanker leher rahim (11,78%). (Kementerian Kesehatan RI, 2013)

Lebih dari 90% kematian akibat kanker disebabkan karena metastasis. (Wakefield, L. and Hunter, K., 2006) Metastasis adalah kemampuan sel untuk meninggalkan tumor primer masuk dalam sirkulasi menuju jaringan di tempat jauh dan membentuk tumor sekunder. (Kresno, S.B., 2012) Kanker payudara dapat bermetastasis ke kelenjar limfe aksilla regional dan bermigrasi ke aliran darah untuk penyebaran yang lebih luas. (Welch, D.R., 2006) Para peneliti kanker menemukan bahwa protein *Lipocalin 2* terkait dengan kemampuan sel kanker payudara untuk bermetastasis dan dapat berfungsi sebagai biomarker yang dapat digunakan untuk memantau perkembangan penyakit. (HospiMedica International, 2009)

Lipocalin 2 (LCN-2) atau *Netrofil Gelatinase Associated Lipocalin* (NGAL) merupakan glikoprotein dengan berat molekul 25 kDa yang terikat pada gelatinase dari netrofil yang mempunyai peranan dalam imunitas alami dan dalam beberapa kondisi patologis. (Devarajan, P., 2007; Rodvold, J.J., et al., 2012) Dalam beberapa tahun terakhir diketahui bahwa LCN-2 diekspresikan secara berlebihan pada kanker. Sejumlah bukti yang mendukung dua peranan fungsional LCN-2 pada kanker yaitu promosi *epithelial to mesenchymal transition* (EMT) yang memfasilitasi terjadinya fenotip invasif dan metastasis. (Rodvold, J.J., et al., 2012)

Stoesz dkk pertama kali melaporkan peningkatan ekspresi LCN-2 pada sel-sel kanker payudara manusia serta menemukan korelasi positif antara status reseptor hormon yang negatif, ekspresi berlebihan *human epidermal*

growth faktor receptor-2 (HER2), stadium tumor dan status nodus limfe positif dengan ekspresi LCN-2. (Stoesz, et al, 1998) Temuan ini selanjutnya dibuktikan dalam sebuah penelitian terpisah terhadap lebih dari 200 kasus kanker payudara oleh Bauer dkk. Lipocalin 2 terbukti berkontribusi bagi progresi kanker payudara dengan mempromosikan sebuah fenotip yang agresif, yang menghasilkan metastasis. (Bauer, M., et al., 2008)

Penelitian Yang dkk menunjukkan bahwa ekspresi LCN-2 yang berlebihan pada sel-sel kanker payudara menginduksi terjadinya EMT yang merupakan salah satu proses yang terlibat dalam progresi dan metastasis tumor. Penelitian Leng dkk juga menunjukkan LCN-2 berperan dalam pembentukan dan metastasis kanker payudara dan inhibisi LCN-2 berpotensi dalam terapi kanker payudara. (Leng, X., et al, 2009)

Sampai sekarang, kebanyakan penelitian difokuskan pada ekspresi LCN-2 dalam jaringan dan hanya sedikit yang meneliti penentuan kadar LCN-2 di serum, diantaranya adalah penelitian oleh Provatopoulou menunjukkan bahwa pengukuran serum NGAL dan kompleks MMP-9/NGAL dapat digunakan untuk monitoring perkembangan kanker payudara. (Provatopoulou, X., et al, 2009) Penelitian Sung, dkk tentang hubungan antara kadar serum LCN-2 dan MMP-9 pra-operatif dengan prognosis kanker payudara pada 303 pasien dan 74 orang sehat sebagai kelompok kontrol antara tahun 2004 sampai 2007 menunjukkan bahwa peningkatan kadar LCN-2 dan MMP-9 terkait dengan penurunan *survival* pasien. (Sung, H., et al, 2012)

Penelitian mengenai kadar LCN-2 pada Kanker payudara di Indonesia (khususnya di Makassar) sepanjang pengetahuan peneliti belum pernah dilakukan sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai korelasi antara kadar LCN-2 dengan ukuran tumor dan stadium kanker pada penderita kanker payudara.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut di atas dapat dibuat rumuskan masalah sebagai berikut: apakah kadar LCN-2 serum berperan pada patomekanisme kanker dan peningkatan progresivitas stadium kanker payudara?

Pertanyaan penelitian yang dibuat berdasarkan rumusan masalah:

1. Apakah terdapat perbedaan kadar LCN-2 serum antara kontrol orang sehat dengan penderita kanker payudara dan antara kanker payudara stadium dini dan stadium lanjut?
2. Apakah terdapat korelasi antara kadar LCN-2 serum dengan kanker payudara stadium dini dan stadium lanjut?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui kontribusi kadar LCN-2 serum pada patomekanisme terjadinya kanker payudara dan progresivitas stadium penderita kanker payudara.

2. Tujuan Khusus

- a. Menilai perbedaan kadar LCN-2 serum pada kontrol orang sehat dengan penderita kanker payudara dan antara kanker payudara stadium dini dengan stadium lanjut
- b. Menilai korelasi kadar LCN-2 serum dengan stadium kanker payudara.

D. Hipotesis

1. Kadar LCN-2 serum pada kanker payudara stadium lanjut lebih tinggi dibandingkan stadium dini, dan stadium dini lebih tinggi dibanding kontrol orang sehat.
2. Semakin tinggi kadar LCN-2 maka semakin tinggi stadium kanker payudara.

E. Manfaat Penelitian

1. Bila hipotesis penelitian ini terbukti, maka LCN-2 serum diharapkan dapat menjadi parameter tes untuk memprediksi tingkat stadium kanker payudara sehingga diharapkan dapat membantu dalam manajemen penanganan penyakit.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan tentang kadar LCN-2 serum pada penderita kanker payudara.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker payudara

Kanker payudara merupakan keadaan malignansi pada payudara yang mengenai sistem duktal, lobuler dan stroma, mempunyai kemampuan menginfiltrasi jaringan sekitar serta dapat menyebar melalui aliran limfatis dan hematogen. (Desen, W. dan Japaries, W., 2011)

Kanker payudara sampai saat ini masih merupakan urutan teratas penyebab kanker pada wanita dan merupakan salah satu penyebab kematian dengan lebih dari satu juta kasus ditemukan di berbagai belahan dunia. *World Health Organization* (WHO) melaporkan sekitar 460.000 perempuan di seluruh dunia meninggal karena kanker payudara pada tahun 2008. (WHO, 2011)

1. Faktor Risiko

Identifikasi faktor risiko yang terkait dengan peningkatan insiden kanker payudara penting untuk skrining kesehatan umum bagi perempuan. Faktor risiko tersebut dibagi menjadi faktor risiko yang dapat dimodifikasi, tidak dapat dimodifikasi dan faktor risiko histologis (Tabel 1). (Hunt, K.K., et al, 2012)

Tabel 1. Faktor Risiko Kanker Payudara

Faktor Risiko		
Tidak Dapat Dimodifikasi	Dapat Dimodifikasi	Histologi
Bertambahnya usia	Faktor reproduksi	Penyakit payudara
Jenis kelamin	Umur saat hamil pertama	proliferasi
Faktor menstruasi	Paritas	Hiperplasia duktus
Usia dini saat menarke	Tidak menyusui anak	atipikal
Terlambat menopause	Obesitas	Hiperplasia lobular
Nulipara	Konsumsi alkohol	atipikal
Riwayat keluarga kanker payudara	Merokok	Karsinoma in situ
Predisposisi genetik (BRCA1 dan BRCA2)	Terapi penggantian hormon	lobular
Riwayat menderita kanker payudara	Kurangnya aktivitas fisik	
Ras, etnik		

Sumber: Hunt, K.K., et al, 2012

Keterangan: BRCA: *Breast Cancer Antigen*

2. Etiologi dan patogenesis

Penyebab terjadinya kanker payudara sampai sekarang belum diketahui secara pasti. Berdasarkan faktor risiko hormonal dan genetik, maka kanker payudara dapat dibagi menjadi kasus sporadik (kemungkinan disebabkan oleh pajanan hormon) dan kasus herediter (mutasi genetik). (Lester, S.C., 2010)

a. Kanker payudara herediter

Faktor genetik diperkirakan bertanggungjawab untuk 5-10% kasus kanker payudara dikaitkan dengan dua gen dominan autosomal yang sangat penetratif, yaitu *breast cancer antigen 1* (BRCA1) dan BRCA2. (Hunt, K.K., et al., 2012, Davidson, N., 2012) Gen BRCA1 terletak di kromosom 17q21 dan gen BRCA2 terletak di kromosom 13q12.3. (Rosai, J. and Ackerman, L., 2011) Studi ekstensif menunjukkan bahwa mutasi germline dalam salah satu dari gen ini dikaitkan dengan risiko seumur hidup 50-85% terkena kanker payudara pada wanita pembawa gen ini. (Davidson, N., 2012) Meskipun tidak memperlihatkan homologi sekuens, BRCA1 dan BRCA2 berfungsi di jalur yang sama serta berinteraksi dengan kompleks multiprotein yang sama. Keduanya bekerja sebagai penekan tumor sehingga kehilangan kedua fungsi gen ini akan menimbulkan risiko keganasan. Selain itu kedua protein ini diduga mempunyai banyak fungsi lain termasuk regulasi transkripsi, pengendalian siklus sel dan mendorong perbaikan kerusakan DNA. (Lester, S.C., 2010)

Mutasi gen p53 juga dihubungkan dengan kanker payudara. Gen p53 merupakan salah satu dari *tumor suppressor gene*, yang terletak pada kromosom 17p13.1. Bila mengalami mutasi maka protein p53 berubah menjadi p53 mutan yang kehilangan fungsinya sebagai penekan pertumbuhan dan apoptosis tumor sehingga proliferasi sel menjadi tidak terkendali. (Lester, S.C., 2010, Kresno, S.B., 2012)

Gen *human epidermal growth faktor reseptor 2* (HER-2)/neu yang terletak pada kromosom 17q21 juga berperan pada terjadinya kanker payudara. (Stuart, J.S., 2001) Gen ini penting dalam regulasi normal migrasi embrio, pertumbuhan sel epitel, proliferasi, dan apoptosis. Protein ini merupakan bagian dari kelompok *epidermal growth faktor reseptor* (EGFR) yang termasuk reseptor tirosin kinase transmembran, yang terdiri dari HER-1, HER-2, HER-3, dan HER-4. Amplifikasi gen HER-2 pada kanker payudara berhubungan dengan diferensiasi buruk, tingkat proliferasi yang tinggi dan meningkatkan kemungkinan memiliki kelenjar getah bening metastases sehingga merupakan penanda prognosis yang buruk. (Ioan, A., et al, 2009)

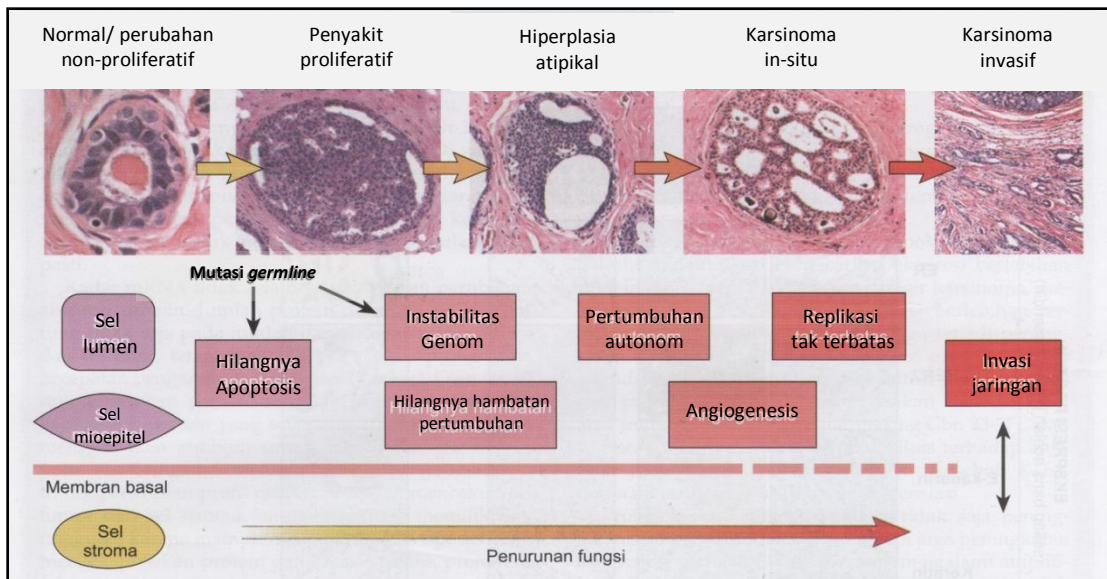
b. Kanker Payudara Sporadik

Faktor risiko untuk kanker payudara sporadik berhubungan erat dengan faktor hormonal, seperti jenis kelamin, usia, usia menarke dan menopause, riwayat reproduksi, menyusui dan estrogen eksogen. Sebagian besar kanker ini timbul pada wanita pasca menopause dan memperlihatkan ekspresi estrogen reseptor (ER) yang berlebihan. Estrogen sendiri memiliki setidaknya dua peran utama dalam menimbulkan kanker payudara. Metabolit estrogen dapat menyebabkan mutasi atau menghasilkan radikal bebas yang merusak DNA. Melalui efek hormonalnya, estrogen mendorong proliferasi sel pramaligna serta sel kanker, akan tetapi, mekanisme lain jelas berperan, karena cukup banyak kanker payudara yang ER negatif. (Lester, S.C., 2010)

Terdapat dua isoform reseptor yang memediasi aksi biologis estrogen, yaitu ER- α dan ER- β . Distribusi jaringan ER- α predominan pada payudara, uterus dan ovarium, sedangkan ER- β predominan pada paru, tulang, sel-sel endotel dan prostat. Estradiol menstimulasi ER- α meregulasi gen-gen yang terlibat dalam proliferasi sel dan signal transduksi, sedangkan ER- β meregulasi gen-gen yang berfungsi sebagai tumor supresor. (Sirbu, E., 2006)

Reseptor progesteron (PR) juga memainkan peranan pada kanker payudara. Ekspresi PR diatur oleh ER- α sehingga adanya PR biasanya menunjukkan bahwa jalur ER- α secara fungsional intak. Reseptor progesterone diaktifkan oleh hormon progesteron untuk membantu mengatur beberapa fungsi sel normal, termasuk regulasi proses proliferasi sel kanker payudara. (Pathak, T.B., et al., 2011, Allred, D.C., et al., 2012)

Beragamnya gambaran histologik penyakit payudara proliferaatif dan atipikal serta karsinoma merupakan manifestasi eksternal perubahan biologik yang terjadi di dalam lesi dan menunjukkan bahwa jalur karsinogenesis sangat kompleks dan bervariasi. Model umum karsinogenesis mempostulasikan bahwa sel normal harus mendapatkan tujuh kapabilitas atau kemampuan baru termasuk ketidakstabilan genetik sebelum menjadi ganas (Gambar 1). (Lester, S.C., 2010)



Gambar 1. Perubahan morfologi karsinogenesis

(Sumber: Lester, S.C., 2010)

Sel-sel kanker payudara dapat terlepas dari tumor primernya dan menyebar ke berbagai organ sebagai anak sebar dengan jalur penyebaran: (Desen, W. dan Japaries, W., 2011)

a) Invasi lokal

Kanker payudara sebagian besar timbul dari epitel duktus kelenjar. Tumor awalnya menjalar dalam duktus, lalu menginvasi dinding duktus dan sekitarnya ke anterior mengenai kulit, posterior ke otot pektoralis hingga dinding toraks.

b) Metastasis kelenjar limfe regional

Sel-sel kanker menginvasi pembuluh limfe dan ikut aliran limfe dan tumbuh menjadi anak sebar. Metastasis tersering kanker payudara adalah ke

kelenjar limfe aksilar dan kelenjar limfe mamaria interna, dan dapat bermetastasis lebih lanjut ke kelenjar limfe supraklavikula.

c) Metastasis hematogen.

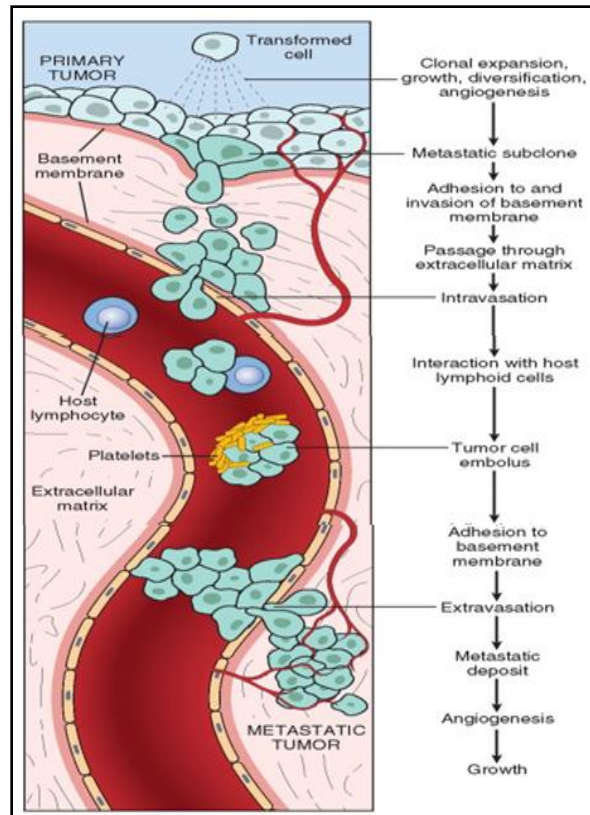
Sel kanker menginvasi pembuluh darah dan ikut aliran darah ke organ-organ yang letaknya jauh dan tumbuh menjadi tumor sekunder (Gambar 2).

Angiogenesis merupakan prasyarat tidak hanya untuk kelanjutan pertumbuhan tumor, tetapi juga untuk metastasis. Tanpa akses ke pembuluh darah, sel tumor tidak dapat cepat menyebar ke tempat jauh. (Kumar, V., et al, 2010) Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru dari sel-sel endotel yang dilepaskan dari pembuluh darah yang telah ada sebelumnya. Pertumbuhan tumor primer maupun sekunder akan berlangsung baik bila tumor mendapat cukup suplai darah melalui vaskularisasi untuk keperluan metabolisme dan proliferasi, dan untuk memenuhi kebutuhan ini tumor meningkatkan kemampuan neovaskularisasi. (Kresno, S.B., 2012)

Stimulasi angiogenesis terjadi bila faktor pertumbuhan, misalnya *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *fibroblast growth factor* (FGF) berikatan dengan reseptornya. Pembentukan pembuluh darah juga sangat tergantung pada matriks ekstraseluler dan integrin merupakan reseptor adhesi utama yang menghubungkan protein-protein matriks dengan sitoskeleton. Integrin bukan hanya berfungsi meneruskan sinyal dari luar sel ke dalam sel, tetapi juga sinyal dari dalam ke luar sel, dengan demikian mengatur adhesi,

penyebaran motilitas sel endotel. Apabila sel endotel diaktivasi oleh faktor-faktor pro-angiogenik, sel-sel itu terpolarisasi, kehilangan kontak antar sel dan bertransmigrasi melalui membran basal, karenanya perlu dibentuk enzim proteolitik pada bagian depan sel endotel untuk menghancurkan protein-protein matriks. (Kresno, S.B., 2012)

Lingkungan mikro tumor juga memegang peranan penting pada pertumbuhan tumor termasuk angiogenesis tumor. Hipoksia merupakan lingkungan mikro yang merangsang sel-sel tumor mensekresi berbagai substansi kedalam lingkungan tumor disekitarnya yang memfasilitasi angiogenesis dan metastasis. Lingkungan mikro ini terdiri atas campuran molekul-molekul matriks ekstraseluler (ECM), sel endotel, fibroblast, integrin, sel-sel hematopoetik maupun sel-sel imun. (Kresno, S.B., 2012) 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, V., et al., 2010)

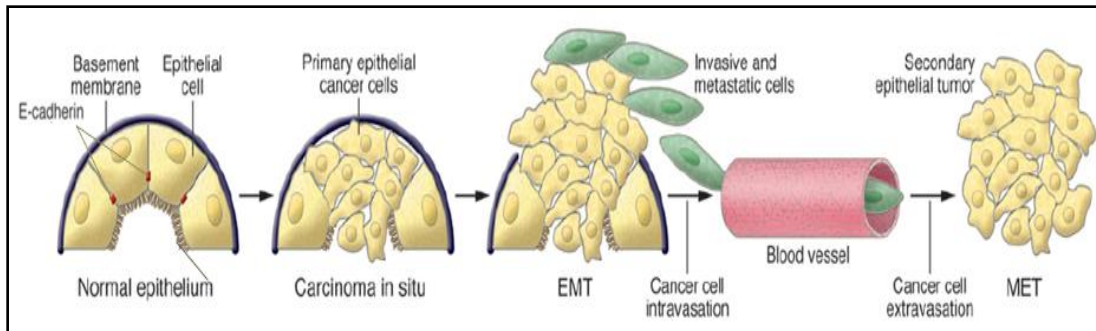


Gambar 2. Kaskade metastasis, gambar skematis rangkaian langkah yang berperan pada penyebaran hematogen suatu tumor (Sumber: Vinai, K., et al., 2010)

Jika sel kanker primer menembus pembuluh darah dan mendapatkan akses ke aliran darah atau limfe, sel-sel kanker tersebut dapat menyebar ke tempat lain. Untuk dapat membentuk tumor sekunder, sel harus mampu beradaptasi dengan lingkungan mikro jaringan dalam organ sasaran sehingga sel kanker yang bermetastasis memerlukan sifat-sifat yang sesuai untuk adaptasi terhadap lingkungan mikro yang asing baginya dan ada kondisi yang kondusif untuk pertumbuhan dan kehidupan sel kanker selanjutnya. Setiap

jaringan mempunyai struktur fisik dan anatomik fungsional yang tetap, lengkap dengan kompartemen, suplai vaskular dan lingkungan ekstraseluler dengan nutrisi dan stroma. Sel kanker yang terpapar lingkungan itu terpapar pada stress lingkungan termasuk pH rendah, *reactive oxygen species* (ROS) dan mediator inflamasi. (Kresno, S.B., 2012)

Sel-sel tumor dalam perkembangannya terus menerus mengakumulasi kelainan genetik, beberapa diantaranya tetap '*silent*' tetapi beberapa yang lain dapat mengakibatkan perubahan fenotip menjadi ganas. Tumor memiliki sifat invasif yaitu kemampuan untuk mendesak jaringan sekitarnya dan secara aktif menembus dan merusaknya. Pada banyak tumor primer dengan sifat invasif, adhesi interseluler berkurang karena kehilangan *E-cadherin* yang merupakan mediator interaksi adhesif antar sel. Hilangnya fungsi *E-cadherin* diperlukan untuk transisi epitel ke mesenkim (*epithelial to mesenchymal transitional*, EMT), yaitu proses dimana sel epitel berubah menjadi fenotip progenitor mesenkim yang memungkinkan pelepasan dan reorganisasi lapisan sel epitel selama invasi dan metastasis tumor (Gambar 3). (Kresno, S.B., 2012, Kalluri, R. and Weinberg, R.A., 2009)



Gambar 3. Kontribusi *epithelial to mesenchymal transitional* (EMT) terhadap perkembangan kanker

(Sumber: Kalluri, R. and Weinberg, R.A., 2009)

d) Diagnosis

Untuk menegakkan diagnosis kanker payudara, diperlukan berbagai pemeriksaan terhadap keluhan dan gejala yang dirasakan oleh penderita. Penegakan diagnosis dilakukan dengan cara anamnesis, pemeriksaan fisis, radiodiagnostik, laboratorium dan pemeriksaan histopatologi. Anamnesis dan pemeriksaan fisis ditujukan terutama untuk mengidentifikasi penderita, faktor risiko, perjalanan penyakit, tanda dan gejala kanker payudara, riwayat pengobatan dan riwayat penyakit yang pernah diderita. Anamnesis yang dilakukan harus mencakup status haid, perkawinan, partus, laktasi, riwayat keluarga kanker dan riwayat keluhan sekarang terutama waktu timbulnya massa, kecepatan pertumbuhan dan hubungannya dengan haid. Pemeriksaan fisik dilakukan secara sistematis baik inspeksi dan palpasi payudara, aksila, infraklavikula, supraklavikula dan organ atau tempat kemungkinan metastasis jauh. (Desen, W. dan Japaries, W., 2011., Rasjidi, 2010)

Pemeriksaan radiologi untuk diagnosis meliputi mammografi, ultrasonografi dan *magnetic resonance imaging* (MRI) payudara. Terdapat dua tipe pemeriksaan mammografi, yaitu skrining untuk pasien asimtomatik dan diagnosis untuk pasien simptomatik. Kelebihan mamografi adalah dapat menampilkan nodul yang sulit dipalpasi. Ultrasonografi digunakan untuk membedakan tumor solid dan kista sedangkan MRI merupakan instrumen yang sensitif untuk deteksi kanker payudara. (Desen, W. dan Japaries, W., 2011., Suyatno dan Pasaribu, E.T., 2010)

Pemeriksaan laboratorium merupakan pemeriksaan darah rutin dan pemeriksaan kimia darah sesuai dengan perkiraan 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. (**Vogl M and Muller MM, 2002**) **Tumor marker untuk kanker** payudara yang *dianjurkan American Society of Clinical Oncology* adalah *Carcinoembryonic Antigen* (CEA), *Cancer Antigen (CA) 15-3* dan *CA 27.29*. (Suyanto dan Pasaribu, E.T., 2010)

Carcinoembryonic Antigen (CEA) merupakan suatu *oncofetal* glikoprotein, dengan berat molekul 180.000 dalton, yang ditemukan pada mukosa intestinal sepanjang periode embrionik dan janin. Produksi antigen ini ditekan setelah kelahiran dan jarang ditemukan didalam serum orang dewasa normal. Peningkatan kadar CEA ditemukan pada sekitar 40-50% penderita

kanker yang bermetastasis. Kadar CEA praoperatif yang tinggi berhubungan dengan prognosis yang buruk. (Hardjoeno, et.al, 2003, Menghadam, et.al, 1996)

Cancer Antigen 15-3 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 300.000 dalton dengan sensitivitas tinggi terhadap Ca. 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, et.al, 2003, Menghadam, et.al, 1996)

Cancer Antigen 27.29 merupakan epitop pada protein inti dari glikoprotein musin, *mucinous antigen-1* (MUC-1). Kadar CA 27.29 berkorelasi dengan perkembangan klinis penyakit kanker payudara. Penelitian yang dilakukan oleh Ghai,V., dkk menunjukkan bahwa tren peningkatan kadar CA 27.29 pada penyakit kanker payudara sejalan dengan semakin lanjutnya perjalanan penyakit, oleh karena itu dapat digunakan untuk pemantauan perkembangan penyakit kanker payudara metastatik serta untuk memantau respon terhadap pengobatan. (Ghai, V., et al., 2011)

Diagnosis pasti kanker payudara 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)

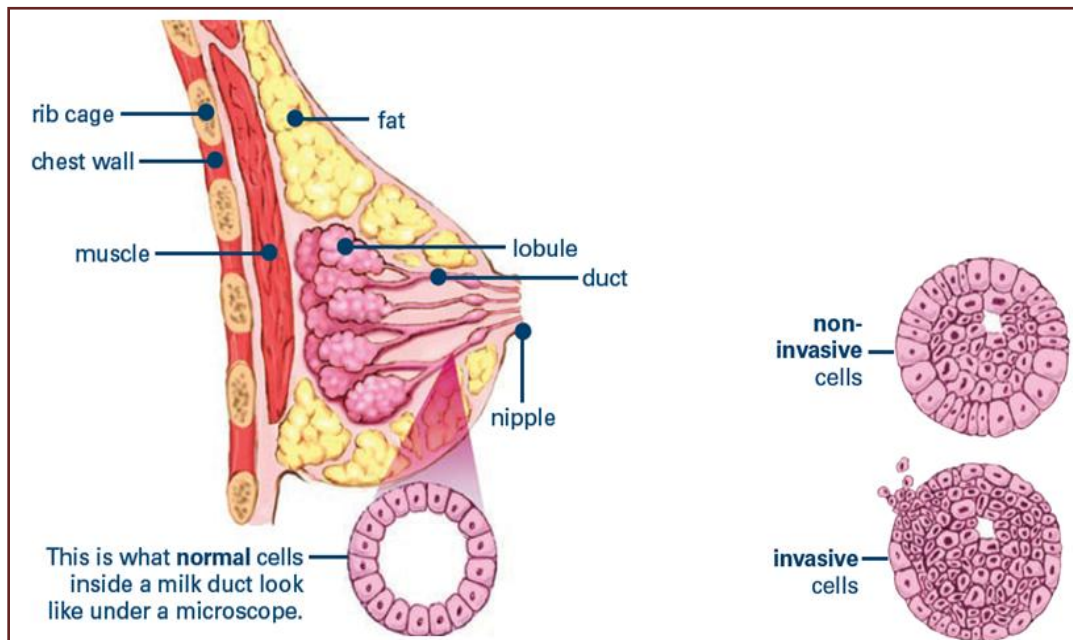
Untuk evaluasi terjadinya metastasis dapat dilakukan pemeriksaan *bone scan*, foto torak dan USG abdomen. Pemeriksaan *bone scan* dianjurkan pada kasus *advanced local disease*, metastasis kelenjar limfe dan terdapat simptom pada tulang. *Bone scan* secara rutin tidak dianjurkan pada stadium dini yang asimtomatis, karena berdasarkan penelitian hanya 2% hasil yang positif pada kondisi ini. Berbeda pada yang simptomatis stadium III, insiden positif *bone scan* mencapai 25%, oleh karena itu pemeriksaan *bone scan* secara rutin sangat bermanfaat. Foto torak dan USG abdomen rutin dilakukan untuk melihat adanya metastasis di paru, pleura, mediastinum dan organ viseral (terutama hepar). (Suyanto dan Pasaribu, E.T., 2010)

e) Klasifikasi

a. Klasifikasi Histologi

Hampir semua keganasan payudara adalah adenokarsinoma, sedangkan tipe lain kurang dari 5% dari keseluruhan kasus. Karsinoma dibagi menjadi karsinoma non invasif (*in situ*) dan karsinoma invasif. Karsinoma non invasif (*in situ* atau pra kanker) adalah populasi neoplastik sel di duktus dan lobulus yang dibatasi oleh membran basal. Pada sebagian kasus, sel dapat meluas ke kulit di atasnya tanpa menembus membran basal dan secara klinis disebut penyakit Paget. Karsinoma *in situ* tidak menginvasi pembuluh limfe dan pembuluh darah serta tidak bermetastasis. Karsinoma invasif (infiltratif) dapat

menembus membran basal masuk ke stroma, sel juga dapat berinvasi ke pembuluh darah sehingga mencapai kelenjar limfe regional dan tempat-tempat yang jauh, serta dapat bermetastasis. (Lester, S.C., 2010, Weiss, M., 2010)
 Gambar 4 memperlihatkan gambaran patologi sel kanker non invasif dan invasif. (Weiss, M. 2010)



Gambar 4. Gambaran patologi sel kanker payudara non invasif dan invasif
 (Sumber: Weiss, M. 2010)

Tipe histologik tersering adenokarsinoma payudara tercantum di tabel 2. Tipe-tipe ini penting karena keterkaitan klinisnya yang spesifik. Tipe-tipe adenokarsinoma yang jarang, misalnya karsinoma apokrin, karsinoma dengan diferensiasi neuroendokrin dan *clear cell carcinoma* serupa dengan karsinoma

non special type dari segi perilaku dan prognosis. (Lester, S.C., 2010)

Tabel 2. Distribusi Tipe Histologik Kanker Payudara

Tipe Histologik	Insiden (%)
Karsinoma Non Invasif (<i>In Situ</i>)	15-30
Karsinoma Duktus <i>In Situ</i> (DCIS)	80
Karsinoma Lobules <i>In Situ</i> (LCIS)	20
Karsinoma Invasif	70-85
Karsinoma ' <i>Non special type</i> ' (duktus)	79
Karsinoma Lobulus	10
Karsinoma Tubulus/Kribiformis	66
Karsinoma Musinosa (koloid)	2
Karsinoma Medularis	2
Karsinoma Papilaris	1
Karsinoma Metaplastik	<1

Sumber: Lester, S.C., 2010

b. Klasifikasi Stadium

Klasifikasi kanker payudara menurut *The American Joint Committee on Cancer (AJCC)* edisi 7, didasarkan pada sistem TNM (*Tumor size, Node, Metastasis*), yaitu berdasarkan 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). (Edge, S.B., Byrd, D.R., Compton, C.C., et al. 2010)

T (Tumor Primer), batasan:

- TX : Tumor primer tidak dapat dinilai
- T0 : Tidak ada bukti tumor primer
- Tis : Karsinoma insitu.
- Tis (DCIS) : *Ductal carcinoma in situ*
- Tis (LCIS) : *Lobular carcinoma in situ*
- Tis (Paget's) : *Paget's disease* pada puting payudara tanpa tumor
(*Paget's disease* yang berhubungan dengan tumor diklasifikasikan berdasarkan ukuran tumor).
- T1 : Tumor ≤ 20 mm pada dimensi terbesar
- T2 : Tumor > 20 mm tetapi ≤ 50 mm pada dimensi terbesar
- T3 : Tumor berukuran > 50 mm pada dimensi terbesar
- T4 : Ukuran tumor berapapun dengan ekstensi langsung ke dinding dada dan atau kulit (*ulserasi* atau *skin nodule*)

N (Kelenjar Getah Bening Regional / KGB regional), batasan :

- NX : KGB tidak dapat dinilai (misalnya telah diangkat)
- N0 : Tidak ada metastasis KGB regional
- N1 : Metastasis pada KGB aksila ipsilateral level 1-2 yang masih

dapat digerakkan

- N2 : Metastasis pada KGB aksila ipsilateral level 1-2 yang terfiksir atau KGB mamaria interna yang terdeteksi secara klinis* jika tidak ada metastasis KGB aksila secara klinis
- N3 : Metastasis pada KGB infraklavikula ipsilateral level 3 dengan atau tanpa keterlibatan KGB aksila level 1-2 atau pada KGB mamaria interna ipsilateral yang terdeteksi secara klinis dan jika terdapat metastasis KGB aksila level 1-2 secara klinis, atau metastasis pada KGB supraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB aksila atau mamaria interna.

M (*metastasis*), batasan:

- Mx : Metastasis jauh tidak dapat dinilai
- M0 : Tidak ada bukti klinis atau radiografi adanya metastasis jauh
- M1 : Terdapat metastasis jauh

Setelah masing-masing faktor T, N, dan M didapatkan, ketiga faktor tersebut kemudian digabung dan akan diperoleh stadium klinis kanker sebagai berikut (Edge, S.B., Byrd, D.R., Compton, C.C., et al. 2010):

Stadium 0	Tis N0 M0
Stadium 1A	T1 N0 M0

Stadium 1B	T0 N1 M0 / T1 N1 M0
Stadium IIA	T0 N1 M0 / T1 N1 M0 / T2 N0 M0
Stadium IIB	T2 N1 M0 / T3 N0 M0
Stadium IIIA	T0 N2 M0 / T1 N2 M0 / T2 N2 M0 / T3 N1 M0 / T3 N2 M0
Stadium IIIB	T4 N0 M0 / T4 N1 M0 / T4 N2 M0
Stadium IIIC	Setiap T N3 M0
Stadium IV	Setiap T Setiap N M1

Stadium penderita kanker payudara dapat dibagi menjadi kanker payudara stadium dini yang terdiri atas stadium I, II A, II B dan Stadium lanjut (stadium III dan IV) yang terdiri atas stadium lanjut lokal (III A, III B, III C) dan stadium metastasis (IV). Penatalaksanaan kanker payudara stadium dini adalah pengobatan operatif dengan tujuan menyembuhkan (kuratif) sedangkan stadium lanjut lokal dan metastasis lebih bersifat paliatif yang bertujuan meningkatkan kualitas ketahanan hidup penderita kanker payudara. Terapi awal pilihan pada pasien kanker payudara pada stadium ini adalah kemoterapi. (Hunt K.K. et al, 2008)

B. Lipocalin

Lipocalin merupakan salah satu famili protein ekstraseluler berukuran kecil (160 - 180 asam amino). Famili *lipocalin* mempunyai kemampuan pengangkut ligan ekstraseluler, terikat pada reseptor-reseptor permukaan sel spesifik dan dapat membentuk kompleks dengan *soluble* makromolekul. Awalnya *lipocalin* dikelompokkan dalam protein transport, tetapi sekarang diketahui *lipocalin* mempunyai banyak keragaman fungsional. *Lipocalin* juga terlibat dalam regulasi homeostasis sel, modulasi sistem imun, sebagai protein karier yang berfungsi dalam pembersihan senyawa-senyawa endogen dan eksogen. (Flower, D.R., 1996)

Kebanyakan famili protein dikelompokkan berdasarkan kemiripan sekuensi asam amino, domain dan struktur protein. Famili *Lipocalin* diantaranya adalah *retinol-binding protein* (RBP), *retinoic acid-binding protein* (RABP), *alpha-1-mikroglobulin* (A1M), *apolipoprotein D* (ApoD), *lipocalin-1* (*von-ebner gland protein*/VEGP), *lipocalin-2* (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*/NGAL). (Chakraborty, S., et al., 2011)

C. *Lipocalin-2*

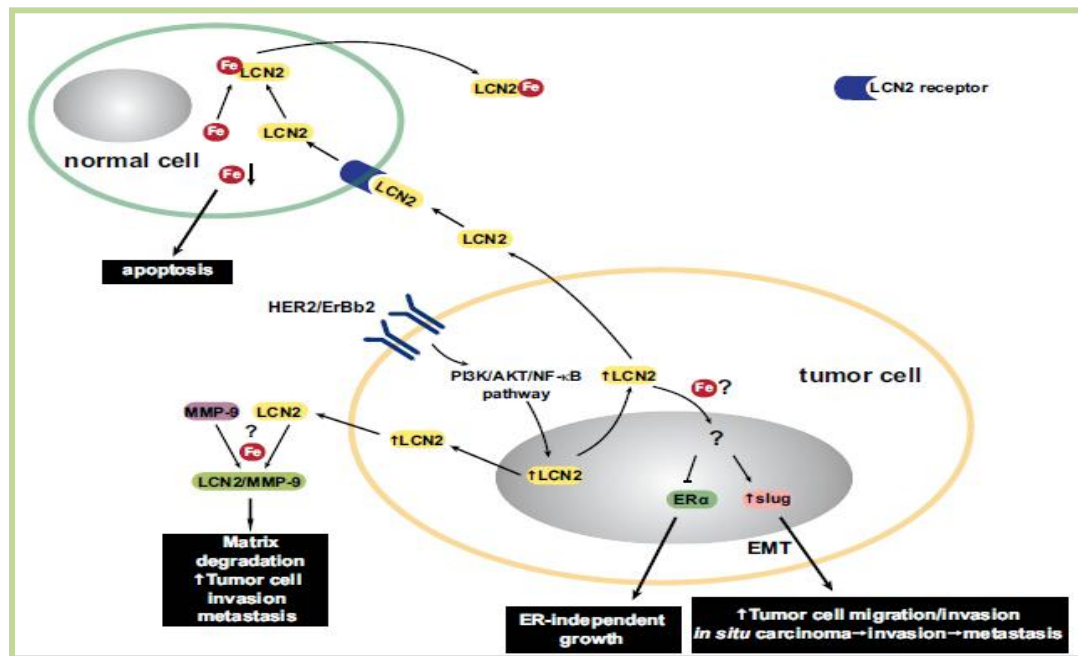
Lipocalin-2 (LCN-2) merupakan protein dengan berat molekul 25 kDa yang termasuk dalam superfamili *lipocalin*. (Flower, D.R., 1996) *Lipocalin* merupakan protein-protein ekstraseluler kecil dengan struktur tiga-dimensi yang didominasi oleh untai- β yang umum dan telah diketahui mentransport dan mempresentasikan ligan, terikat ke reseptor permukaan sel, dan membentuk kompleks makromolekuler, sehingga memegang peranan penting dalam regulasi sel, proliferasi sel, dan diferensiasi sel. (Bratt, T., 2000)

Lipocalin-2 pada awalnya ditemukan dalam granula-granula netrofil, sehingga dinamakan *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL). Peranan LCN-2 dalam imunitas adalah melawan penangkapan zat besi oleh bakteri. (Kjeldsen, L., et al., 1993) Ligan pertama yang diketahui terikat ke LCN-2 adalah siderofor tipe katekolat bakterial seperti enterobaktin, yang membentuk kompleks dengan Fe(III) dari host yang terinfeksi untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Karena itu LCN-2 (dinamakan juga siderokalin) dianggap sebagai agen bakteriostatik potensial yang aktif terhadap berbagai mikroorganisme Gram negatif melalui penghambatan sekuestrasi zat besi bakteri. (Goetz, D.H., et al., 2002)

Lipocalin-2 juga telah terbukti memiliki peranan dalam mempromosikan pembentukan-tumor (tumorigenesis) melalui peningkatan ketahanan dan proliferasi sel tumor, dan potensi metastasis. Hal paling penting,

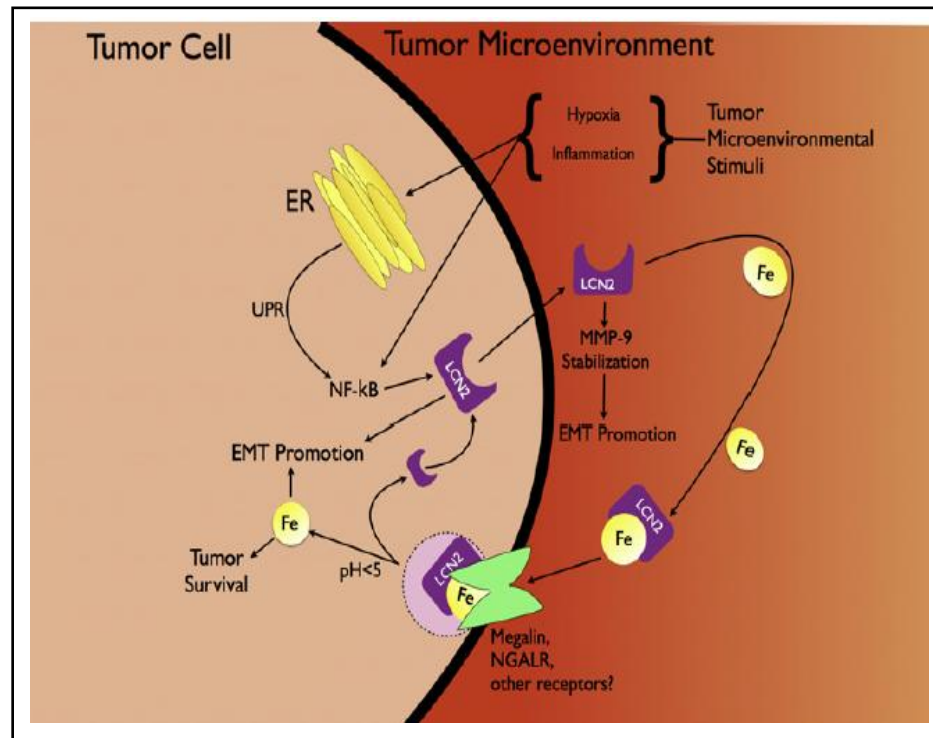
penghambatan ekspresi molekul ini pada beberapa jenis kanker akan menunda atau bahkan membatalkan proses pembentukan tumor. (Yang, J., et al., 2009)

Penelitian-penelitian yang dipublikasikan telah menunjukkan sejumlah mekanisme yang mungkin mendasari fungsi LCN-2 dalam inisiasi dan progresi tumor mammary, seperti mempromosikan *epithelial-mesenchymal transitional* (EMT), memodulasi aktivitas MMP-9, meregulasi homeostasis zat besi pada sel kanker dan dengan mempengaruhi faktor pertumbuhan tumor dependensi steroid (Gambar 5). (Leng, X., et al., 2011)



Gambar 5. Hipotesis peranan Lipocalin-2 pada kanker
(Sumber: Leng, X., et al., 2011)

Hipotesa lain tentang peranan LCN-2 pada kanker ditunjukkan pada Gambar 6. (Rodvold, J.J., et al., 2012)



Gambar 6. Hipotesis peranan LCN-2 pada kanker
(Sumber: Rodvold, J.J., 2012)

1. Peranan LCN-2 pada Tumorigenesis Kanker Payudara

a. Ekspresi Lipocalin-2 pada kanker payudara manusia

Pola ekspresi LCN-2 pada sampel tumor payudara manusia pertama kali dianalisis oleh Stoez dkk tahun 1998 berdasarkan fakta tingginya kadar LCN-2 pada karsinoma mamari mencit yang diinisiasi *neu*. Stoez dkk menemukan sedikit ekspresi LCN-2 pada jaringan mamari normal sedangkan

sel positif LCN-2 pada karsinoma serta ekspresi LCN-2 yang tinggi berkorelasi dengan ekspresi ER dan PR yang rendah. (Stoesz, et al., 1998)

Penelitian ini kemudian dilanjutkan dengan sampel yang lebih banyak (207 sampel) oleh Bauer, dkk tahun 2008 dan didapatkan *staining* LCN-2 positif terdapat pada sekitar sepertiga sampel dan peningkatan ekspresinya berkorelasi dengan ekspresi HER-2/neu positif, ekspresi reseptor steroid negatif, metastasis nodus limfa, kategori histologi tinggi dan kelangsungan hidup bebas penyakit yang buruk. (Bauer, et al., 2008) Penelitian oleh Leng, dkk tahun 2011 menemukan bahwa kanker payudara yang positif HER-2 mengekspresikan kadar LCN-2 yang meningkat. Ekspresi LCN-2 yang meningkat juga dipengaruhi oleh sinyal-sinyal onkogenik seperti *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K/AKT) dan *nuclear factor- kappa beta* (NF-kB). (Leng, X., et al., 2011)

b. *Lipocalin-2* mempromosikan EMT

Epithelial-mesenchymal transitional atau transisi epitelium-mesenkima merupakan sebuah proses biologis yang memungkinkan sel epitelium mengalami berbagai perubahan biokimia yang membuat sel epitelium tersebut bisa memiliki karakteristik fenotip seperti sel mesenkima termasuk memiliki kapasitas migrasi yang meningkat, daya invasi yang bertambah, ketahanan terhadap apoptosis yang meningkat, dan produksi komponen matriks-

ekstraseluler yang sangat meningkat. Selesaiannya proses EMT ditandai dengan adanya degradasi membran dasar yang bersangkutan dan pembentukan sebuah sel mesenkima yang bisa berpindah tempat dengan keluar dari lapisan epitelium dimana dia berasal. (Kalluri, R., Weinberg, W.A., 2009, Tiwari, N., et al., 2012)

Dalam proses EMT, sel memerlukan perubahan-perubahan molekuler yang memfasilitasi disfungsi interaksi dan pertemuan adhesif sel dengan sel. Proses-proses ini dapat mempromosikan progresi sel kanker dan invasinya ke dalam lingkungan mikro di sekitarnya. Transformasi semacam ini memiliki implikasi terhadap progresi karsinoma payudara menjadi metastasis. (Froni, C., et al., 2012)

Jalur EMT merupakan proses penggerak bagi tumor untuk bermetastasis karena jalur ini mempromosikan fenotip seluler yang lebih aktif dan lebih agresif, sehingga menyebabkan sel-sel tumor rentan menembus ke dalam lamina basal dan mengkolonisasi tempat-tempat di sekitarnya atau tempat yang jauh. Induksi ekspresi-berlebih LCN-2 pada sel kanker payudara berimbas pada berkurangnya ekspresi *E-cadherin* dan meningkatnya ekspresi vimentin dan fibronektin. (Yang, J., et al., 2009)

c. Lipocalin-2 dalam Meregulasi Status Estrogen Reseptor

Terapi estrogen telah dianggap sebagai salah satu faktor risiko untuk kanker payudara. Dalam sebuah penelitian yang meneliti ekspresi gen teregulasi ER, Seth dkk (2002) mengidentifikasi LCN2 meningkat pada sel-sel epitel mammary normal selama stimulasi dengan estrogen eksogen. Lipocalin-2 mengandung sebuah elemen respons ER pada promoternya dan ia merupakan target ER langsung. Kadar LCN2 juga secara signifikan lebih tinggi pada kanker payudara manusia yang negatif ER. Tampak bahwa LCN2 yang meningkat bisa mempengaruhi status steroid sel-sel epitelial mammary, dengan berubah dari kategori positif ER ke kategori negatif ER. (Leng, X., et al., 2011)

Penelitian Yang dkk menunjukkan bahwa LCN-2 menghambat ekspresi ER- α dan inhibisi ini mengurangi respon terhadap hormon estrogen dan memicu jalur EMT. Penurunan kadar ER- α dengan ekspresi LCN-2 yang berlebihan menunjukkan bahwa LCN-2 mampu meregulasi ekspresi reseptor hormon ini. Telah ditemukan bukti bahwa ER- α memegang peranan dalam EMT imbas LCN-2. Pensinyalan melalui ER- α telah terbukti sebagai salah satu syarat untuk penjagaan E-cadherin dan fenotip epitelial pada sel-sel kanker payudara dengan menekan faktor transkripsi Snail. Ketiadaan ER- α mengarah pada pengurangan *E-cadherin* dan fenotip epitel pada sel-sel

kanker payudara dengan menekan faktor transkripsi Snail. (Yang, J., et al., 2009)

d. Lipocalin-2 dalam meregulasi Matrix Metalloproteinase-9

Beberapa penelitian menunjukkan adanya peranan positif LCN-2 dalam meregulasi aktivasi MMP-9 dan stabilitas protein, sehingga memberikan alasan peranan LCN-2 dalam meningkatkan motilitas sel tumor untuk metastasis. (Leng, X., et al., 2011)

Lipokalin 2 mengarahkan EMT melalui mekanisme yang dependen MMP-9 dan independen MMP-9. Temuan bahwa ekspresi LCN-2 mengarahkan EMT pada sel kanker manusia yang mencakup Slug, sebuah regulator penting EMT, menandakan bahwa peranan LCN-2 yang tidak tergantung MMP-9 dalam mengarahkan EMT dapat dikonversi pada sel-sel kanker. (Rodvold, J.J., et al., 2012) Kemampuan NGAL untuk memodulasi aktivitas MMP-9 mendasari hubungan erat antara NGAL dan pertumbuhan kanker payudara. MMP-9 memegang peranan penting dalam reabsorpsi matriks ekstraseluler secara enzimatik dan memegang peranan dalam metastasis. (Yan, L., et al., 2001)

Apabila membentuk kompleks dengan LCN-2, MMP-9 terproteksi dari degradasi proteolitik dan dapat merestrukturisasi matriks-matriks ekstraseluler

yang mengarah pada degradasi *E-cadherin*. (Rodvold, J.J., et al., 2012) *Matrix metalloprotein-9* memegang peranan penting dalam progresi, invasi dan metastasis kanker payudara melalui degradasi *extraceluler matrix* (ECM). (Schmidt-Ott, K.M., et al., 2007)

Penelitian oleh Provatopoulou menunjukkan bahwa pengukuran serum MMP-9, NGAL dan kompleks MMP-9/NGAL dapat digunakan untuk monitoring perkembangan kanker payudara non metastasis dan mendukung potensi peran MMP-9 dan NGAL sebagai penanda biologis awal status penyakit kanker payudara. Penelitian ini menemukan bahwa kadar MMP-9 dan NGAL meningkat secara signifikan pada pasien *Invasive Ductal Carcinoma* (IDC) dibandingkan pasien *Ductal Carcinoma in Situ* (DCIS) dan kontrol. (Provatopoulou, X., et al, 2009)

Penelitian Sung, dkk tentang hubungan antara kadar serum LCN-2 dan MMP-9 pra-operatif dengan prognosis kanker payudara pada 303 pasien dan 74 orang sehat sebagai kelompok kontrol antara tahun 2004 sampai 2007 menunjukkan bahwa peningkatan kadar LCN-2 dan MMP-9 terkait dengan penurunan *survival* pasien. (Sung, H., et al, 2012)

e. Lipocalin-2 Mempertahankan Homeostasis Zat Besi

Salah satu kemiripan antara infeksi bakteri dan proses pembentukan tumor (tumorigenesis) adalah adanya kompetisi dalam mendapatkan sumber-

daya yang terbatas: bakteri berkompetisi dengan sistem imun alami untuk mendapatkan sejumlah metabolit, termasuk zat besi, dan sel-sel kanker yang membelah diri dengan cepat terus mengkonsumsi nutrisi (termasuk zat besi) dalam sebuah lingkungan mikro yang langka pembuluh darah. (Rodvold, J.J., e al., 2012)

Zat besi merupakan sebuah nutrisi esensial, khususnya untuk kesehatan wanita. Kadar zat besi cukup rendah pada wanita pra-menopausal yang memerlukan diet kaya zat besi untuk mengimbangi kehilangan selama siklus menstruasi. Akan tetapi, konsentrasi zat besi meningkat pada wanita post-menopausal, sebuah faktor yang bisa berkorelasi dengan kejadian kanker payudara yang tinggi pada populasi ini. Zat besi bebas intraseluler yang berlebihan mengkatalisis pembentukan ROS, yang menyebabkan kerusakan DNA yang mengarah atau memfasilitasi transformasi onkogenik. (Leng, X., et al., 2011)

Salah satu fungsi LCN-2 yang telah diketahui adalah menginduksi apoptosis yang diperantarai reseptor. Terdapat dua reseptor yang ditemukan terlibat dalam transport LCN-2 di dalam sel. Salah satunya adalah reseptor endositik megalin yang merupakan reseptor transmembran tunggal yang dapat menangkap apo-LCN-2 (tanpa zat besi) dan holo-LCN-2 terikat siderophor. Transportasi bentuk LCN-2 yang terikat zat besi meningkatkan konsentrasi zat besi intraseluler dan sel bertahan hidup, sedangkan apo-LCN-2, menyebabkan

zat besi intraseluler berkurang dan menyebabkan apoptosis. (Leng, X., et al., 2011), sedangkan Lipocalin-2 yang mengikat zat besi disebut holo-LCN-2, membawa besi ke dalam sel menyebabkan akumulasi besi di sitoplasma sehingga terjadi proliferasi sel dan peningkatan epitelisasi. (Schmidt-Ott, M.K., et al., 2007) Selain itu, LCN-2 yang terikat pada kompleks siderophor-Fe kemudian dapat keluar dari sel melalui endosom juga menyebabkan penurunan kadar zat besi intraseluler dan menyebabkan apoptosis. (Leng, X., et al., 2011),

Sel-sel kanker payudara menunjukkan peningkatan sekuestrasi zat-besi dibanding dengan jaringan payudara non-neoplastis. Kapasitas yang meningkat untuk sekuestrasi zat besi pada sel-sel kanker payudara terkait dengan pertumbuhan tumor agresif dan berkorelasi dengan *outcome* buruk pada manusia. (Rodvold, J.J., et al., 2012)

f. Stimulus lingkungan mikro tumor dan ekspresi *Lipocalin-2*

Ekspresi LCN-2 yang berlebihan pada tumor juga disebabkan stimulus-stimulus yang terdapat dalam lingkungan mikro tumor. (Rodvold, J.J., 2012) Lingkungan-mikro tumor sangat berbeda dengan jaringan normal. Perbedaan utama, tumor kekurangan suplai darah secara utuh, yang dapat mengarah pada hipoksia, penurunan suplai glukosa dan asam amino, serta pH ekstraseluler yang rendah. (Mahadevan, N.R. and Zanetti, M., 2011)

Sejumlah temuan terbaru menunjukkan bahwa respons stres retikulum endoplasma, yang dipicu oleh *noxae* lingkungan-mikro, memperantarai produksi LCN-2. (Rodvold, J.J., et al., 2012) Signal stres yang dihasilkan berkumpul pada retikulum endoplasma, sehingga menimbulkan *unfolded protein response* (UPR) yang mengaktivasi mekanisme pro-inflamatori dengan sifat-sifat yang mempromosikan tumor dan ketahanan tumor. Salah satu regulator inflamatori kunci yang dapat diinduksi oleh UPR adalah NF- κ B (Gambar 6). (Mahadevan, N.R. and Zanetti, M., 2011, Rodvold, J.J., et al., 2012)

2. Peranan *Lipocalin-2* dalam Angiogenesis Kanker Payudara

Kadar LCN-2 telah dilaporkan meningkat pada berbagai kanker epithelial, termasuk kanker payudara. Lipocalin-2 pada kanker payudara ditemukan terkait dengan penanda prognosis buruk, termasuk status ER negatif, kelas histologis tumor yang buruk dan metastasis nodus limfe telah terbukti sebagai salah satu penanda prognostik independen untuk penurunan *survival*. (Bauer, M., et al., 2008)

Yang, J dkk melaporkan temuan terbaru bahwa LCN-2 meregulasi angiogenesis kanker payudara. Sebelumnya telah dilaporkan bahwa densitas pembuluh-mikro meningkat pada tumor-tumor payudara dengan ekspresi *LCN-2* yang meningkat sehingga menandakan bahwa *LCN-2* juga bisa mempromosikan progresi kanker payudara melalui stimulasi angiogenesis.

Mekanisme yang mendasari angiogenesis terstimulasi *LCN-2* adalah induksi *hypoxia-inducible factor 1-alpha* (HIF-1 α) dan produksi VEGF oleh sel-sel kanker payudara secara *downstream*. Regulasi VEGF dan HIF-1 α oleh *LCN-2* ini ditemukan tidak hanya pada sel-sel kanker payudara luminal tetapi juga pada sel-sel kanker payudara basal sehingga menandakan bahwa angiogenesis imbas *LCN-2* bisa menjadi mekanisme yang umum pada penyakit ini. Aktivitas proangiogenik *LCN-2* sejalan dengan peningkatan kadar *LCN-2* pada jaringan kanker payudara manusia stadium lanjut. Hasil penelitian ini menunjukkan hubungan *LCN-2* dengan angiogenesis yang meningkat pada kanker payudara. Jika digabungkan dengan aktivitas induksi EMT, *LCN-2* dapat menjadi target terapeutik potensial untuk kanker ini. (Yang, J., et al., 2013)